

SR

SAN RAFFAELE RESEARCH INSTITUTE

IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

ANNUAL REPORT 2015

SR

ANNUAL REPORT 2015

*Redazione: Daniela Pernice - Editorial Office Direzione Scientifica - IRCCS San Raffaele Pisana Roma
Elaborazione grafica: Silvia Palma - Direzione Comunicazione e Marketing - Gruppo San Raffaele*

WWW.SANRAFFAELE.IT

FOLLOW US



INDICE

REPORT DEL DIRETTORE SCIENTIFICO PAG. 6

ATTIVITA' SCIENTIFICA PAG. 8

Comitato Scientifico pag. 9

Pubblicazioni pag. 11

Aree di Ricerca pag. 63

Linee di Ricerca pag. 103

Ricerca Finalizzata pag. 307

Altre Tipologie di Ricerca pag. 354

Comitato Etico e Clinical Trial Center pag. 423

Convenzioni pag. 428

Servizi Bibliotecari pag. 434

Scuole Universitarie pag. 436

NOMINE, INCARICHI E RICONOSCIMENTI PAG. 440

ATTIVITA' DI FORMAZIONE PAG. 444

ATTIVITA' ASSISTENZIALE PAG. 446

INDIRIZZI UTILI PAG. 451

REPORT DEL DIRETTORE SCIENTIFICO

L'annual report costituisce la testimonianza di un impegno che dal 2005 procede costantemente nella direzione di un unico obiettivo: la qualità di vita dei nostri pazienti.

Le attività dell'Istituto sono quindi indirizzate al continuo miglioramento dei criteri assistenziali, nell'intenzione di rispondere adeguatamente ai bisogni di cura e di ricerca (clinica e di base) e attraverso l'articolazione delle aree di ricerca ed una intensa attività di rete.

Qualità delle cure e attività di ricerca devono procedere dunque in sinergia per poter assicurare un grande beneficio per il paziente.

Il volume costituisce la prova di questo impegno che si traduce in una elevata operosità in termini di pubblicazioni scientifiche, finanziamenti connessi alle varie tipologie di ricerca, assistenza erogata.

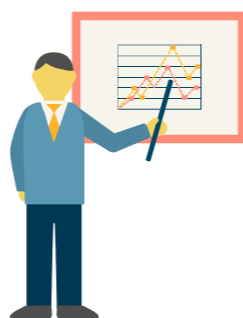
L'attività scientifica dell'IRCCS San Raffaele Pisana si è avvalsa di importanti collaborazioni già esistenti e di nuove con diversi IRCCS del territorio nazionale e con autorevoli istituzioni di ricerca nazionali ed internazionali.

L'elevata esperienza clinica posta al servizio della ricerca, servirà ad accrescere regolarmente l'innovazione assistenziale per soddisfare adeguatamente le richieste dei pazienti e per rafforzare l'eccellenza nei settori riguardanti le patologie neurologiche e neuromotorie, respiratorie, cardiovascolari e dell'età evolutiva. Altro elemento distintivo, nonché fonte di arricchimento sia da un punto di vista clinico che scientifico, è la interdisciplinarietà originata dalla collaborazione tra le attività svolte all'interno delle altre strutture del gruppo San Raffaele dislocate sul territorio nazionale.

Il nostro Istituto da anni lavora assiduamente per colmare il gap tra le scienze riabilitative e le altre specialità, sulla gestione della cronicità e prevenzione della disabilità in una visione olistica.

Una qualità che si esprime come reinserimento nel mondo lavorativo, recupero delle funzioni compromesse, impiego efficace delle abilità residue restituendo alla persona la dignità e la centralità che merita e alle quali ha diritto.

Tutto ciò spiega l'importanza di dover approfondire le basi molecolari e cellulari del recupero fisico e psicologico, la comprensione dei modelli fisiologici, la migliore caratterizzazione delle risposte ai trattamenti riabilitativi nelle patologie d'organo e



sistemiche. L'obiettivo della ricerca è agire per arricchire l'attività clinica attraverso il trasferimento alla pratica clinica, del risultato delle attività identificate con il termine ricerca di base.

Il volume è da considerarsi uno strumento per far conoscere le attività clinico-assistenziali e di ricerca del nostro Istituto; le strutture, lo stato di avanzamento della ricerca, i progetti, le potenzialità delle risorse disponibili e le attività qualificanti che i nostri professionisti, ai quali sono profondamente grato, portano avanti giorno dopo giorno con profonda dedizione.

Massimo Fini
Direttore Scientifico IRCCS San Raffaele

ATTIVITA' SCIENTIFICA

Comitato Scientifico

Pubblicazioni

- Pubblicazioni su riviste impattate
- Pubblicazioni su riviste senza impact factor
- Libri e capitoli di libri
- Partecipazioni a congressi

Aree di ricerca

Linee di Ricerca

- LINEA 1
Studio dei determinanti cellulari, molecolari, genetici, elettrofisiologici e nutrizionali della riabilitazione motoria e sensoriale nelle malattie neurodegenerative e nel dolore
- LINEA 2
Studio dei meccanismi di recupero funzionale nelle patologie croniche, disabilitanti dell'apparato cardiovascolare e respiratorio
- LINEA 3
Sviluppo di sistemi innovativi per il monitoraggio ed il controllo della risposta al trattamento riabilitativo
- LINEA 4
Studio delle disabilità dello sviluppo e neuroriabilitazione pediatrica
- LINEA 5
Identificazione di nuovi modelli organizzativi e gestionali per ottimizzare la risposta riabilitativa nel paziente disabile

Ricerca Finalizzata

Altra Tipologie di Ricerca

Comitato Etico e Clinical Trial Center

Convenzioni

Collaborazioni Istituzionali

Servizi Bibliotecari

Scuole Universitarie

COMITATO SCIENTIFICO



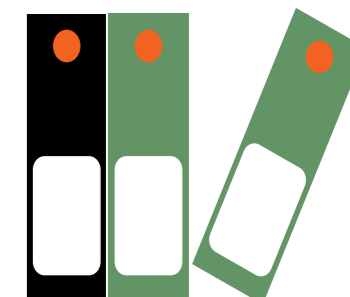
Il Comitato Tecnico Scientifico, presieduto dal Professore Enrico Garaci, nel corso dell'anno 2015 si è riunito in due occasioni nelle quali i componenti sono stati impegnati nello sviluppo di nuove attività, nell'esame del budget dell'anno in corso e a discutere il budget previsione per l'anno 2016, oltre a quelle già presenti nell'Istituto, a mettere a disposizione dei ricercatori la loro expertise nel coordinare al meglio le unità di ricerca, implementando sempre la ricerca pre-clinica da un lato e ottimizzando e potenziando le interazioni all'interno della struttura dall'altro. Nel corso del 2015 il Comitato ha contribuito alla pianificazione e ha approvato i seminari scientifici che si terranno presso l'IRCCS San Raffaele Pisana nel corso dell'anno 2016, in continuità a quanto avvenuto per il 2015.

COMITATO SCIENTIFICO IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

Presidente: Enrico Garaci

- GIORGIO ALBERTINI
Direttore del Dipartimento Disabilità dello Sviluppo Motorie e Sensoriali, IRCCS San Raffaele Pisana
- LUCIO ANNUNZIATO
Professore Ordinario di Farmacologia, Università di Napoli "Federico II"
- MASSIMO FINI
Direttore Scientifico IRCCS San Raffaele Pisana
- MARCO FRANCESCHINI
Coordinatore Clinico Riabilitazione Neuromotoria, IRCCS San Raffaele Pisana
- FIORELLA GUADAGNI
Coordinatore Scientifico Biobanca Interistituzionale Multidisciplinare Biobank (BioBIM), IRCCS San Raffaele Pisana e BioDat
- VINCENZO MOLLACE
Professore Ordinario di Farmacologia, Università degli Studi "Magna Graecia" di Catanzaro
- GIOVANNI MUTO
Direttore della Struttura Complessa di Urologia dell'Ospedale San Giovanni Bosco, Torino
- GIUSEPPE NOVELLI
 Rettore Università degli Studi di Roma " Tor Vergata"
- ANNA TERESA PALAMARA
Professore Ordinario di Farmacia e Medicina, Università "Sapienza" di Roma
- GIUSEPPE ROTILIO
Esperto di Nutrizione
- MATTEO ANTONIO RUSSO
Direttore dei Laboratori di Ricerca preclinica, IRCCS San Raffaele Pisana
- NATALE SANTUCCI
Direttore Medico Aziendale Gruppo San Raffaele
- FABRIZIO STOCCHI
Responsabile del Centro per la Cura e la Diagnosi del Parkinson, IRCCS San Raffaele Pisana
- MAURIZIO VOLTERRANI
Responsabile dell'Unità Operativa di Riabilitazione Cardiologica IRCCS San Raffaele Pisana

PUBBLICAZIONI

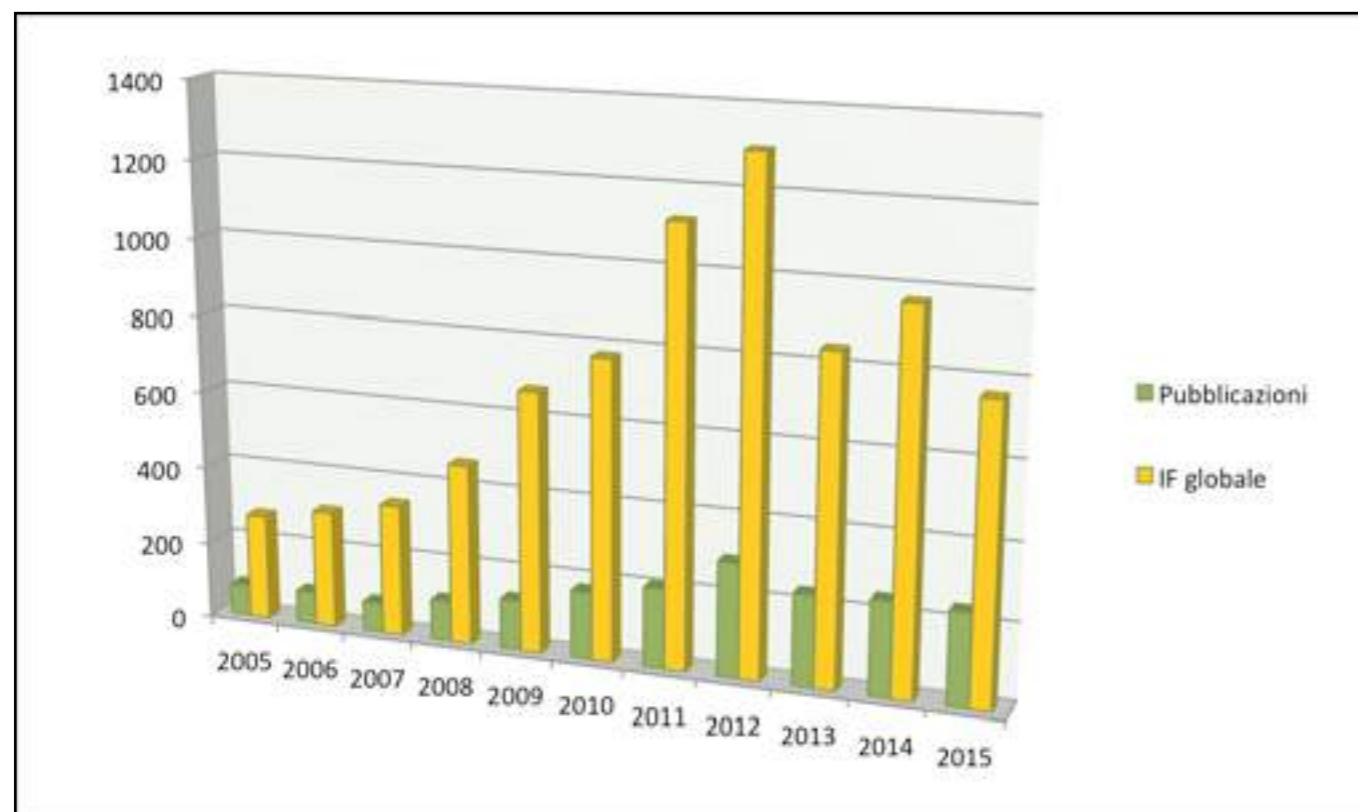


Nel 2015 l'attività scientifica dell'IRCCS San Raffaele è documentata da 275 pubblicazioni, che comprendono:

- 241 articoli originali su riviste recensite dal JCR
- 34 articoli originali su riviste non recensite dal JCR

Tale produzione scientifica costituisce anche il frutto delle collaborazioni di ricerca con altri gruppi e istituti a livello nazionale ed internazionale.

L'impact factor totale per gli articoli pubblicati nel 2015 è 763.



Impact Factor totale degli articoli pubblicati dall' IRCCS San Raffaele Pisana nel periodo 2005-2015

PUBBLICAZIONI SU RIVISTE IMPATTATE

LINEA 1

STUDIO DEI DETERMINANTI CELLULARI, MOLECOLARI, GENETICI, ELETTROFISIOLOGICI E NUTRIZIONALI DELLA RIABILITAZIONE MOTORIA E SENSORIALE NELLE MALATTIE NEURODEGENERATIVE E NEL DOLORE

Area di ricerca: Riabilitazione Neuromotoria

Franceschini M, Colombo R, Posteraro F, Sale P.
A proposal for an Italian Minimum Data Set Assessment Protocol for robot-assisted rehabilitation: a Delphi study.
Eur J Phys Rehabil Med. 2015 Dec; 51(6):745-753.

Gison A, Rizza F, Bonassi S, Donati V, Giaquinto S.
Effects of dispositional optimism on quality of life, emotional distress and disability in Parkinson's disease outpatients under rehabilitation.
Funct Neurol. 2015 Apr-Jun;30(2):105-111.

Kleiner A, Galli M, Gaglione M, Hildebrand D, Sale P, Albertini G, Stocchi F, De Pandis MF.
The Parkinsonian Gait Spatiotemporal Parameters Quantified by a Single Inertial Sensor before and after Automated Mechanical Peripheral Stimulation Treatment.
Parkinsons Dis. 2015;2015:390512. Epub 2015 Oct 1

Lenzi D, Trentini C, Tambelli R, Pantano P.
Neural basis of attachment-caregiving systems interaction: insights from neuroimaging studies.
Front Psychol. 2015 Aug 24;6:1241. doi: 10.3389/fpsyg.2015.01241. eCollection 2015.

Nasr N, Leon B, Mountain G, Nijenhuis SM, Prange G, Sale P, Amirabdollahian F.
The experience of living with stroke and using technology: opportunities to engage and co-design with end users.
Disabil Rehabil Assist Technol. 2015 Apr 16:1-8. [Epub ahead of print].

Nijenhuis SM, Prange GB, Amirabdollahian F, Sale P, Infarinato F, Nasr N, Mountain G, Hermens HJ, Stienen AH, Buurke JH, Rietman JS.
Feasibility study into self-administered training at home using an arm and hand device with motivational gaming environment in chronic stroke.
J Neuroeng Rehabil. 2015 Oct 9;12:89.

Pistoia F, Carolei A, Sacco S, Conson M, Pistarini C, Cazzulani B, Stewart EJ, Franceschini M, Sarà M.
Contribution of interoceptive information to emotional processing: evidence from individuals with spinal cord injury.
J Neurotrauma. 2015 Jun 11. [Epub ahead of print]

Pistoia F, Sacco S, Sarà M, Franceschini M, Carolei A.
Intrathecal Baclofen: Effects on Spasticity, Pain, and Consciousness in Disorders of Consciousness and Locked-in Syndrome.
Curr Pain Headache Rep. 2015 Jan;19(1):466.

Postacchini R, Paoloni M, Carbone S, Fini M, Santilli V, Postacchini F, Mangone M.
Kinematic analysis of reaching movements of the upper limb after total or reverse shoulder arthroplasty.
J Biomech. 2015 Sep 18;48(12):3192-3198.

Rizza F, Gison A, Bonassi S, Dall'Armi V, Tonto F, Giaquinto S.
'Locus of control', health-related quality of life, emotional distress and disability in Parkinson's disease.
J Health Psychol. 2015 Nov 26. pii: 1359105315616471. [Epub ahead of print]

Sale P, Castiglioni D, De Pandis MF, Torti M, Dall'Armi V, Radicati FG, Stocchi F.
The Lee Silverman Voice Treatment (LSVT®) speech therapy in progressive supranuclear palsy.
Eur J Phys Rehabil Med. 2015 Oct;51(5):569-574.

Sale P, Infarinato F, Del Percio C, Lizio R, Babiloni C, Foti C, Franceschini M.
Electroencephalographic markers of robot-aided therapy in stroke patients for the evaluation
of upper limb rehabilitation.
Int J Rehabil Res. 2015 Dec; 38(4):294-305.

Area di ricerca: Parkinson e disturbi del movimento

Amboni M, Stocchi F, Abbruzzese G, Morgante L, Onofri M, Ruggieri S, Tinazzi M, Zappia M,
Attar M, Colombo D, Simoni L, Ori A, Barone P, Antonini A; DEEP Study Group.
Prevalence and associated features of self-reported freezing of gait in Parkinson disease: The
DEEP FOG study.
Parkinsonism Relat Disord. 2015 Jun;21(6):644-649.

Bloem BR, Stocchi F.
Move for Change Part III: a European survey evaluating the impact of the EPDA Charter for Peo-
ple with Parkinson's Disease.
Eur J Neurol. 22(1):133-141; 2015.

Chaudhuri KR, Sauerbier A, Rojo JM, Sethi K, Schapira AHV, Brown R, Antonini A, Stocchi F,
Odin P, Bhattacharya K, Tsuboi Y, Abe K, Rizos A, Rodriguez-Blazquez C, Martinez-Martin P.
The burden of non motor symptoms in Parkinson's disease using a self-completed non motor
questionnaire: A simple grading system.
Parkinsonism Relat Disord. 2015 Mar; 21(3):287-291.

Hauser RA, Stocchi F, Rascol O, Huyck SB, Capece R, Ho TW, Sklar P, Lines C, Michelson D,
Hewitt D.
Preladenant as an Adjunctive Therapy With Levodopa in Parkinson Disease: Two Randomized
Clinical Trials and Lessons Learned.
JAMA Neurol. 2015 Dec;72(12):1491-1500.

Italiano D, Bianchini E, Ilardi M, Cilia R, Pezzoli G, Zanettini R, Vacca L, Stocchi F, Bramanti P,
Ciurleo R, Di Lorenzo G, Polimeni G, de Luise C, Ross D, Rijnbeek P, Sturkenboom M, Trifirò G.
Effectiveness of risk minimization measures for cabergoline-induced cardiac valve fibrosis in
clinical practice in Italy.
J Neural Transm (Vienna). 2015 Jun;122(6):799-808. Epub 2014 Sep 18.

Kleiner A, Galli M, Gaglione M, Hildebrand D, Sale P, Albertini G, Stocchi F, De Pandis MF.
The Parkinsonian Gait Spatiotemporal Parameters Quantified by a Single Inertial Sensor before
and after Automated Mechanical Peripheral Stimulation Treatment.
Parkinsons Dis. 2015;2015:390512. Epub 2015 Oct 1.

Mariani S, Ventriglia M, Simonelli I, Bucossi S, Siotto M, Donno S, Vernieri F, Squitti R.
Association between sex, systemic iron variation and probability of Parkinson's Disease.
Int J Neurosci. 2016;126(4):354-360.

Poewe W, Seppi K, Fitzer-Attas CJ, Wenning GK, Gilman S, Low PA, Giladi N, Barone P, Sampaio
C, Eyal E, Rascol O; Rasagiline-for-MSA investigators.
Efficacy of rasagiline in patients with the parkinsonian variant of multiple system atrophy: a ran-

domised, placebo-controlled trial.
Lancet Neurol. 2015 Feb;14(2):145-152.

Quattrocchi CC, de Pandis MF, Piervincenzi C, Galli M, Melgari JM, Salomone G, Sale P, Mallio
CA, Carducci F, Stocchi F.
Acute Modulation of Brain Connectivity in Parkinson Disease after Automatic Mechanical Peri-
pheral Stimulation: A Pilot Study.
PLoS One. 2015 Oct 15;10(10):e0137977. e Collection 2015.

Smith KM, Eyal E, Weintraub D; ADAGIO Investigators.
Combined rasagiline and antidepressant use in Parkinson disease in the ADAGIO study: effects
on nonmotor symptoms and tolerability.
JAMA Neurol. 2015 Jan;72(1):88-95.

Stocchi F.
Neuroprotection in Parkinson's disease: a difficult challenge.
Lancet Neurol. 2015 Jun 23. pii: S1474-4422(15)00143-X. [Epub ahead of print]

Stocchi F, Fossati C, Torti M.
Rasagiline for the treatment of Parkinson's disease: an update.
Expert Opin Pharmacother. 2015 Oct;16(14):2231-2241.

Stocchi F, Sale P, Kleiner AF, Casali M, Cimolin V, de Pandis F, Albertini G, Galli M.
Long-term effects of automated mechanical peripheral stimulation on gait patterns of patients
with Parkinson's disease.
Int J Rehabil Res. 2015 Sep;38(3):238-245.

Stocchi F, Vacca L, Grassini P, Pawsey S, Whale H, Marconi S, Torti M.
L-Dopa Pharmacokinetic Profile with Effervescent Melevodopa/Carbidopa versus Standard-Re-
lease Levodopa/Carbidopa Tablets in Parkinson's Disease: A Randomised Study.
Parkinsons Dis. 2015;2015:369465. Epub 2015 Jun 10.

Area di ricerca: Cefalea e dolore neuropatico

Allais G, Bussone G, Tullo V, Cortelli P, Valguarnera F, Barbanti P, Sette G, Frediani F, D'Arrigo G,
d'Onofrio F, Comi G, Curone M, Colombo B, Omboni S, Benedetto C.
Early (≤ 1 -h) vs. late (> 1 -h) administration of frovatriptan plus dexketoprofen combination vs. fro-
vatriptan monotherapy in the acute treatment of migraine attacks with or without aura: a post
hoc analysis of a double-blind, randomized, parallel group study.
Neurol Sci. 2015 May;36 Suppl 1:161-7.

Barbanti P, Egeo G.
Pharmacological trials in migraine: it's time to reappraise where the headache is and what the
pain is like.
Headache. 2015 Mar;55(3):439-41. Epub 2014 Dec 19. PubMed PMID: 25523108.

Barbanti P, Egeo G, Fofi L, Aurilia C, Piroso S.
Rationale for use of onabotulinum toxin A (BOTOX) in chronic migraine.
Neurol Sci. 2015 May;36 Suppl 1:29-32.

Barbanti P, Grazi L, Egeo G, Padovan AM, Liebler E, Bussone G.
Non-invasive vagus nerve stimulation for acute treatment of high-frequency and chronic migrai-

ne: an open-label study.
J Headache Pain. 2015 Dec;16:542. Epub 2015 Jun 30.

De Marchis ML, Barbanti P, Palmirotta R, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Piroso S, Ialongo C, Della-Morte D, D'Andrea G, Ferroni P, F.
Look beyond Catechol-O-Methyltransferase genotype for catecholamines derangement in migraine: the BioBIM rs4818 and rs4680 polymorphisms study.
J Headache Pain. 2015 Dec;16(1):520. Epub 2015 Apr 30.

Grazzi L, Padovan A, Barbanti P.
Role of neurostimulation in migraine.
Neurol Sci. 2015 May;36 Suppl 1:121-123.

Neri M, Frustaci A, Milic M, Valdiglesias V, Fini M, Bonassi S, Barbanti P.
A meta-analysis of biomarkers related to oxidative stress and nitric oxide pathway in migraine.
Cephalalgia. 2015 Sep;35(10):931-937.

Palmirotta R, Barbanti P, Ialongo C, De Marchis ML, Alessandrini J, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Valente MG, Ferroni P, Della-Morte D, Guadagni F.
Progesterone receptor gene (PROGINS) polymorphism correlates with late onset of migraine.
DNA Cell Biol. 2015 Mar;34(3):208-212.

Paolucci S, Iosa M, Toni D, Barbanti P, Bovi P, Cavallini A, Candeloro E, Mancini A, Mancuso M, Monaco S, Pieroni A, Recchia S, Sessa M, Strambo D, Tinazzi M, Cruccu G, Truini A.
Prevalence and time course of post-stroke pain: A multicenter prospective hospital-based study.
Pain Medicine 2015 14 December 2015 [Epub ahead of print] doi: 10.1093/pm/pnv019

Laboratorio di Neurobiologia molecolare e cellulare:

Cardinale A, Filesi I, Singh PB, Biocca S.
Intrabody-mediated diverting of HP1 β to the cytoplasm induces co-aggregation of H3-H4 histones and lamin-B receptor.
Exp Cell Res. 2015 Oct 15;338(1):70-81.

D'Arcangelo G, Grossi D, Racaniello M, Cardinale A, Zaratti A, Rufini S, Cutarelli A, Tancredi V, Merlo D, Frank C.
Miglustat Reverts the Impairment of Synaptic Plasticity in a Mouse Model of NPC Disease.
Neural Plasticity. 2015. Article ID 937385 p. [in press]

Merlo D, Mollinari C, Racaniello M, Garaci E, Cardinale A.
"DNA double strand breaks: a common theme in neurodegenerative diseases".
Curr Alzheimer Res. [in press]

Mollinari C, Racaniello M, Berry A, Pieri M, de Stefano MC, Cardinale A, Zona C, Cirulli F, Garaci E, Merlo D.
miR-34a regulates cell proliferation, morphology and function of newborn neurons resulting in improved behavioural outcomes.
Cell Death Dis. 2015 Jan 29;6:e1622. doi: 10.1038/cddis.2014.589.

Narciso L, Parlanti E, Racaniello M, Simonelli V, Cardinale A, Merlo D, Dogliotti E.
The response to oxidative DNA damage in neurons: Mechanisms and disease.
Neural plasticity. 2015; Accepted 24 December 2015.

Laboratorio di Elettrofisiologia:

Roseti C, van Vliet EA, Cifelli P, Ruffolo G, Baayen JC, Di Castro MA, Bertolini C, Limatola C, Aronica E, Vezzani A, Palma E.
GABA(A) currents are decreased by IL-1 β in epileptogenic tissue of patients with temporal lobe epilepsy: implications for ictogenesis.
Neurobiol Dis. 2015;82:311-320

Soukupova M, Binaschi A, Falcicchia C, Palma E, Roncon P, Zucchini S, Simonato M.
Increased extracellular levels of glutamate in the hippocampus of chronically epileptic rats.
Neuroscience. 2015 Jun 11;301:246-253.

Laboratorio di Biochimica dell'invecchiamento:

Desideri E, Vegliante R, Ciriolo MR.
Mitochondrial dysfunctions in cancer: genetic defects and oncogenic signaling impinging on TCA cycle activity.
Cancer Lett. 2015 Jan 28;356(2 Pt A):217-223.

Lettieri Barbato D, Tatulli G, Aquilano K, Ciriolo MR.
Mitochondrial Hormesis links nutrient restriction to improved metabolism in fat cell.
Aging (Albany NY). 2015 Oct;7(10):869-881.

Lettieri Barbato D, Tatulli G, Cannata SM, Bernardini S, Aquilano K, Ciriolo MR.
Glutathione Decrement Drives Thermogenic Program In Adipose Cells.
Sci Rep. 2015 Aug 11;5:13091. doi: 10.1038/srep13091.

Lettieri Barbato D, Tatulli G, Vegliante R, Cannata SM, Bernardini S, Ciriolo MR, Aquilano K.
Dietary fat overload reprograms brown fat mitochondria.
Front Physiol. 2015 Sep 29;6:272. eCollection 2015.

Laboratorio di Neurofisiologia e Brain Connectivity:

Babiloni C, Del Percio C, Capotosto P, Noce G, Infarinato F, Muratori C, Marcotulli C, Bellagamba G, Righi E, Soricelli A, Onorati P, Lupattelli T.
Cortical sources of resting state electroencephalographic rhythms differ in relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis.
Clinical Neurophysiology 2015 [Epub ahead of print]

Babiloni C, Del Percio C, Vecchio F, Sebastiano F, Di Gennaro G, Quarato PP, Morace R, Pavone L, Soricelli A, Noce G, Esposito V, Rossini PM, Gallese V, Mirabella G.
Alpha, beta and gamma electrocorticographic rhythms in somatosensory, motor, premotor and prefrontal cortical areas differ in movement execution and observation in humans.
Clinical Neurophysiology 2015 [Epub ahead of print]

Babiloni C, Lizio R, Marzano N, Capotosto P, Soricelli A, Triggiani AI, Cordone S, Gesualdo L, Del Percio C.
Brain neural synchronization and functional coupling in Alzheimer's disease as revealed by resting state EEG rhythms.
Int J Psychophysiol. 2015 Feb 7. pii: S0167-8760(15)00038-0. [Epub ahead of print]

Babiloni C, Pennica A, Del Percio C, Noce G, Cordone S, Muratori C, Ferracuti S, Donato N, Di Campi F, Gianserra L, Teti E, Aceti A, Soricelli A, Viscione M, Limatola C, Andreoni M, Onorati P. Abnormal cortical sources of resting state electroencephalographic rhythms in single treatment-naïve HIV individuals: A statistical z-score index. *Clinical Neurophysiology*. 2015;19 December [Epub ahead of print]

Bianco A, Gambaro G, Rossini PM, Mirabella M. Acyclovir-related kidney injury during alemtuzumab infusion. *J Neurol*. 2015 Jul;262(7):1772-4. Epub 2015 Jun 3.

Bianco A, Patanella AK, Nociti V, Marti A, Frisullo G, Plantone D, De Fino C, Fetta A, Batocchi A, Rossini PM, Mirabella M. Second-line therapy with fingolimod for relapsing-remitting multiple sclerosis in clinical practice: The effect of previous exposure to natalizumab. *Eur Neurol*. 2015;73(1-2):57-65.

Brunetti M, Sepede G, Ferretti A, Mingoia G, Romani GL, Babiloni C. Response inhibition failure to visual stimuli paired with a "single-type" stressor in PTSD patients: An fMRI pilot study. *Brain Res Bull*. 2015 Mar 16;114:20-30. doi: 10.1016/j.brainresbull.

Caliandro P, Serrao M, Padua L, Silvestri G, Iacovelli C, Simbolotti C, Mari S, Reale G, Casali C, Rossini PM. Prefrontal cortex as a compensatory network in ataxic gait: A correlation study between cortical activity and gait parameters. *Restor Neurol Neurosci*. 2015;33(2):177-187.

Cancelli A, Cottone C, Di Giorgio M, Carducci F, Tecchio F. Personalizing the electrode to neuromodulate an extended cortical region. *Brain Stimul*. 2015 May-Jun;8(3):555-560.

Cancelli A, Cottone C, Zito G, Di Giorgio M, Pasqualetti P, Tecchio F. Cortical inhibition and excitation by bilateral transcranial alternating current stimulation. *Restor Neurol Neurosci*. 2015;33(2):105-114.

Ferreri F, Guerra A, Rossini PM. Neurophysiological markers of plastic brain reorganization following central and peripheral lesions. *Arch Ital Biol*. 2014 Dec;152(4):216-238.

Foik AT, Kublik E, Sergeeva EG, Tatlisumak T, Sabel BA, Rossini PM, Waleszczyk WJ. Retinal origin of electrically evoked potentials in response to transcorneal alternating current stimulation in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015 Feb 3;56(3):1711-1718.

Gall C, Silvennoinen K, Granata G, de Rossi F, Vecchio F, Brösel D, Bola M, Sailer M, Waleszczyk WJ, Rossini PM, Tatlisumak T, Sabel BA. Non-invasive electric current stimulation for restoration of vision after unilateral occipital stroke. *Contemp Clin Trials*. 2015 Jul;43:231-236.

Galletta EE, Cancelli A, Cottone C, Simonelli I, Tecchio F, Bikson M, Marangolo P. Use of Computational Modeling to Inform tDCS Electrode Montages for the Promotion of Lan-

guage Recovery in Post-stroke Aphasia. *Brain Stimul*. 2015 Jul 2. pii: S1935-861X(15)01020-7. [Epub ahead of print]

Iorio A, Polimanti R, Calandro M, Graziano ME, Piacentini S, Bucossi S, Squitti R, Lazzarin N, Scano G, Limbruno GM, Manfellotto D, Fuciarelli M. Explorative genetic association study of GSTT2B copy number variant in complex disease risks. *Ann Hum Biol*. 2016 May;43(3): 279-284.

Infarinato F, Rahman A, Del Percio C, Lamberty Y, Bordet R, Richardson JC, Forloni G, Dringenburg W, Lopez S, Aujard F, Babiloni C, Pifferi F; IMI project "PharmaCog" Consortium. On-Going Frontal Alpha Rhythms Are Dominant in Passive State and Desynchronize in Active State in Adult Gray Mouse Lemurs. *PLoS One*. 2015 Nov 30;10(11):e0143719. eCollection 2015.

Jovicich J, Minati L, Marizzoni M, Marchitelli R, Sala-Llonch R, Bartrés-Faz D, Arnold J, Beninghoff J, Fiedler U, Roccatagliata L, Picco A, Nobili F, Blin O, Bombois S, Lopes R, Bordet R, Sein J, Ranjeva JP, Didic M, Gros-Dagnac H, Payoux P, Zoccatelli G, Alessandrini F, Beltramello A, Bargalló N, Ferretti A, Caulo M, Aiello M, Cavaliere C, Soricelli A, Parnetti L, Tarducci R, Floridi P, Tsolaki M, Constantinidis M, Drevelegas A, Rossini PM, Marra C, Schönknecht P, Hensch T, Hoffmann KT, Kuijter JP, Visser PJ, Scheltens P, Frisoni GB; PharmaCog Consortium. Longitudinal reproducibility of default-mode network connectivity in healthy elderly participants: A multicentric resting-state fMRI study. *Neuroimage*. 2015 Jul 9. pii: S1053-8119(15)00619-9. [Epub ahead of print]

Leroy C, Bourriez J, Dujardin K, Molaee-Ardekani B, Babiloni C, Deplanque D, Ponchel A, Hennion S, Plomhause L, Devanne H, Deguil J, Payoux P, Blin O, Mèlignè D, Micallef J, Chauveau N, Lanteaume L, Vervueren C, Guimont F, Thalamas C, Cassé-Perrot C, Rouby F, Bordet R, Derambure P. A 15-day course of donepezil modulates spectral EEG dynamics related to target auditory stimuli in young, healthy adult volunteers. *Clinical Neurophysiology*. 2015 [Epub ahead of print]

Lizio R, Del Percio C, Marzano N, Soricelli A, Yener GG, Başar E, Mundi C, De Rosa S, Triggiani AI, Ferri R, Arnaldi D, Nobili FM, Cordone S, Lopez S, Carducci F, Santi G, Gesualdo L, Rossini PM, Cavedo E, Mauri M, Frisoni GB, Babiloni C. Neurophysiological Assessment of Alzheimer's Disease Individuals by a Single Electroencephalographic Marker. *J Alzheimers Dis*. 2015;49(1):159-177.

Luigetti M, Servidei S, Modoni A, Rossini PM, Sabatelli M, Lo Monaco M. Admission neurophysiological abnormalities in Guillain-Barré syndrome: A single-center experience. *Clin Neurol Neurosurg*. 2015 8;135(0):6-10.

Marano M, Vespasiani Gentilucci U, Altamura C, Siotto M, Squitti R, Bucossi S, Quintiliani L, Migliore S, Greco F, Scarciolla L, Quattrocchi CC, Picardi A, Vernieri F. Altered metal metabolism in patients with HCV-related cirrhosis and hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*. 2015 Dec;30(6):1445-1452.

Mariani S, Ventriglia M, Simonelli I, Bucossi S, Siotto M, Donno S, Vernieri F, Squitti R. Association between sex, systemic iron variation and probability of Parkinson's Disease. *Int J Neurosci*. 2015 May 22:1-20. [Epub ahead of print]

Marizzoni M, Antelmi L, Bosch B, Bartrés-Faz D, Müller BW Wiltfang J, Fiedler U, Roccatagliata L, Picco A, Nobili F, Blin O, Bombois S, Lopes R, Sein J, Ranjeva JP, Didic M, Gros-Dagnac H, Payoux P, Zoccatelli G, Alessandrini F, Beltramello A, Bargalló N, Ferretti A, Caulo M, Aiello M, Cavaliere C, Soricelli A, Salvadori N, Parnetti L, Tarducci R, Floridi P, Tsolaki M, Constantinidis M, Drevelegas A, Rossini PM, Marra C, Hoffmann KT, Hensch T, Schönknecht P, Kuijjer JP, Visser PJ, Barkhof F, Bordet R, Frisoni GB, Jovicich J; PharmaCog Consortium.

Longitudinal reproducibility of automatically segmented hippocampal subfields: A multisite European 3T study on healthy elderly. *Hum Brain Mapp.* 2015 Sep;36(9):3516-3527.

Miraglia F, Vecchio F, Bramanti P, Rossini PM. EEG characteristics in "eyes open" vs "eyes closed" conditions: Small world network architecture in healthy aging and age-related brain degeneration. *Clinical Neurophysiology.* 2015 [Epub ahead of print]

Miraglia F, Vecchio F, Bramanti P, Rossini PM. Small-worldness characteristics and its gender relation in specific hemispheric networks. *Neuroscience.* 2015 Sep 15;310:1-11. [Epub ahead of print]

Peng W, Babiloni C, Mao Y, Hu Y. Subjective pain perception mediated by alpha rhythms. *Biol Psychol.* 2015 May 28;109:141-150.

Peng W, Hu Y, Mao Y, Babiloni C. Widespread cortical α -ERD accompanying visual oddball target stimuli is frequency but non-modality specific. *Behav Brain Res.* 2015 Dec 15;295:71-77.

Polimanti R, Simonelli I, Zappasodi F, Ventriglia M, Pellicciari MC, Benussi L, Squitti R, Rossini PM, Tecchio F. Biological factors and age-dependence of primary motor cortex experimental plasticity. *Neurol Sci.* 2016 Feb;37(2):211-218.

Sabatelli M, Zollino M, Conte A, Del Grande A, Marangi G, Lucchini M, Mirabella M, Romano A, Piacentini R, Bisogni G, Lattante S, Luigetti M, Rossini PM, Moncada A. Primary fibroblast cultures reveal TDP-43 abnormalities in amyotrophic lateral sclerosis patients with and without SOD1 mutations. *Neurobiol Aging.* 2015 May;36(5):2005. Epub 2015 Feb 17.

Testani E, Le Pera D, Del Percio C, Miliucci R, Brancucci A, Pazzaglia C, De Armas L, Babiloni C, Rossini PM, Valeriani M. Cortical inhibition of laser pain and laser-evoked potentials by non-nociceptive somatosensory input. *Eur J Neurosci.* 2015 Oct;42(7):2407-2414.

Triggiani AI, Valenzano A, Ciliberti MA, Moscatelli F, Villani S, Monda M, Messina G, Federici A, Babiloni C, Cibelli G. Heart rate variability is reduced in underweight and overweight healthy adult women. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2015 Jul 25. [Epub ahead of print]

Triggiani AI, Valenzano A, Del Percio C, Marzano N, Soricelli A, Petito A, Bellomo A, Basar E,

Mundi C, Cibelli G, Babiloni C. Resting state Rolandic mu rhythms are related to activity of sympathetic component of autonomic nervous system in healthy humans. *Int J Psychophysiol.* 2015 Feb 7. [Epub ahead of print]

Vecchio F, Miraglia F, Curcio G, Altavilla R, Scrascia F, Giambattistelli F, Quattrocchi CC, Bramanti P, Vernieri F, Rossini PM. Cortical Brain Connectivity Evaluated by Graph Theory in Dementia: A Correlation Study Between Functional and Structural Data. *J Alzheimers Dis.* 2015;45(3):745-756.

Vecchio F, Miraglia F, Curcio G, Della Marca G, Vollono C, Mazzucchi E, Bramanti P, Rossini PM. Cortical connectivity in fronto-temporal focal epilepsy from EEG analysis: A study via graph theory. *Clin Neurophysiol.* 2015 Jun;126(6):1108-1116.

Vecchio F, Miraglia F, Quaranta D, Granata G, Romanello R, Marra C, Bramanti P, Rossini PM. Cortical connectivity and memory performance in cognitive decline: a study via graph theory from EEG data. *Neuroscience.* 2015 Dec 24. [Epub ahead of print]

Vecchio F, Miraglia F, Valeriani L, Scarpellini MG, Bramanti P, Mecarelli O, Rossini PM. Cortical Brain Connectivity and B-Type Natriuretic Peptide in Patients With Congestive Heart Failure. *Clin EEG Neurosci.* 2015 Jul;46(3):224-229.

Ventriglia M, Brewer GJ, Simonelli I, Mariani S, Siotto M, Bucossi S, Squitti R. Zinc in Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis of Serum, Plasma, and Cerebrospinal Fluid Studies. *J Alzheimers Dis.* 2015;46(1):75-87.

Yener GG, Emek-Savaş DD, Lizio R, Çavuşoğlu B, Carducci F, Ada E, Güntekin B, Babiloni C, Başar E. Frontal delta event-related oscillations relate to frontal volume in mild cognitive impairment and healthy controls. *Int J Psychophysiol.* 2015 Feb 7. [Epub ahead of print]

Zampetti A, Silvestri G, Manco S, Khamis K, Masciullo M, Bianchi ML, Damiani A, Santoro M, Linder D, Bewley A, Feliciani C. Dysplastic nevi, cutaneous melanoma, and other skin neoplasms in patients with myotonic dystrophy type 1: A cross-sectional study. *J Am Acad Dermatol.* 2015 Nov 5; 72(1): 85-91. [Epub ahead of print]

Zappasodi F, Marzetti L, Olejarczyk E, Tecchio F, Pizzella V. Age-Related Changes in Electroencephalographic Signal Complexity. *PLoS One.* 2015 Nov 4;10(11):e0141995. eCollection 2015.

Area di Ricerca Diagnostica per Immagini:

Romano A, Cornia R, Moraschi M, Bozzao A, Chiacchiararelli L, Coppola V, Iani C, Stella G, Albertini G, Pierallini A. Age-Related Cortical Thickness Reduction in Non-Demented Down's Syndrome Subjects. *J Neuroimaging.*

2015 May 21. [Epub ahead of print]

Romano A, Moraschi M, Cornia R, Bozzao A, Gagliardo O, Chiacchiararelli L, Iani C, Stella G, Albertini G, Pierallini A.
Age effects on cortical thickness in young Down's syndrome subjects: a cross-sectional gender study.
Neuroradiology. 2015 Apr;57(4):401-411.



LINEA 2

STUDIO DEI MECCANISMI DI RECUPERO FUNZIONALE NELLE PATOLOGIE CRONICHE, DISABILITANTI DELL'APPARATO CAR- DIOVASCOLARE E RESPIRATORIO

Area di Ricerca di Riabilitazione Cardiovascolare e Centro di Ricerca Clinica e Sperimentale:

- Annino G, Palazzo F, Lebone P, Caronti A, Lombardo M, Campoli F, Padua E, Iellamo F.
The efficacy of plantar stimulation on human balance control.
Somatosens Mot Res. 2015;32(3):200-205.
- Annino G, Ruscello B, Lebone P, Palazzo F, Lombardo M, Padua E, Verdecchia L, Tancredi V, Iellamo F.
Acute effects of static and dynamic stretching on jump performance after 15 min of reconditioning shooting phase in basketball players.
J Sports Med Phys Fitness. 2015 Dec 3. [Epub ahead of print]
- Anker SD, Coats AJ, Cristian G, Dragomir D, Pusineri E, Piredda M, Bettari L, Dowling R, Volterrani M, Kirwan BA, Filippatos G, Mas JL, Danchin N, Solomon SD, Lee RJ, Ahmann F, Hinson A, Sabbah HN, Mann DL.
A prospective comparison of alginate hydrogel with standard medical therapy to determine impact on functional capacity and clinical outcomes in patients with advanced heart failure (AUGMENT-HF trial).
Eur Heart J. 2015 Sep 7;36(34):2297-2309. Epub 2015 Jun 16.
- Armani A, Marzolla V, Fabbri A, Caprio M.
Cellular mechanisms of MR regulation of adipose tissue physiology and pathophysiology.
J Mol Endocrinol. 2015 Oct;55(2):R1-R10. Epub 2015 Aug 13.
- Borg JJ, Anker SD, Rosano G, Serracino-Inglott A, Strasser F.
Multimodal management as requirement for the clinical use of anticachexia drugs – a regulatory and a clinical perspective.
Curr Opin Support Palliat Care. 2015 Dec;9(4):333-345.
- Brunetti ND, Scalvini S, Acquistapace F, Parati G, Volterrani M, Fedele F, Molinari G.
Telemedicine for cardiovascular disease continuum: A position paper from the Italian Society of Cardiology Working Group on Telecardiology and Informatics.
Int J Cardiol. 2015 Feb 25;184C:452-458. [Epub ahead of print]
- Bugada D, De Gregori M, Compagnone C, Muscoli C, Raimondi F, Bettinelli S, Avanzini MA, Cobianchi L, Peloso A, Baciarello M, Dagostino C, Giancotti LA, Ilari S, Lauro F, Grimaldi S, Tasciotti E, Fini M, Sacconi Jotti GM, Meschi T, Fanelli G, Allegri M.
Continuous wound infusion of local anesthetic and steroid after major abdominal surgery: study protocol for a randomized controlled trial.
Trials. 2015 Aug 14;16(1):357.
- Cacciotti G, Caputo B, Selvaggi C, la Sala A, Vitiello L, Diallo D, Ceianu C, Antonelli G, Nowotny N, Scagnolari C.
Variation in interferon sensitivity and induction between Usutu and West Nile (lineages 1 and 2) viruses.
Virology. 2015 Aug 13;485:189-198.
- Caminiti G, Cardaci V, Conti V, D'Antoni V, Murugesan J, Battaglia D, Volterrani M.
Right ventricular systolic dysfunction is related to exercise intolerance in patients with chronic obstructive pulmonary disease.
J Cardiopulm Rehabil Prev. 2015 Jan-Feb;35(1):70-74.

- Caminiti G, Fossati C, Rosano G, Volterrani M.
Addition of ivabradine to betablockers in patients with atrial fibrillation: Effects on heart rate and exercise tolerance.
Int J Cardiol. Epub 2015 Aug 31.
- Capuano A, Coats AJ, Scavone C, Rossi F, Rosano GM.
Disclosure of negative trial results. A call for action.
Int J Cardiol. 2015 Jul 2;198:47-48.
- Capuano A, Scavone C, Vitale C, Sportiello L, Rossi F, Rosano GM, Coats AJ.
Mineralocorticoid receptor antagonists in heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF).
Int J Cardiol. 2015 Dec 1;200:15-19.
- Cunha PG, Cotter J, Oliveira P, Vila I, Boutouyrie P, Laurent S, Nilsson PM, Scuteri A, Sousa N.
Pulse wave velocity distribution in a cohort study: from arterial stiffness to early vascular aging.
J Hypertens. 2015 Jul;33(7):1438-1445.
- Del Principe D, Ruggieri A, Pietraforte D, Villani A, Vitale C, Straface E, Malorni W.
The relevance of estrogen/estrogen receptor system on the gender difference in cardiovascular risk.
Int J Cardiol. 2015 Mar 17;187:291-298.
- De Zio D, Molinari F, Rizza S, Gatta L, Ciotti MT, Salvatore AM, Mathiassen SG, Cwetsch AW, Filomeni G, Rosano G, Ferraro E.
Apaf1-deficient cortical neurons exhibit defects in axonal outgrowth.
Cell Mol Life Sci. 2015 May 15. [Epub ahead of print]
- Di Franco M, Gambardella L, Di Lollo AC, Malorni W, Valesini G, Straface E.
Possible Implication of Red Blood Cells in the Prothrombotic Risk in Early Rheumatoid Arthritis.
J Rheumatol. 2015 Jul;42(7):1352-1354.
- Dillinger JG, Maher V, Vitale C, Henry P, Logeart D, Silberman SM, Allée G, Levy BI.
Impact of Ivabradine on Central Aortic Blood Pressure and Myocardial Perfusion in Patients With Stable Coronary Artery Disease.
Hypertension. 2015 Dec;66(6):1138-1144.
- Efficace F, Fayers P, Pusic A, Cemal Y, Yanagawa J, Jacobs M, la Sala A, Cafaro V, Whale K, Rees J, Blazeby J; European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality-of-Life Group (Patient-Reported Outcome Measurements Over Time in Oncology Registry).
Quality of patient-reported outcome reporting across cancer randomized controlled trials according to the CONSORT patient-reported outcome extension: A pooled analysis of 557 trials.
Cancer. 2015 Sep 15;121(18):3335-3342. Epub 2015 Jun 16.
- Fadini GP, Avogaro A, Degli Esposti L, Russo P, Saragoni S, Buda S, Rosano G, Pecorelli S, Pani L; OsMed Health-DB Network.
Risk of hospitalization for heart failure in patients with type 2 diabetes newly treated with DPP-4 inhibitors or other oral glucose-lowering medications: a retrospective registry study on 127,555 patients from the Nationwide OsMed Health-DB Database.
Eur Heart J. 2015 Sep 21;36(36):2454-2462.
- Fearon K, Argiles JM, Baracos VE, Bernabei R, Coats A, Crawford J, Deutz NE, Doehner W, Evans WJ, Ferrucci L, Garcia JM, Gralla RJ, Jatoi A, Kalantar-Zadeh K, Lainscak M, Morley JE,

Muscaritoli M, Polkey MI, Rosano G, Rossi-Fanelli F, Schols AM, Strasser F, Vellas B, von Haehling S, Anker SD.

Request for regulatory guidance for cancer cachexia intervention trials.
J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2015 Dec;6(4):272-274.

Ferrari D, Vitiello L, Idzko M, la Sala A.
Purinergic signaling in atherosclerosis.
Trends Mol Med. 2015 Jan 27. pii: S1471-4914(14)00225-1. [Epub ahead of print]

Ferraro E, Pin F, Gorini S, Pontecorvo L, Ferri A, Mollace V, Costelli P, Rosano G.
Improvement of skeletal muscle performance in ageing by the metabolic modulator Trimetazidine.
J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2015 [Epub ahead of print]

Freudenberger RS, Cheng B, Mann DL, Thompson JL, Sacco RL, Buchsbaum R, Sanford A, Pulicino PM, Levin B, Teerlink JR, Graham S, Mohr JP, Labovitz AJ, Di Tullio MR, Lip GY, Estol CJ, Lok DJ, Ponikowski P, Anker SD, Homma S; WARCEF Investigators.
The first prognostic model for stroke and death in patients with systolic heart failure.
J Cardiol. 2015 Nov 5. pii: S0914-5087(15)00309-3. [Epub ahead of print]

Giallauria F, Fattiroli F, Tamarin R, Ambrosetti M, Griffo R, Riccio C, De Feo S, Piepoli MF, Vighetto C; ISYDE-2008 Investigators of Italian Association for Cardiovascular Prevention, Rehabilitation (GICR-IACPR) (Volterrani M and collaborator).
Clinical characteristics and course of patients with diabetes entering cardiac rehabilitation.
Diabetes Res Clin Pract. 2015 Feb;107(2):267-272.

Harinstein ME, Butler J, Greene SJ, Fonarow GC, Stockbridge NL, O'Connor CM, Pfeffer MA, Mehra MR, Solomon SD, Yancy CW, Fiuzat M, Mentz RJ, Collins SP, McMurray JJ, Vaduganathan M, Dunnmon PM, Rosano GM, Dinh W, Misselwitz F, Bonow RO, Gheorghiu M.
Site selection for heart failure clinical trials in the USA.
Heart Fail Rev. 2015 Feb 4. [Epub ahead of print]

Janda E, Lascalea A, Carresi C, Parafati M, Aprigliano S, Russo V, Savoia C, Ziviani E, Musolino V, Morani F, Isidoro C, Mollace V.
Parkinsonian toxin-induced oxidative stress inhibits basal autophagy in astrocytes via NQO2/quinone oxidoreductase 2: Implications for neuroprotection.
Autophagy. 2015;11(7):1063-1080.

Lainscak M, Pelliccia F, Rosano G, Vitale C, Schiariti M, Greco C, Speziale G, Gaudio C.
Safety profile of mineralocorticoid receptor antagonists: Spironolactone and eplerenone.
Int J Cardiol. 2015 12/1;200:25-29.

Lamoke F, Mazzone V, Persichini T, Maraschi A, Harris MB, Venema RC, Colasanti M, Gliozzi M, Muscoli C, Bartoli M, Mollace V.
Amyloid β peptide-induced inhibition of endothelial nitric oxide production involves oxidative stress-mediated constitutive eNOS/HSP90 interaction and disruption of agonist-mediated Akt activation.
J Neuroinflammation. 2015 May 3;12(1):84. PubMed PMID: 25935150

Mann DL, Lee RJ, Coats AJ, Neagoe G, Dragomir D, Pusineri E, Piredda M, Bettari L, Kirwan BA, Dowling R, Volterrani M, Solomon SD, Sabbah HN, Hinson A, Anker SD.
One-year follow-up results from AUGMENT-HF: a multicentre randomized controlled clinical

trial of the efficacy of left ventricular augmentation with Algisyl in the treatment of heart failure.
Eur J Heart Fail. 2015 Nov 11. [Epub ahead of print]

Manzi V, Bovenzi A, Castagna C, Sinibaldi Salimei P, Volterrani M, Iellamo F.
Training Load Distribution in Endurance Runners: Objective vs Subjective Assessment.
Int J Sports Physiol Perform. 2015 Nov;10(8):1023-1028.

Marazzi G, Pelliccia F, Campolongo G, Quattrino S, Cacciotti L, Volterrani M, Gaudio C, Rosano G.
Usefulness of nutraceuticals (armolipid plus®) versus ezetimibe and combination in statin-intolerant dyslipidemia patients with coronary heart disease.
Am J Cardiol. 2015 Dec 15;116(12):1798-1801.

Maselli A, Pierdominici M, Vitale C, Ortona E.
Membrane lipid rafts and estrogenic signalling: a functional role in the modulation of cell homeostasis.
Apoptosis. 2015 May;20(5):671-678.

Mollace V, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Muscoli S, Mollace R, Tavernese A, Gratteri S, Palma E, Chiara M, Vitale C, Muscoli C, Fini M, Romeo F.
Oxidized LDL attenuates protective autophagy and induces apoptotic cell death of endothelial cells: Role of oxidative stress and LOX-1 receptor expression.
Int J Cardiol. 2015 Apr 1;184:152-8. Epub 2015 Feb 11.

Neri M, Frustaci A, Milic M, Valdiglesias V, Fini M, Bonassi S, Barbanti P.
A meta-analysis of biomarkers related to oxidative stress and nitric oxide pathway in migraine.
Cephalalgia. 2015 Sep;35(10):931-937.

Onder G, Marengoni A, Russo P, Degli Esposti L, Fini M, Monaco A, Bonassi S, Palmer K, Marrocco W, Pozzi G, Sangiorgi D, Buda S, Marchionni N, Mammarella F, Bernabei R, Pani L, Pecorelli S; Geriatrics Working Group of the Italian Medicines Agency (Agenzia Italiana del Farmaco, AIFA); Medicines Utilization Monitoring Center Health Database Network.
Advanced Age and Medication Prescription: More Years, Less Medications? A Nationwide Report From the Italian Medicines Agency.
J Am Med Dir Assoc. 2015 Sep 30. pii: S1525-8610(15)00535-6. [Epub ahead of print]

Packer M, McMurray JJ, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkala AR, Rouleau JL, Shi VC, Solomon SD, Swedberg K, Zile M, Andersen K, Arango JL, Arnold JM, Bělohávek J, Böhm M, Boysov S, Burgess LJ, Cabrera W, Calvo C, Chen CH, Dukat A, Duarte YC, Erglis A, Fu M, Gomez E, González-Medina A, Hagège AA, Huang J, Katova T, Kiatchosakun S, Kim KS, Kozan Ö, Llamas EB, Martinez F, Merkely B, Mendoza I, Mosterd A, Negrusz-Kawecka M, Peuhkurinen K, Ramirez FJ, Refsgaard J, Rosenthal A, Senni M, Sibulo AS Jr, Silva-Cardoso J, Squire IB, Starling RC, Teerlink JR, Vanhaecke J, Vinereanu D, Wong RC; PARADIGM-HF Investigators and Coordinators.
Angiotensin receptor neprilysin inhibition compared with enalapril on the risk of clinical progression in surviving patients with heart failure.
Circulation. 2015 Jan 6;131(1):54-61. Epub 2014 Nov 17.

Pani L, Pecorelli S, Rosano G, Anker SD, Peracino A, Fregonese L, Prasad K, Rasi G.
Steps forward in regulatory pathways for acute and chronic heart failure.
Review Eur J Heart Fail. 2015 Jan;17(1):3-8.

Paoloni M, Bernetti A, Belevi A, Brignoli O, Buoso S, Caputi AP, Catani F, Coclite D, Fini M, Man-

- tovani L.
Appropriateness of clinical and organizational criteria for intra-articular injection therapies in osteoarthritis. A delphi method consensus initiative among experts in Italy.
Ann Ist Super Sanità. 2015;51(2):5-12.
- Paoloni M, Tavernese E, Cacchio A, D' Orazi V, Ioppolo F, Fini M, Santilli V, Mangone M.
Extracorporeal shock wave therapy and ultrasound therapy improve pain and function in patients with carpal tunnel syndrome. A randomized controlled trial.
Eur J Phys Rehabil Med. 2015 Feb 20. [Epub ahead of print]
- Pastore D, Della-Morte D, Coppola A, Capuani B, Lombardo MF, Pacifici F, Ferrelli F, Arriga R, Mammi C, Federici M, Bellia A, Di Daniele N, Tesaro M, Donadel G, Noto D, Sbraccia P, Scocchia G, Lauro D.
SGK-1 protects kidney cells against apoptosis induced by ceramide and TNF- α
Cell Death Dis. 2015 Sep 17;6:e1890. PubMed PMID: 26379195.
- Pelliccia F, Coats AJ, Pani L, Gaudio C, Rosano G.
Transparency in medical research: Time for a paradigm shift.
Int J Cardiol. 2015 Mar 18;186:259-260. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.03.219.
- Pelliccia F, Greco C, Gaudio C, Rosano G, Vitale C, Marazzi G, Rollini F, Angiolillo DJ.
Comparison of the pharmacodynamic effects of ranolazine versus amlodipine on platelet reactivity in stable patients with coronary artery disease treated with dual antiplatelet therapy: The ROMAN (RanOlazine vs. aMlodipine on platelet reactivity in stable patients with CAD treated with dual Antiplatelet therapy) study.
J Thromb Thrombolysis. 2015 Oct;40(3):331-339.
- Pelliccia F, Parodi G, Greco C, Antonucci D, Brenner R, Bossone E, Cacciotti L, Capucci A, Citro R, Delmas C, Guerra F, Ionescu CN, Lairez O, Larrauri-Reyes M, Lee PH, Mansencal N, Marazzi G, Mihos CG, Morel O, Nef HM, Nunez Gil IJ, Passaseo I, Pineda AM, Rosano G, Santana O, Schneck F, Song BG, Song JK, Teh AW, Ungprasert P, Valbusa A, Wahl A, Yoshida T, Gaudio C, Kaski JC.
Comorbidities Frequency in Takotsubo Syndrome: An International Collaborative Systematic Review Including 1,109 Patients.
Am J Med. 2015 Jun;128(6):654.e11-9. Epub 2015 Feb 4.
- Pelliccia F, Rollini F, Marazzi G, Greco C, Gaudio C, Angiolillo DJ.
Drug-drug interactions between clopidogrel and novel cardiovascular drugs.
Eur J Pharmacol. 2015 Sep 2;765:332-336. [Epub ahead of print]
- Pelliccia F, Rosano G.
The reply.
Am J Med. 2015 Apr;128(4):e11. doi: 10.1016/j.amjmed.2014.11.014.
- Rosano GM, Anker SD, Marrocco W, Coats AJ.
Adaptive licensing - A way forward in the approval process of new therapeutic agents in Europe.
Int J Cardiol. 2015 Apr 1;184:568-9. Epub 2015 Mar 5.
- Rosano GM, Lewis B, Agewall S, Wassmann S, Vitale C, Schmidt H, Drexel H, Patak A, Torp-Pedersen C, Kjeldsen KP, Tamargo J.
Gender differences in the effect of cardiovascular drugs: a position document of the Working Group on Pharmacology and Drug Therapy of the ESC.

- Eur Heart J. 2015 Oct 21;36(40):2677-2280.
- Rosano GM, Vitale C, Fini M.
Testosterone in men with hypogonadism and high cardiovascular risk.
Pros. Endocrine. 2015 Mar 7. [Epub ahead of print]
- Roscetto E, Vitiello L, Muoio R, Soriano AA, Iula VD, Vollaro A, De Gregorio E, Catania MR.
In vitro interaction of *Stenotrophomonas maltophilia* with human monocyte-derived dendritic cells.
Front Microbiol. 2015 Jul 16;6:723.
- Santi D, Giannetta E, Isidori AM, Vitale C, Aversa A, Simoni M.
Therapy of endocrine disease. Effects of chronic use of phosphodiesterase inhibitors on endothelial markers in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis.
Eur J Endocrinol. 2015 Mar;172(3):R103-114. Epub 2014 Oct 2.
- Savarese G, De Ferrari GM, Rosano GM, Perrone-Filardi P.
Safety and efficacy of ezetimibe: A meta-analysis.
Int J Cardiol. 2015 Aug 10;201:247-252. [Epub ahead of print]
- Schüssler-Lenz M, Beuneu C, Menezes-Ferreira M, Jekerle V, Bartunek J, Chamuleau S, Celis P, Doevendans P, O'Donovan M, Hill J, Hystad M, Jovinge S, Kyselovič J, Lipnik-Stangelj M, Maciulaitis R, Prasad K, Samuel A, Tenhunen O, Tonn T, Rosano G, Zeiher A, Salmikangas P.
Cell-based therapies for cardiac repair: a meeting report on scientific observations and European regulatory viewpoints.
Eur J Heart Fail. 2015 Oct 16. [Epub ahead of print]
- Scuteri A, Di Daniele N.
Are Hemodynamic Factors Involved in Cognitive Impairment?
Hypertension. 2015 Nov 16. [Epub ahead of print]
- Seferovic PM, Pelliccia F, Zivkovic I, Ristic A, Lalic N, Seferovic J, Simeunovic D, Milinkovic I, Rosano G.
Mineralocorticoid receptor antagonists, a class beyond spironolactone - Focus on the special pharmacologic properties of eplerenone.
Int J Cardiol. 2015 Dec 1;200:3-7.
- Urbanet R, Nguyen Dinh Cat A, Feraco A, Venteclef N, El Mogrhabi S, Sierra-Ramos C, Alvarez de la Rosa D, Adler GK, Quilliot D, Rossignol P, Fallo F, Touyz RM, Jaisser F.
Adipocyte Mineralocorticoid Receptor Activation Leads to Metabolic Syndrome and Induction of Prostaglandin D2 Synthase.
Hypertension. 2015 Jul;66(1):149-1457.
- Volterrani M, Iellamo F.
Eplerenone in chronic heart failure with depressed systolic function.
Int J Cardiol. 2015 Dec 1;200:12-14.
- Volterrani M, Iellamo F, Marazzi G, Pusineri E, Guarini P, Bonassi S, Caiazza F, Tramarin R, Chimini C, Proto C; SICOA (Società Italiana Cardiologia Ospedalità Accreditata) Investigators.
Incidence and clinical presentation of myocardial ischemia in patients with chronic CAD in Italy: the ISPICA survey study.
J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2015 Dec 23. [Epub ahead of print]

Volterrani M, Iellamo F, Sposato B, Romeo F.
Uric acid lowering therapy in cardiovascular diseases.
Int J Cardiol. 2016 Jun 15;213:20-22.

Laboratorio di Patologie Cronico-degenerative:

Aleandri M, Conte MP, Simonetti G, Panella S, Celestino I, Checconi P, Marazzato M, Longhi C, Goldoni P, Nicoletti M, Barnich N, Palamara AT*, Schippa S, Nencioni L.
Influenza A Virus Infection of Intestinal Epithelial Cells Enhances the Adhesion Ability of Crohn's Disease Associated Escherichia coli Strains.
PloS One. 2015 Feb 23;10(2):e0117005. eCollection 2015.

Ambrosi C, Pompili M, Scribano D, Limongi D, Petrucca A, Cannavacciuolo S, Schippa S, Zaglia C, Grossi M, Nicoletti M.
The Shigella flexneri OspB effector: an early immunomodulator.
Int J Med Microbiol. 2015 Jan;305(1):75-84. Epub 2014 Nov 11.

Botta G, Bizzarri BM, Garozzo A, Timpanaro R, Bisignano B, Amatore D, Palamara AT, Nencioni L, Saladino R.
Carbon nanotubes supported tyrosinase in the synthesis of lipophilic hydroxytyrosol and dihydrocaffeoyl catechols with antiviral activity against DNA and RNA viruses.
Bioorg Med Chem. 2015 Sep 1;23(17):5345-5351.

Brundu S, Nencioni L, Celestino I, Coluccio P, Palamara AT, Magnani M, Fraternali A.
Validation of a Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography Method for the Simultaneous Analysis of Cysteine and Reduced Glutathione in Mouse Organs.
Oxidative Medicine and Cellular Longevity, Article ID 1746985 p. [Epub ahead of print]

Checconi P, Salzano S, Bowler L, Mullen L, Mengozzi M, Hanschmann EM, Lillig CH, Sgarbanti R, Panella S, Nencioni L, Palamara AT, Ghezzi P.
Redox proteomics of the inflammatory secretome identifies a common set of redoxins and other glutathionylated proteins released in inflammation, influenza virus infection and oxidative stress.
PLoS One. 2015 May 18;10(5):e0127086. eCollection 2015.

Civitelli L, Marcocci ME, Celestino I, Piacentini R, Garaci E, Grassi C, De Chiara G, Palamara AT.
Herpes simplex virus type 1 infection in neurons leads to production and nuclear localization of APP intracellular domain (AICD): implications for Alzheimer's disease pathogenesis.
J Neurovirol. 2015 Oct;21(5):480-490.

Manvar D, Pelliccia S, La Regina G, Famigliani V, Coluccia A, Ruggieri A, Anticoli S, Lee JC, Basu A, Cevik O, Nencioni L, Palamara AT, Zamperini C, Botta M, Neyts J, Leyssen P, Kaushik-Basu N, Silvestri R.
New 1-phenyl-5-(1H-pyrrol-1-yl)-1H-pyrazole-3-carboxamides inhibit hepatitis C virus replication via suppression of cyclooxygenase-2.
Eur J Med Chem. 2015 Nov 27;90:497-506.

Piacentini R, Li Puma DD, Ripoli C, Elena Marcocci M, De Chiara G, Garaci E, Palamara AT, Grassi C.
Herpes Simplex Virus type-1 infection induces synaptic dysfunction in cultured cortical neurons via GSK-3 activation and intraneuronal amyloid- β protein accumulation.
Sci Rep. 2015 Oct 21;5:15444. PubMed PMID: 26487282.

Pietropaolo V, Bellizzi A, Anzivino E, Iannetta M, Zingaropoli MA, Rodio DM, Morreale M, Pontecorvo S, Francia A, Vullo V, Palamara AT, Ciardi MR.
Human polyomavirus JC replication and non-coding control region analysis in multiple sclerosis patients under natalizumab treatment.
J Neurovirol. 2015 Dec;21(6):653-665.

Shytaj IL, Nickel G, Arts E, Farrell N, Biffoni M, Pal R, Chung HK, LaBranche C, Montefiori D, Vargas-Inchaustegui D, Robert-Guroff M, Lewis MG, Sacha JB, Palamara AT, Savarino A.
A Two-year Follow-up of Macaques Developing Intermittent Control of the HIV Homolog SIV-mac251 in the Chronic Phase of the Infection.
J Virol. 2015 Aug;89(15):7521-7535.

Laboratorio di Patologia Molecolare e Cellulare:

Chimenti C, Scopelliti F, Vulpis E, Tafani M, Villanova L, Verardo R, De Paulis R, Russo MA, Frustaci A.
Increased oxidative stress contributes to cardiomyocyte dysfunction and death in patients with fabry disease cardiomyopathy.
Hum Pathol. 2015;26(11):1760-1768

Foglio E, Puddighinu G, Fasanaro P, D'Arcangelo D, Perrone GA, Mocini D, Campanella C, Coppola L, Logozzi M, Azzarito T, Marzoli F, Fais S, Pieroni L, Marzano V, Germani A, Capogrossi MC, Russo MA, Limana F.
Exosomal clusterin, identified in the pericardial fluid, improves myocardial performance following MI through epicardial activation, enhanced arteriogenesis and reduced apoptosis.
Int J Cardiol. 2015 Oct 15;197:333-347.

Frustaci A, Morgante E, Russo MA, Scopelliti F, Grande C, Verardo R, Franciosa P, Chimenti C.
Pathology and Function of Conduction Tissue in Fabry Disease Cardiomyopathy.
Circ Arrhythm Electrophysiol. 2015 Aug;8(4):799-805.

Frustaci A, Russo MA, Morgante E, Scopelliti F, Aquilano K, Ciriolo MR, Grande C, Verardo R, Chimenti C.
Oxidative myocardial damage in human cocaine-related cardiomyopathy.
Eur J Heart Fail. 2015 Mar;17(3):283-290.

Germani A, Foglio E, Capogrossi MC, Russo MA, Limana F.
Generation of cardiac progenitor cells through epicardial to mesenchymal transition.
J Mol Med (Berl). 2015 Jul;93(7):735-48.

Petrangeli E, Coroniti G, Brini AT, de Girolamo L, Stanco D, Niada S, Silecchia G, Morgante E, Lubrano C, Russo MA, Salvatori L.
Hypoxia Promotes the Inflammatory Response and Stemness Features in Visceral Fat Stem Cells from Obese Subjects.
J Cell Physiol. 2015 Jul 30. [Epub ahead of print]

Polletta L, Vernucci E, Carnevale I, Arcangeli T, Rotili D, Palmerio S, Steegborn C, Nowak T, Schutkowski M, Pellegrini L, Sansone L, Villanova L, Runci A, Pucci B, Morgante E, Fini M, Mai A, Russo MA, Tafani M.
SIRT5 regulation of ammonia-induced autophagy and mitophagy.
Autophagy. 2015 Feb 20:0. [Epub ahead of print]

Rashid MM, Runci A, Russo MA, Tafani M.
Muscle Lim Protein (MLP)/CSRP3 at the crossroad between mechanotransduction and autophagy.
Cell Death Dis. 2015 Oct 22;6:e1940.

Ravenna L, Salvatori L, Russo MA.
HIF3 α : the little we know.
FEBS J. 2015 Oct 28. [Epub ahead of print]

Russo MA, Morgante E, Russo A, van Rossum GD, Tafani M.
Ouabain-Induced Cytoplasmic Vesicles and Their Role in Cell Volume Maintenance.
Biomed Res Int. 2015;2015:487256. Epub 2015 Mar 19.

Tafani M, Sansone L, Limana F, Arcangeli T, De Santis E, Polese M, Fini M, Russo MA.
The interplay of reactive oxygen species, hypoxia, inflammation, and sirtuins in cancer initiation and progression.
Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2015:Article ID 421023.

Area di ricerca Biobanca – Biotecnologie avanzate e Biomarker Discovery:

Basello K, Pacifici F, Capuani B, Pastore D, Lombardo M, Ferrelli F, Coppola A, Donadel G, Arriga R, Sconocchia G, Bellia A, Rogliani P, Federici M, Sbraccia P, Lauro D, Della-Morte D.
Serum- and Glucocorticoid-Inducible Kinase (SGK)1 delay the onset of Endothelial Senescence by Directly Interacting with hTERT.
Rejuvenation Res. 2015 Jul 31. [Epub ahead of print]

Cacciatore F, Della-Morte D*, Basile C, Curcio F, Liguori I, Roselli M, Gargiulo G, Galizia G, Bonaduce D, Abete P.
Butyryl cholinesterase is related to muscle mass and strength. A new biomarker to identify elderly subjects at risk of sarcopenia.
Biomark Med. 2015 Jul;9(7):669-678.

Capuani B, Della-Morte D, Donadel G, Caratelli S, Bova L, Pastore D, De Canio M, D'Aguanno S, Coppola A, Pacifici F, Arriga R, Bellia A, Ferrelli F, Tesauro M, Federici M, Neri A, Bernardini S, Sbraccia P, Di Daniele N, Sconocchia G, Orlandi A, Urbani A, Lauro D.
Liver protein profiles in insulin receptor-knockout mice reveal novel molecules involved in the diabetes pathophysiology.
Am J Physiol Endocrinol Metab. 2015 May 1;308(9):E744-55.

De Luca C, Guadagni F, Sinibaldi-Vallebona P, Sentinelli S, Gallucci M, Hoffmann A, Schumann GG, Spadafora C, Sciamanna I.
Enhanced expression of LINE-1-encoded ORF2 protein in early stages of colon and prostate transformation.
Oncotarget. 2015 Dec 26. [Epub ahead of print]

De Marchis ML, Barbanti P, Palmirotta R, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Piroso S, Ialongo C, Della-Morte D, D'Andrea G, Ferroni P, Guadagni F.
Look beyond Catechol-O-Methyltransferase genotype for catecholamines derangement in migraine: the BioBIM rs4818 and rs4680 polymorphisms study.
J Headache Pain. 2015 Dec;16(1):520. Epub 2015 Apr 30.

Della-Morte D, Riondino S, Ferroni P, Palmirotta R, Pastore D, Lauro D, Guadagni F, Roselli M.

Impact of VEGF gene polymorphisms in elderly cancer patients: clinical outcome and toxicity.
Pharmacogenomics. 2015 Jan;16(1):61-78.

D'Ambrosio D, Tomaselli V, Gargiulo G, Roselli M, Della-Morte D, Abete P.
Evans syndrome presented with marginal zone lymphoma and duodenal neuroendocrine tumor in an elderly woman.
International Journal of Gerontology 2014 [Epub ahead of print]

di Grezia F, di Panzillo EA, Russo S, Gargiulo G, Della-Morte D, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P.
Prognostic role of lactate on mortality in younger and older patients with cardio-respiratory failure admitted to an acute intensive care unit.
Aging Clin Exp Res. 2015 Aug 8. [Epub ahead of print]

Dong C, Della-Morte D, Beecham A, Wang L, Cabral D, Blanton SH, Sacco RL, Rundek T.
Genetic variants in LEKR1 and GALNT10 modulate sex-difference in carotid intima-media thickness: A genome-wide interaction study.
Atherosclerosis. 2015 Apr 16;240(2):462-467. [Epub ahead of print]

Dong C, Della-Morte D, Cabral D, Wang L, Blanton SH, Seemant C, Sacco RL, Rundek T.
Sirtuin/uncoupling protein gene variants and carotid plaque area and morphology.
Int J Stroke. 2015 Dec;10(8):1247-1252.

Ferroni P, Palmirotta R, Riondino S, De Marchis ML, Nardecchia A, Formica V, Guadagni F, Roselli M.
VEGF gene promoter polymorphisms and risk of VTE in chemotherapy-treated cancer patients.
Thromb Haemost. 2015 Sep 3;115(1). [Epub ahead of print]

Ferroni P, Riondino S, Buonomo O, Palmirotta R, Guadagni F, Roselli M.
Type 2 diabetes and breast cancer: The interplay between impaired glucose metabolism and oxidant stress.
Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2015 06/11; 2015/06/22;2015:e183928.

Ferroni P, Riondino S S, Formica V, Cereda V, Toso L, La Farina F, Valente MG, Vergati M, Guadagni F, Roselli M.
Venous thromboembolism risk prediction in ambulatory cancer patients. Clinical significance of neutrophil/lymphocyte ratio and platelet/lymphocyte ratio.
Int J Cancer. 2015 Mar 1;136(5):1234-1240.

Lauro D, Pastore D, Capuani B, Pacifici F, Palmirotta R, Abete P, Roselli M, Bellia A, Federici M, Di Daniele N, Sbraccia P, Guadagni F, Lauro R, Della-Morte D.
Role of Serum and Glucocorticoid-Inducible Kinase (SGK)-1 in Senescence: a Novel Molecular Target against Age-Related Diseases.
Curr Med Chem. 2015 Aug 12. [Epub ahead of print]

Palmirotta R, Barbanti P, Ialongo C, De Marchis ML, Alessandrini J, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Valente MG, Ferroni P, Della-Morte D, Guadagni F.
Progesterone receptor gene (PROGINS) polymorphism correlates with late onset of migraine.
DNA Cell Biol. 2015 Mar;34(3):208-212.

Pastore D, Della-Morte D, Coppola A, Capuani B, Lombardo MF, Pacifici F, Ferrelli F, Arriga R, Mammi C, Federici M, Bellia A, Di Daniele N, Tesauro M, Donadel G, Noto D, Sbraccia P, Sco-

nocchia G, Lauro D.

SGK-1 protects kidney cells against apoptosis induced by ceramide and TNF- α .
Cell Death Dis. 2015 Sep 17;6:e1890. doi: 10.1038/cddis.2015.232.

Raparelli V, Basili S, Ferroni P.

Platelet Function: the Janus face of haemostasis in cirrhosis.
Thromb Res. 2015 Jun;135(6):1224-1225.

Riondino S, Ferroni P, Spila A, Alessandrini J, D'Alessandro R, Formica V, Della-Morte D, Palmirotta R, Nanni U, Roselli M, Guadagni F.

Ensuring Sample Quality for Biomarker Discovery Studies - Use of ICT Tools to Trace Biosample Life-cycle.

Cancer Genomics Proteomics. 2015 11-12;12(6):291-299.

Riondino S, Nanni U, Betsou F, Rossetti L, Fiorentino R, Palmirotta R, Ferroni P, Roselli M, Guadagni F.

Sample Preanalytical code for labeling of biospecimens: An analysis of specimen labeling protocols.

Journal of Biorepository Science for Applied Medicine. 2015; Volume 2015:3(1)15-21.

Rundek T, Gardener H, Della-Morte D, Dong C, Cabral D, Tiozzo E, Roberts E, Crisby M, Cheung K, Demmer R, Elkind MS, Sacco RL, Desvarieux M.

The relationship between carotid intima-media thickness and carotid plaque in the Northern Manhattan Study.

Atherosclerosis. 2015 Jun 3;241(2):364-370.

Sardella G, Calcagno S, Mancone M, Lucisano L, Pennacchi M, Stio RE, Placentino F, Di Roma A, Cavallo E, Palmirotta R, Guadagni F, Fedele F.

Comparison of therapy with Ticagrelor, Prasugrel or high Clopidogrel dose in PCI patients with high on treatment platelet reactivity and genotype variation. TRIPLETE RESET trial.

Int J Cardiol. 2015 May 15;194:60-62.



LINEA 3

SVILUPPO DI SISTEMI INNOVATIVI PER IL MONITORAGGIO ED IL CONTROLLO DELLA RISPOSTA AL TRATTAMENTO

Area di Ricerca Telemedicina e E-Health:

Brunetti ND, Scalvini S, Acquistapace F, Parati G, Volterrani M, Fedele F, Molinari G.
Telemedicine for cardiovascular disease continuum: A position paper from the Italian Society of Cardiology Working Group on Telecardiology and Informatics.
Int J Cardiol. 2015 Feb 25;184C:452-458. [Epub ahead of print]

Area di Ricerca Epidemiologia Clinica e Molecolare:

Ambrosini A, Iezzi E, Perrotta A, Kisialiou A, Nardella A, Berardelli A, Pierelli F, Schoenen J.
Correlation between habituation of visual-evoked potentials and magnetophosphenes thresholds in migraine: A case-control study.
Cephalalgia. 2015 Jun 8. [Epub ahead of print]

Berthiller J, Straif K, Agudo A, Ahrens W, Bezerra Dos Santos A, Boccia S*, Cadoni G, Canova C, Castellsague X, Chen C, Conway D, Curado MP, Dal Maso L, Daudt AW, Fabianova E, Fernandez L, Franceschi S, Fukuyama EE, Hayes RB, Healy C, Herrero R, Holcatova I, Kelsey K, Kjaerheim K, Koifman S, Lagiou P, La Vecchia C, Lazarus P, Levi F, Lissowska J, Macfarlane T, Mates D, McClean M, Menezes A, Merletti F, Morgenstern H, Muscat J, Olshan AF, Purdue M, Ramroth H, Rudnai P, Schwartz SM, Serraino D, Shangina O, Smith E, Sturgis EM, Szeszenia-Dabrowska N, Thomson P, Vaughan TL, Vilensky M, Wei Q, Winn DM, Wunsch-Filho V, Zhang ZF, Znaor A, Ferro G, Brennan P, Boffetta P, Hashibe M, Lee YA.

Low frequency of cigarette smoking and the risk of head and neck cancer in the INHANCE consortium pooled analysis.
Int J Epidemiol. 2015 Jul 30. [Epub ahead of print]

Boccia S, Miele L, Panic N, Turati F, Arzani D, Cefalo C, Amore R, Bulajic M, Pompili M, Rapaccini G, Gasbarrini A, La Vecchia C, Grieco A.
The Effect of CYP, GST, and SULT Polymorphisms and Their Interaction with Smoking on the Risk of Hepatocellular Carcinoma.
Biomed Res Int. 2015;2015:179867. Epub 2015 Jan 14.

Bolognesi C, Bonassi S, Knasmueller S, Fenech M, Bruzzone M, Lando C, Ceppi M.
Clinical application of micronucleus test in exfoliated buccal cells: A systematic review and meta-analysis.
Mutation Research/Reviews in Mutation Research 2015 [Epub ahead of print]

Bolognesi C, Migliore L, Lista F, Caroli S, Patriarca M, De Angelis R, Capocaccia R, Amadori S, Pulliero A, Balia C, Colognato R, La Gioia V, Bonassi S, Izzotti A.
Biological monitoring of Italian soldiers deployed in Iraq. Results of the SIGNUM project.
Int J Hyg Environ Health. 2015 Aug 4. [Epub ahead of print]

Braido F, Melioli G, Cazzola M, Fabbri L, Blasi F, Moretta L, Canonica GW; AIACE Study Group (Cardaci V, Pedicelli I, Mattei F, Corsi M, Dall'Armi V, Appodia M, Lapenna LM, Bisceglia M, collaborators).
Sub-lingual administration of a polyvalent mechanical bacterial lysate (PMBL) in patients with moderate, severe, or very severe chronic obstructive pulmonary disease (COPD) according to the GOLD spirometric classification: A multicentre, double-blind, randomised, controlled, phase IV study (AIACE study: Advanced Immunological Approach in COPD Exacerbation).
Pulm Pharmacol Ther. 2015 Aug;33:75-80.

Ciaparrone M, Caspiani O, Bicciolo G, Signorelli D, Simonelli I, de Campora L, Mazzarella G, Me-

cozzi A, Pianelli C, Camaioni A, Catalano P, Pasqualetti P, Fabiano A, Radici M, Marmioli L, Corsi DC.
Predictive Role of ERCC1 Expression in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Patients Treated with Surgery and Adjuvant Cisplatin-Based Chemoradiation.
Oncology. 2015;89(4):227-234.

Conti V, Paone G, Mollica C, Sebastiani A, Mannoce A, La Torre G, Cardaci V, Cammarella I, Puglisi G, Brunetti G, Alma MG, Terzano C.
Predictors of outcome for patients with severe respiratory failure requiring non invasive mechanical ventilation.
Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2015 Oct;19(20):3855-3860.

Kim CH, Lee YA, Hung RJ, Boffetta P, Xie D, Wampfler JA, Cote ML, Chang SC, Ugolini D, Neri M, Le Marchand L, Schwartz AG, Morgenstern H, Christiani DC, Yang P, Zhang ZF.
Secondhand tobacco smoke exposure and lung adenocarcinoma in situ/minimally invasive adenocarcinoma (AIS/MIA).
Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2015 Dec;24(12):1902-1906.

Landi D, Maggio P, Lupoi D, Palazzo P, Altamura C, Falato E, Altavilla R, Vollaro S, Coniglio AD, Tibuzzi F, Passarelli F, Silvestrini M, Pasqualetti P, Vernieri F.
Cortical Ischemic Lesion Burden Measured by DIR Is Related to Carotid Artery Disease Severity.
Cerebrovasc Dis. 2015 Dec 24;39(1):23-30.

Leoncini E, Vukovic V, Cadoni G, Pastorino R, Arzani D, Bosetti C, Canova C, Garavello W, La Vecchia C, Maule M, Petrelli L, Pira E, Polesel J, Richiardi L, Serraino D, Simonato L, Ricciardi W, Boccia S.
Clinical features and prognostic factors in patients with head and neck cancer: Results from a multicentric study.
Cancer Epidemiol. 2015 Jun;39(3):367-374.

Lococo F, Cafarotti S, Cesario A, Dall'Armi V, Cusumano G, Lauriola L, Frederic M, Evoli A, Margaritora S, Granone P.
Prognostic grading after complete resection for thymic malignancies.
Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2015 Aug;19(15):2882-2891.

Lococo F, Cesario A, Del Bufalo A, Ciarrocchi A, Prinzi G, Mina M, Bonassi S, Russo P.
Novel Therapeutic Strategy in the Management of COPD: A Systems Medicine Approach.
Curr Med Chem. 2015;22(32):3655-3675.

Mariani S, Ventriglia M, Simonelli I, Bucossi S, Siotto M, Donno S, Vernieri F, Squitti R.
Association between sex, systemic iron variation and probability of Parkinson's Disease.
Int J Neurosci. 2015 May 22:1-20. [Epub ahead of print]

Matera MG, Cardaci V, Cazzola M, Rogliani P.
Safety of inhaled corticosteroids for treating chronic obstructive pulmonary disease.
Expert Opin Drug Saf. 2015 Jan 5:1-9. [Epub ahead of print]

Mendes A, Papoila AL, Carreiro-Martins P, Bonassi S, Caires I, Palmeiro T, Aguiar L, Pereira C, Neves P, Mendes D, Botelho MA, Neuparth N, Teixeira JP.
The impact of indoor air quality and contaminants on respiratory health of older people living in long-term care residences in Porto.
Age Ageing. 2015 Nov 11. pii: afv157. [Epub ahead of print]

Milic M, Frustaci A, Del Bufalo A, Sánchez-Alarcón J, Valencia-Quintana R, Russo P, Bonassi S. DNA damage in non-communicable diseases: A clinical and epidemiological perspective. *Mutat Res.* 2015 Jun;776:118-127.

Neri M, Frustaci A, Milic M, Valdiglesias V, Fini M, Bonassi S, Barbanti P. A meta-analysis of biomarkers related to oxidative stress and nitric oxide pathway in migraine. *Cephalalgia.* 2015 Sep;35(10):931-937.

Neri M, Milazzo D, Ugolini D, Milic M, Campolongo A, Pasqualetti P, Bonassi S. Worldwide interest in the comet assay: a bibliometric study. *Mutagenesis.* 2015 Jan;30(1):155-63. doi: 10.1093/mutage/geu061.

Onder G, Marengoni A, Russo P, Degli Esposti L, Fini M, Monaco A, Bonassi S, Palmer K, Marrocco W, Pozzi G, Sangiorgi D, Buda S, Marchionni N, Mammarella F, Bernabei R, Pani L, Pecorelli S; Geriatrics Working Group of the Italian Medicines Agency (Agenzia Italiana del Farmaco, AIFA); Medicines Utilization Monitoring Center Health Database Network. Advanced Age and Medication Prescription: More Years, Less Medications? A Nationwide Report From the Italian Medicines Agency. *J Am Med Dir Assoc.* 2015 Sep 30. [Epub ahead of print]

Pozzi G, Frustaci A, Tedeschi D, Solaroli S, Grandinetti P, Di Nicola M, Janiri L. Coping strategies in a sample of anxiety patients: factorial analysis and associations with psychopathology. *Brain Behav.* 2015 Aug;5(8):e00351. Epub 2015 Jun 24.

Russo P, Del Bufalo A, Fini M. Deep sea as a source of novel-anticancer drugs: Update on discovery and preclinical/clinical evaluation in a systems medicine perspective. *EXCLI Journal.* 2015;14:228-236.

Russo P, Del Bufalo A. Conopeptides in addiction disorders treatment. *IJARCS* 2:37-42, 2015.

Russo P, Kisialiou A, Lamonaca P, Moroni R, Prinzi G, Fini M. New Drugs from Marine Organisms in Alzheimer's Disease. *Mar. Drugs* 2015 Dec 25 [Epub ahead of print]

Russo P, Kisialiou A, Moroni R, Prinzi G, Fini M. Effect of Genetic Polymorphisms (SNPs) in CHRNA7 Gene on Response to Acetylcholinesterase Inhibitors (AChEI) in Patients with Alzheimer's Disease. *Curr Drug Targets.* 2015 Oct 1. [Epub ahead of print]

Sánchez-Flores M, Pásaro E, Bonassi S, Laffon B, Valdiglesias V. γ H2AX assay as DNA damage biomarker for human population studies: defining experimental conditions. *Toxicol Sci.* 2015 Jan 22. pii: kfv 011. [Epub ahead of print]

Smolková B, Bonassi S, Buociková V, Dušinská M, Horská A, Kuba D, Džupinková Z, Rašlová K, Gašparovič J, Slíž I, Ceppi M, Vohnout B, Wsólóvá L, Volkovová K. Genetic determinants of quantitative traits associated with cardiovascular disease risk.

Mutat Res. 2015 8;778(0):18-25.

Tunesi S, Ferrante D, Mirabelli D, Andorno S, Betti M, Fiorito G, Guarrera S, Casalone E, Neri M, Ugolini D, Bonassi S, Matullo G, Dianzani I, Magnani C. Gene-asbestos interaction in malignant pleural mesothelioma susceptibility. *Carcinogenesis.* 2015 Oct;36(10):1129-35.

Valdiglesias V, Bonassi S, Dell'Armi V, Settanni S, Celi M, Mastropaolo S, Antocicco M, Fini M, Onder G. Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and frailty status in elderly. A lack of association with clinical features. *Mutat Res.* 2015 Jul 29;780:47-54.

LINEA 4

LE DISABILITÀ DELLO SVILUPPO E
NEURORIABILITAZIONE PEDIATRICA

Cimolin V, Capodaglio P, Cau N, Galli M, Pau M, Patrizi A, Tringali G, Sartorio A.
Foot-type analysis and plantar pressure differences between obese and nonobese adolescents during upright standing.
Int J Rehabil Res. 2015 Dec 1. [Epub ahead of print]

Collange Grecco LA, de Almeida Carvalho Duarte N, Mendonça ME, Galli M, Fregni F, Oliveira CS.
Effects of anodal transcranial direct current stimulation combined with virtual reality for improving gait in children with spastic diparetic cerebral palsy: A pilot, randomized, controlled, double-blind, clinical trial.
Clin Rehabil. 2015 Jan 20. [Epub ahead of print]

Galli M, Cimolin V, Rigoldi C, Kleiner A, Condoluci C, Albertini G.
Use of the gait profile score for the quantification of gait pattern in down syndrome.
Journal of Developmental and Physical Disabilities. 2015 [Epub ahead of print]

Galli M, Cimolin V, Pau M, Leban B, Brunner R, Albertini G.
Foot pressure distribution in children with cerebral palsy while standing.
Res Dev Disabil. 2015 Jun 5;41-42C:52-57. [Epub ahead of print]

Galli M, Coghe G, Sanna P, Cocco E, Marrosu MG, Pau M.
Relationship between gait initiation and disability in individuals affected by multiple sclerosis.
Multiple Sclerosis and Related Disorders. 2015 11;4(6):594-597.

Kleiner AFR, Galli M, Albertini G, Batistela RA, Sánchez-Arias MR, Mancini MC, Gobbi LTB.
Context-dependency of mobility in children and adolescents with cerebral palsy: Optimal and natural environments.
Journal of Policy and Practice in Intellectual Disabilities. 2015;12(4):288-293.

Kleiner AFR, Galli M, Araujo do Carmo A, Barros RML.
Effects of flooring on required coefficient of friction: Elderly adult vs. middle-aged adult barefoot gait.
Appl Ergon. 2015 9;50(0):147-152.

Kleiner A, Galli M, Gaglione M, Hildebrand D, Sale P, Albertini G, Stocchi F, De Pandis MF.
The Parkinsonian Gait Spatiotemporal Parameters Quantified by a Single Inertial Sensor before and after Automated Mechanical Peripheral Stimulation Treatment.
Parkinsons Dis. 2015; 2015: 390512. Published online 2015 Oct 1

Molteni E, Rigoldi C, Morante M, Rozbaczylo C, Haro M, Albertini G, Galli M, Bianchi AM.
Quantification of long-term effects of botulinum injection in a case of cerebral palsy affecting the upper limb movement.
Dev Neurorehabil. 2015 Jun;18(3):145-148.

Rigoldi C, Galli M, Celletti C, Blow D, Camerota F, Albertini G.
Does neuromuscular taping influence hand kinesiology? A pilot study on Down's Syndrome.
Clin Ter. 2015 Jul-Aug;166(4):e257-63.

Romano A, Cornia R, Moraschi M, Bozzao A, Chiacchiararelli L, Coppola V, Iani C, Stella G, Albertini G, Pierallini A.
Age-Related Cortical Thickness Reduction in Non-Demented Down's Syndrome Subjects.
J Neuroimaging. 2015 May 21. [Epub ahead of print]

Romano A, Moraschi M, Cornia R, Bozzao A, Gagliardo O, Chiacchiararelli L, Iani C, Stella G, Albertini G, Pierallini A.

Age effects on cortical thickness in young Down's syndrome subjects: a cross-sectional gender study.

Neuroradiology. 2015 Apr;57(4):401-441.

Rozin Kleiner AF, Galli M, Araujo do Carmo A, Barros RML.

Effects of flooring on required coefficient of friction: Elderly adult vs. middle-aged adult barefoot gait.

Appl Ergon. 2015 9;50(0):147-152.

Stocchi F, Sale P, Kleiner AF, Casali M, Cimolin V, de Pandis F, Albertini G, Galli M.

Long-term effects of automated mechanical peripheral stimulation on gait patterns of patients with Parkinson's disease.

Int J Rehabil Res. 2015 Sep;38(3):238-245.

Vismara L, Cimolin V, Galli M, Grugni G, Ancillao A, Capodaglio P.

Osteopathic manipulative treatment improves gait pattern and posture in adult patients with Prader-Willi syndrome.

International Journal of Osteopathic Medicine. 2015 [Epub ahead of print]

Walus M, Kida E, Rabe A, Albertini G, Golabek AA.

Widespread cerebellar transcriptome changes in Ts65Dn Down syndrome mouse model after lifelong running.

Behav Brain Res. 2015 Aug 21;296:35-46.



LINEA 5

MODELLI ORGANIZZATIVI E GESTIONALI DELLE DISABILITÀ IN RIABILITAZIONE

Borg JJ, Anker SD, Rosano G, Serracino-Inglott A, Strasser F.
Multimodal management as requirement for the clinical use of anticachexia drugs – a regulatory and a clinical perspective.
Curr Opin Support Palliat Care. 2015 Dec;9(4):333-345.

Efficace F, Fayers P, Pusic A, Cemal Y, Yanagawa J, Jacobs M, la Sala A, Cafaro V, Whale K, Rees J, Blazeby J; European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality-of-Life Group (Patient-Reported Outcome Measurements Over Time in Oncology Registry).
Quality of patient-reported outcome reporting across cancer randomized controlled trials according to the CONSORT patient-reported outcome extension: A pooled analysis of 557 trials.
Cancer. 2015 Sep 15;121(18):3335-3342.

Fadini GP, Avogaro A, Degli Esposti L, Russo P, Saragoni S, Buda S, Rosano G&, Pecorelli S, Pani L; OsMed Health-DB Network.
Risk of hospitalization for heart failure in patients with type 2 diabetes newly treated with DPP-4 inhibitors or other oral glucose-lowering medications: a retrospective registry study on 127,555 patients from the Nationwide OsMed Health-DB Database.
Eur Heart J. 2015 Sep 21;36(36):2454-2462. Epub 2015 Jun 25.

Neri M, Frustaci A, Milic M, Valdiglesias V, Fini M, Bonassi S, Barbanti P.
A meta-analysis of biomarkers related to oxidative stress and nitric oxide pathway in migraine.
Cephalalgia. 2015 Jan 8. [Epub ahead of print]

Onder G, Marengoni A, Russo P, Degli Esposti L, Fini M, Monaco A, Bonassi S, Palmer K, Marrocco W, Pozzi G, Sangiorgi D, Buda S, Marchionni N, Mammarella F, Bernabei R, Pani L, Pecorelli S; Geriatrics Working Group of the Italian Medicines Agency (Agenzia Italiana del Farmaco, AIFA); Medicines Utilization Monitoring Center Health Database Network.
Advanced Age and Medication Prescription: More Years, Less Medications? A Nationwide Report From the Italian Medicines Agency.
J Am Med Dir Assoc. 2015 Sep 30. pii: S1525-8610(15)00535-6. [Epub ahead of print]

Pani L, Pecorelli S, Rosano G§, Anker SD, Peracino A, Fregonese L, Prasad K, Rasi G.
Steps forward in regulatory pathways for acute and chronic heart failure.
Review Eur J Heart Fail. 2015 Jan;17(1):3-8.

Paoloni M, Bernetti A, Belevi A, Brignoli O, Buoso S, Caputi AP, Catani F, Coclite D, Fini M, Mantovani L.
Appropriateness of clinical and organizational criteria for intra-articular injection therapies in osteoarthritis. A delphi method consensus initiative among experts in Italy.
Ann Ist Super Sanità. 2015;51(2):5-12.

Rosano GM, Anker SD, Marrocco W, Coats AJ.
Adaptive licensing - A way forward in the approval process of new therapeutic agents in Europe.
Int J Cardiol. 2015 Apr 1;184:568-9. Epub 2015 Mar 5.

PUBBLICAZIONI SU RIVISTE SENZA IMPACT FACTOR

Damiani C.

Il percorso riabilitativo del paziente amputato: Presa in carico, valutazione funzionale e definizione degli obiettivi.

Giornale Italiano di Medicina del Lavoro ed Ergonomia, volume XXXVII, supplemento al numero.3. Luglio-Settembre 2015.

Nasr N, Leon B, Mountain G, Nijenhuis SM, Prange G, Sale P, Amirabdollahian F.

The experience of living with stroke and using technology: opportunities to engage and co-design with end users.

Disabil Rehabil Assist Technol. 2015 Apr 16:1-8. [Epub ahead of print]

Sarzi-Puttini P, Atzeni F, Damiani C, Casale R, Barbagallo M, Cazzola M.

THU0349 A double-blind, randomised, parallel group, active controlled, multicentre study to assess the therapeutic non-inferiority of skp-021, A 0.3% ketoprofen patch, versus diclofenac sodium patch in patients with acute inflammatory musculoskeletal injuries.

Annals of the Rheumatic Diseases. 2014 June 01;73(Suppl2):303-. doi:10.1136/annrheum-dis-2014-eular.3677

Colombo D, Abbruzzese G, Antonini A, Barone P, Bellia G, Franconi F, Simoni L, Attar M, Zagni E, Haggiag S, Stocchi F.

The "Gender factor" in wearing-off among patients with Parkinson's disease: A post hoc analysis of DEEP study.

The Scientific World Journal. 2015

Galli M, Kleinera A, Gaglione M, Sale P, Albertini G, Stocchi F, De Pandis MF.

Timed Up and Go test and wearable inertial sensor: a new combining tool to assess change in subject with Parkinson's disease after automated mechanical peripheral stimulation treatment.

International Journal of Engineering and Innovative Technology (IJEIT), 4(11): 155-163; 2015

Galli M, Stocchi F, Gaglione M, Sorpresi F, Vallone D, Di Cioccio L, De Pandis M.

Quantitative evaluation of gait in parkinson's disease and progressive supranuclear palsy: A comparative 3d-gait analysis study.

Geriatric Medicine Journal. 2015 2015;9(1):29-36

Stocchi F, Vacca L, Radicati F.

How to optimize the treatment of early stage Parkinson's disease.

Translational Neurodegeneration. 2015;4(1):4.

Barbanti P, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, Piroso S.

Chronic migraine: Treatability, refractoriness, pseudo-refractoriness.

The Journal of Headache and Pain. 2015;16(Suppl 1):A39. doi:10.1186/1129-2377-16-S1-A39

Barbanti P, Palmirota R, De Marchis M, Ialongo C, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Piroso S, Fratangeli F, Valente M, Guadagni F.

O039. case-control genetic association studies in migraine: A 7-year experience at the interinstitutional multidisciplinary biobank (BioBIM) of IRCCS San Raffaele Pisana.

The Journal of Headache and Pain. 2015;16(Suppl 1):A120. doi:10.1186/1129-2377-16-S1-A120

Fofi L, Orlandi V, Vanacore N, Mizzoni M, Rosa A, Aurilia C, Egeo G, Casella P, Barbanti P. O036. cocaine and headache: A 2-year follow-up study in chronic cocaine users and literature review. The Journal of Headache and Pain. 2015;16(Suppl 1):A167. doi:10.1186/1129-2377-16-S1-A167.

Vanacore N, Cevoli S, Torelli P, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, Grazi L, Bussone G, Manzoni GC, Corbelli P, Barbanti P.

A proposal for a national registry on chronic migraines.

The Journal of Headache and Pain. 2015;16(Suppl 1):A40. doi:10.1186/1129-2377-16-S1-A40

Aquilano K, Lettieri Barbato D, Ciriolo MR.

The multifaceted role of nitric oxide synthases in mitochondrial biogenesis and cell differentiation.

Communicative & Integrative Biology. 2015 03/04; 2015/05;8(2):e1017158.

Squitti R, Tecchio F, Ventriglia M.

The role of copper in human diet and risk of dementia.

Current Nutrition Reports. 2015 [Epub ahead of print]

Tecchio F, Cancelli A, Cottone C, Ferrucci R, Vergari M, Zito G, Pasqualetti P, Filippi MM, Ghazaryan A, Lupoi D, Smits FM, Giordani A, Migliore S, Porcaro C, Salustri C, Rossini PM, Priori A.

Brain Plasticity Effects of Neuromodulation Against Multiple Sclerosis Fatigue.

Front Neurol. 2015 Jul 3;6:141. eCollection 2015.

Babiloni C, Del Percio C, Marzano N, Infarinato F, Aschieri P, Limatola C.

8. neurophysiologic mechanism of neural efficiency in humans: Can it explain performances of athletes and patients with neurodegenerative diseases?

Clinical Neurophysiology.2015 3;126(3):e32.doi:10.1016/j.clinph.2014 .10.167

Malara NM, Trunzo V, Musolino G, Aprigliano S, Rotta G, Macrina L, Limongi T, Gratteri S, Di Fabrizio E, Renzulli A, Fini M, Mollace V.

Soluble CD54 induces human endothelial cells ex vivo expansion useful for cardiovascular regeneration and tissue engineering application.

IJC Heart & Vasculature 2015 [Epub ahead of print]

Nisticò SP, Bottoni U, Gliozzi M, Ehrlich J, Fini M.

Bergamot polyphenolic fraction counteracts photoageing in human keratinocytes.

PharmaNutrition. 2015 [Epub ahead of print]

Pelliccia F, Rosano GMC.

Back to the future: The crucial role of clinical registries in the era of randomized controlled trials for identifying the optimal medical therapy of heart failure.

European Heart Journal - Cardiovascular Pharmacotherapy [Internet]. 2015 The Oxford University Press;1(1):37-38,

Rosano GMC, Ceconi C.

A way forward to the elimination of conflict of interest for experts involved in regulatory medicine and guidelines.

European Heart Journal - Cardiovascular Pharmacotherapy [Internet]. 2015;1(2):80-81.

Rosano GMC, Vitale C, Spoletini I.

Metabolic approach to heart failure: The role of metabolic modulators.

The Egyptian Heart Journal 2015 [Epub ahead of print]

Salerno R, Casale F, Bonacci S, Procopio A, Mollace V.

Simultaneous characterization of saponins from extract of gynostemma pentaphyllum by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (LC/HRMS).

Advances in Food Safety and Health. 2014;9(3):22-40.

Levy BI, Dillinger J, Henry P, Logeart D, Manzo Silberman S, Allee G, Maher V, Vitale C.

Unchanged central aortic blood pressure and increased myocardial perfusion in patients with stable coronary artery disease receiving ivabradine.

Circulation. 2015 November 10;132(Suppl 3):A16763.

Rosano GC, Vitale C, Volterrani M.

Ranolazine In: Avanzas P, Kaski JC, editors. Pharmacological Treatment of Chronic Stable Angina Pectoris, Current Cardiovascular Therapy.

Springer International Publishing; 2015; p. 173-188.

Marazzi G, Campolongo G, Pelliccia F, Massaro R, Cacciotti C, Quattrino S, Volterrani M, Rosano G.

Pp.21.09: Perindopril, amlodipine, indapamide and atorvastatin administered concurrently in hypertensive and hypercholesterolemic pts fosters a better achievement of the therapeutic target.

J Hypertens. 2015;33:e321.

Rashid MM, Runci A, Polletta L, Carnevale I, Morgante E, Foglio E, Arcangeli T, Sansone L, Russo MA, Tafani M.

Muscle LIM protein/CSRP3: A mechanosensor with a role in autophagy.

Cell Death Discovery. 2015 08/03;1:15014. [Epub ahead of print]

Russo MA, Sansone L, Carnevale I, Limana F, Runci A, Polletta L, Perrone GA, De Santis E, Tafani M.

One Special Question to Start with: Can HIF/NFkB be a Target in Inflammation?

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2015;15(3):171-185.

Della-Morte D, Rundek T.

The role of shear stress and arteriogenesis in maintaining vascular homeostasis and preventing cerebral atherosclerosis.

Brain Circulation. 2015;1(1):53-62.

Riondino S, Nanni U, Betsou F, Rossetti L, Fiorentino R, Palmirota R, Ferroni P, Roselli M, Guadagni F.

Sample Preanalytical code for labeling of biospecimens: An analysis of specimen labeling protocols.

Journal of Biorepository Science for Applied Medicine. 2015;3:15-21.

Massimo L, Rossoni N, Mattei F, Bonassi S, Caprino D.

Needs and expectations of adolescent in-patients: The experience of Gaslini Children's hospital.

Int J Adolesc Med Health 2015. [Epub ahead of print]

Nonis M, Simonelli I, Ursillo P, Bagnato B, Lagana L, Maurici M, Pasqualetti P, Villari P.

La mobilità interregionale dei ricoveri ospedalieri in regime ordinario in italia: Analisi delle SDO relative ai DRG chirurgici della MDC 5 dall'archivio ministeriale negli anni 2010-2011-2012.

Mondo sanitario. 2015;22(1/2):19-34.

Camerota F, Galli M, Cimolin V, Celletti C, Ancillao A, Blow D, Albertini G.

The effects of neuromuscular taping on gait walking strategy in a patient with joint

hypermobility syndrome/ Ehlers-Danlos syndrome hypermobility type.

Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease. 2015 Feb;7(1):3-10.

Cau N, Galli M, Cimolin V, Aranci M, Caraceni A, Balzarini A.

Comparative study between circumferential method and laser scanner 3D method for the evaluation of arm volume in healthy subjects.

Journal of Vascular Surgery: Venous and Lymphatic Disorders. 2015 [Epub ahead of print]

Kleiner AFR, Galli M, Fernandes PT, Rigoldi C, Araújo do Carmo A, Barros RML.

Spontaneous improvement in postural control after stroke: A longitudinal prospective study.

International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology. 2015;4(5):2705-2714.

Nonis M, Simonelli I, Ursillo P, Bagnato B, Lagana L, Maurici M, Pasqualetti P, Villari P.

La mobilità interregionale dei ricoveri ospedalieri in regime ordinario in italia: Analisi delle SDO relative ai DRG chirurgici della MDC 5 dall'archivio ministeriale negli anni 2010-2011-2012.

Mondo sanitario. 2015;22(1/2):19-34.

LIBRI E CAPITOLI DI LIBRI

- Rosano GC, Vitale C, Volterrani M. Ranolazine In: Avanzas P, Kaski JC, editors. Pharmacological Treatment of Chronic Stable Angina Pectoris, Current Cardiovascular Therapy. Springer International Publishing; 2015; p. 173-188. doi: 10.1007/978-3-319-17332-0_
- De Santis E, Arcangeli T, Carnevale I, Coppola L, D'Orazi V, Tafani M, Russo MA, Frustaci A. Infertility in Fabry's disease: Role of hypoxia and inflammation in determining testicular damage. Italian Journal of Anatomy and Embryology. 2015;120(Suppl1):31.
- Russo MA, Perrone GA, Polese M, Mechanick JI, Fini M, Tafani M. Molecular Nutrient Targeting with Mediterranean Diets. In: Molecular Nutrition The Practical Guide; 2015; DOI: 10.1210/MN1.9781936704842.ch6
- Portera A, Albertini G, Lamberti S. Disabilità dello sviluppo. In: Disabilità dello sviluppo, educazione e Cooperative Learning. Un approccio interculturale. Editore: FrancoAngeli 2015
- Lista S, Khachaturian ZS, Rujescu D, Garaci F, Dubois B, Hampel H. Application of Systems Theory in Longitudinal Studies on the Origin and Progression of Alzheimer's Disease. Capitolo in: Methods Mol Biol. 2016;1303:49-67.
- Salustri C, Siotto M, Bucossi S, Squitti R. Metals involvement in Alzheimer's Disease - A patho-genetic view. In: Alzheimer's Disease - Challenges for the Future. Edited by Zerr I, 2015.

PARTECIPAZIONI A CONGRESSI NAZIONALI ED INTERNAZIONALI

- Armani A. 8th International Symposium and Annual ADMIRE Cost Meeting "Aldosterone, MR, and Salt – What's new?" poster: "A novel combined glucocorticoid/mineralocorticoid receptor selective modulator prevents fat mass expansion in mice fed a high-fat diet", Zermatt, Ottobre 2015
- Barbanti P. Cibi, Nutrizione e Cefalee. "Cibi ed Eemicrania: dalle restrizioni dietetiche al moderno approccio di integrazione alimentare". Roma, Settembre 2015
- Barbanti P. Algospread, "La Gestione delle Cefalee nello studio di medicina generale: dalla diagnosi alla terapia", Sassari, Ottobre 2015
- Barbanti P. Congresso congiunto ANIRCEF-SISC. "L'acidoacetilsalicilico come farmaco di prima scelta nella terapia acuta dell'emigrania" e "Emigrania cronica: trattabilità, intrattabilità, pseudo-intrattabilità", Roma, Ottobre 2015
- Barbanti P. Congresso SIN "The 7-yr experience of San Raffaele Pisana Interinstitutional Multidisciplinary Biobank (BioBIM), a dedicated migraine biorepository for case-control genetic association studies", Genova, Dicembre, 2015
- Barbanti P. Bologna Cefalee 2015 "Update sulla terapia farmacologica dell'emigrania: non solo farmaci", Bologna, Febbraio 2015
- Barbanti P. "Epidemiologia: presente e futuro delle demenze", Bari, Ottobre 2015
- Barbanti P. Napoli cuore 2015 "L'uomo iperteso con frequenti mal di testa: come trattarlo", Napoli, Marzo 2015
- Barbanti P. Romagna cefalee 2015 "Novità in termini di terapia preventiva", Ravenna Novembre 2015
- Barbanti P. Headache Seminar Stresa 2015 "Rational for use of onabotulinum toxin A in chronic migraine", Stresa, Maggio 2015
- Barbanti P. Convegno di Assosalute "Stress: istruzioni per l'uso", Genova, Giugno 2015
- Barbanti P. VII corso di formazione in Psicogeriatrica "L'interpretazione del dolore cefalico", Napoli Dicembre 2015
- Barbanti P. ICH 2015, 2 Poster: "Non invasive vagus nerve stimulation for acute treatment of high-frequency and chronic migraine: an open-label study", "Look beyond COMT genotype for catecholamines derangement in migraine: the BioBIM R RS4818 and RS4680 polymorphisms study", Valencia, Maggio 2015
- Bonassi S. Università di Pisa, "Biomarcatori in esposti ad amianto", Pisa, Settembre 2015
- Bonassi S. Meeting COST Ageism, "Presentazione WP1", Dublino, Aprile 2015
- Bonassi S, Infarinato F. Meeting eWall, "Presentazione WP8" Budva, Montenegro, Settembre-Ottobre 2015
- Caliandro P, Vecchio F, Miraglia F, Reale G, Della Marca G, Lacidogna G, Iacovelli C, Padua L, Bramanti P and Rossini PM. 15th European Congress on Clinical Neurophysiology (ECCN).

Poster: "Small-world characteristics of cortical connectivity in acute stroke", Brno Settembre-Ottobre 2015

- Caprio M. 38° Congresso Nazionale della Società Italiana Endocrinologia "Sistema renina-angiotensina-aldosterone e Organo Adiposo: nuove prospettive terapeutiche per la Sindrome Metabolica", Taormina, Maggio 2015.
- Cifelli P, Roseti C, Ruffolo G, Antonilli L, Nencini P, Limatola P, Palma E. Mediterranean Neuroscience Society. Poster: "Cannabidiol modulates GABAA-current run-down on pharmacoresistance mTLE patients", Santa Margherita di Pula, Cagliari, Giugno 2015
- Ferroni P. 18° Congresso Nazionale – V Convention Nazionale della Società Italiana di Flebologia Clinica e Strumentale " "Predittività del rischio di TEV nel paziente oncologico ambulatoriale", Roma, Dicembre 2105
- Fossati C. Curare la MdP: gestire la complessità in ambito interdisciplinare "Le comorbilità nel paziente affetto da Malattia di Parkinson" Policlinico Gemelli, Roma, Giugno-Luglio 2015.
- Franceschini M. Docenza 5° Corso di Riabilitazione e Neuro-Fisiologia, Fisiopatologia della spasticità, Abano Terme, Marzo 2015
- Franceschini M. Docenza 26° Corso di Aggiornamento SIMFER, Fase Acuta Ictus: Fattori prognostici pre-esistenti ed emergenti, Riccione, Maggio 2015
- Franceschini M. Invited Speaker, Congresso Annuale della Società Internazionale di Riabilitazione (ISPRM), lecture: "Recent New Original Approaches in Stroke Rehabilitation", Berlino, Giugno 2015
- Franceschini M. 43° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina Fisica e Riabilitazione (SIMFER), Relazione: "Un protocollo di valutazione di minima in Riabilitazione Neurologica", Ferrara, Ottobre 2015
- Franceschini M. 43° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina Fisica e Riabilitazione (SIMFER), Comunicazioni: "Riabilitazione robotica nell'arto superiore in persone con ictus in fase subacuta: studio multicentrico randomizzato", "I percorsi riabilitativi del paziente con ictus cerebrale in alcune regioni Italiane", Ferrara, Ottobre 2015
- Franceschini M. Docenze 11° Corso della Scuola Mediterranea di Medicina Fisica e Riabilitazione "La valutazione strumentale della postura e l'analisi del cammino nella Malattia di Parkinson e nei parkinsonismi", "Utilizzo dell'action observation ed altri approcci innovativi come strategia di allenamento selettivo" Siracusa, Novembre 2016
- Franceschini M. Congresso Annuale della Federazione Europea di Neuro-Riabilitazione Poster: "Efficacy of Robotic-Assisted Gait Training in chronic Stroke patients: a preliminary results of Italian bicentric study", Vienna, Dicembre 2015
- Giacchetti LA, Lauro F, Ilari S, Montagna C, Gliozzi M, Morabito C, Palma E, Di Giacomo G, Mollace V, Filomeni G, Muscoli C. Società Italiana di Farmacologia (SIF). Poster: "Is TRPA1 S nitrosylation involved in the inflammatory pain?", Napoli, Ottobre 2015
- Guadagni F. The Second International Conference on Cognitive Internet of Things Technologies (COIOTE2015) "Personal and sensitive data in the e-health-IoT universe", Roma, Ottobre

2015

- Guadagni F. 18° Congresso Nazionale – V Convention Nazionale della Società Italiana di Flebologia Clinica e Strumentale "La biobanca come infrastruttura di ricerca", Roma, Dicembre 2105
- Guerra A, Ferreri F, Vecchio F, Vollero L, Petrichella S, Ponzo D, Määtä S, Mervaala E, Könönen M, Ursini F, Pasqualetti P, Iannello G, Rossini PM, Di Lazzaro V. 60th National Congress of Clinical Neurophysiology (SINC), "Sensorimotor cortex excitability and connectivity in Alzheimer's disease: an EEG-TMS co-registration study", Verona, Maggio 2015
- Iellamo F. Congresso EUROPREVENT 2015, "Session-rate of perceived exertion as a tool for exercise training in chronic heart failure: preliminary results", Lisbona, Maggio 2015
- Iellamo F. Convegno Sport-Terapia nella prevenzione primaria e secondaria dei soggetti ad alto rischio cardiovascolare "Selezione dei protocolli riabilitativi: quali test utilizzare", Roma Giugno 2015
- Iellamo F. International Society of Autonomic Neuroscience (ISAN), "Co-Chair del Simposio: Autonomic cardiovascular responses and adaptations to exercise and training in health and cardiac diseases", Stresa, Settembre, 2015
- Ilari S, Lauro F, Giacchetti LA, Dagostino C, Gliozzi M, Tafani M, Palma E, Morabito C, Carresi C, Musolino V, Fini M, Russo M, Salvemini D, Mollace V, Muscoli C. Società Italiana di Farmacologia (SIF). Poster: "Protective effects of antioxidants during acute inflammatory pain: the role of NAD+-dependent SIRT1 deacetylase", Napoli, Ottobre 2015
- Ilari S, Lauro F, Giacchetti LA, Morabito C, Tafani M, Gliozzi M, Palma E, Fini M, Russo MA, Mollace V, Salvemini D, Muscoli C. Società Italiana di Farmacologia (SIF). Poster: "Protective effects of natural antioxidants during acute inflammatory pain: the role of mitochondrial NAD+-dependent SIRT3 deacetylase", Napoli, Giugno 2015
- Ilari S, Lauro F, Montagna C, Giacchetti LA, Morabito C, Dagostino C, Gliozzi M, Filomeni G, Mollace V, Muscoli C. 5th International Congress on Neuropathic Pain (NeUPSIG 2015). Poster: "Neuropathic pain response in S-nitrosoglutathione reductase (GSNOR) deficient mice: the role of S-nitrosylation", Nizza, Maggio 2015
- Infarinato F. La medicina geriatrica del futuro: innovazione condivisa a sostegno della qualità di vita dell'anziano 'difficile' in RSA, "La ricerca del San Raffaele di Roma al servizio della persona disabile: l'esoscheletro bionico", Bari, Ottobre 2015
- Lauro F, Giacchetti LA, Ilari S, Gliozzi M, Morabito C, Malafoglia V, Raffaeli W, Palma E, Carresi C, Musolino V, Mollace V, Muscoli C. Società Italiana di Farmacologia (SIF). Poster: "Protective effects of bergamot polyphenolic fraction on neuropathic pain", Napoli, Ottobre 2015
- Marzolla V. 8th International Symposium and Annual ADMIRE Cost Meeting "Aldosterone, MR, and Salt – What's new?" poster: "Endothelial Mineralocorticoid Receptor activation increases atherosclerosis and promotes plaque inflammation through up-regulation of Intercellular Adhesion Molecule 1", Zermatt, Ottobre 2015
- Miraglia F, Vecchio F, Rossini PM. 60th National Congress of Clinical Neurophysiology (SINC). Poster: "EEG characteristics in "eyes open" vs "eyes closed" conditions: small world network

architecture in healthy aging and age-related brain degeneration", Verona, Maggio 2015

- Miraglia F, Vecchio F, Porcaro C, Cottone C, Cancelli A, Rossini PM and Tecchio F. 60th National Congress of Clinical Neurophysiology (SINC). Poster: "Sensory-motor networks' topology in multiple sclerosis fatigue", Verona, Maggio 2015
- Miraglia F, Vecchio F, Rossini PM. 15th European Congress on Clinical Neurophysiology (ECCN). Poster: "EEG characteristics in "eyes open" vs "eyes closed" conditions: small world network architecture in healthy aging and age-related brain degeneration", Brno Settembre-Ottobre 2015
- Morabito C, Lauro F, Ilari S, Giancotti LA, Gliozzi M, Paolino D, Ventura CA, Palma E, Carresi C, Musolino V, Mollace V, Muscoli C. Società Italiana di Farmacologia (SIF). Poster: "Pharmacological effect of a new idebenone formulation in a model of carrageenan-induced inflammatory pain", Napoli, Ottobre 2015
- Palma E. Updates pre-clinici e clinici nella gestione delle epilessie "Epilessia del lobo temporale e sistema GABAergico", Perugia, Dicembre 2015
- Palma E. Scuola Superiore di Neurologia SIN, Update su diagnosi e monitoraggio delle epilessie "Le canalopatie nelle epilessi", Genova, Febbraio 2015
- Palmirotta R. International Congress on Multimodality imaging and decision making in cardiology "Role of genetic for SCD risk stratification", Roma, Giugno 2015
- Palmirotta R. Congresso Nazionale su Nutrizione, cibi ed Emicrania "Razionale genetico della terapia nutrizionale nell'emicrania", Roma, Settembre 2015
- Russo P. 24rd The Israel Society for Neuroscience, ISFN Annual Meeting "Effect of Genetic Polymorphisms (SNPs) in CHRNA7 Gene on Response to Acetylcholinesterase Inhibitor Donepezil in Patients with Alzheimer's Disease", Hilton Queen of Sheba Eilat, Dicembre 2015
- Stocchi F. Non-Motor Parkinson's: Assessment, Subtypes, Biomarkers and Treatment: Meeting the Unmet Need "The enteric nervous system and NMS", Londra, Gennaio 2015
- Stocchi F. Positive Steps in Parkinson's disease. "Optimising levodopa therapy", Birmingham, UK, Febbraio 2015
- Stocchi F. 14th AOMC Annual Scientific Meeting "From evidence based and guideline to clinical practice – Benefit of the MAO-B inhibitor for the first line adjunct to levodopa", Thailandia, Marzo 2015
- Stocchi F. The 12th International Conference on Alzheimer's & Parkinson's diseases. AD/PD 2015 "Update on treatment of PD. New concept in the treatment of PD", Nizza, Francia, Marzo 2015
- Stocchi F. 4th National Movement Disorders Teaching Course "Treatment of non-motor symptoms in Parkinson's disease", Poiana Brasov, Romania, Marzo 2015
- Stocchi F. The Multiple Aspect of Dopamine Dysfunction in Parkinson Disease "The relevance of gastrointestinal symptoms on patient management" e "Clinical approach in the novo and suboptimal patients", Padova, Aprile 2015

- Stocchi F. UCB Northern PD Expert Meeting "The enteric nervous system and NMS", Manchester, UK, Maggio 2015
- Stocchi F. Third Assisi Workshop on Biomarkers in the early diagnosis of neurodegenerative disorders "An update on pharmacological approaches to Alzheimer's and Parkinson's diseases – Early diagnosis for early treatment in Parkinson's disease", Assisi, Maggio 2015
- Stocchi F. 1st Congress of the European Academy of Neurology. "Non-oral drug delivery strategies: from early diagnosis to advanced treatment – Wearing Off and Delayed On: Motor and Non-Motor Fluctuations", Berlino, Germania, Giugno 2015.
- Stocchi F. Parkinson Disease Workshop: Patient centered medicine and advances in pathogenesis, diagnosis and treatment "Gastroparesis and other GI problems: clinical management", Santander, Spagna, Luglio 2015.
- Stocchi F. Experts Symposium on New Treatment of Parkinson's disease. "Optimisation of levodopa therapy for Parkinson's disease – Explore clinical strategies for effective motor-fluctuation control in adjunctive therapy", Guangzhou, China, Ottobre-Novembre 2015
- Stocchi F. XIII Reunion Anual de la Asociación Madrileña de Neurología "Nueva alternativa en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, Safinamida: Mecanismo novedoso de acción dual", Madrid, Ottobre 2015
- Stocchi F. PRM 2015 – Parkinson's Review Meeting "Delayed ON and wearing OFF: Implication for patient OFF time", Londra, Ottobre 2015
- Stocchi F. XXI World Congress on Parkinson's Disease and Related Disorders 1. Plenary Session – Parkinson's disease pharmacotherapeutic interventions: Enzyme-based strategies. 2. Educational Parallel Session – Management of autonomic dysfunction in Parkinsonism: Gastrointestinal. 3. Sponsored Symposia – Zambon – Safinamide for the management of mid-to-late-PD patients: a case-based review: New treatment option for mid-to late-PD stage; the clinical development of safinamide. 4. Sponsored Symposia – Cynapsus – The importance and impact of OFF episodes in PD patients and the need for turning on therapies: Chairmen and KOL Panel Discussion", Milano, Dicembre 2015.
- Stocchi F. Farmaci, dispositivi medici, prodotti naturali: la sicurezza al servizio del paziente. "La farmacovigilanza nella pratica clinica: Il punto di vista del clinico", IRCCS San Raffaele, Roma, Maggio 2015
- Stocchi F. XIX Congresso Nazionale Geriatrico. L'integrazione ospedale territorio: per il recupero e mantenimento dell'autonomia, Lettura Magistrale "La terapia della Malattia di Parkinson", Cassino (Fr) Giugno 2015
- Stocchi F. Sperimentazione Clinica in Neurologia. Trial farmacologici, studi con dispositivi medici e studi osservazionali "La malattia di Parkinson: successi e problemi nella sperimentazione clinica", Milano, Giugno 2015
- Stocchi F. Curare la MdP: gestire la complessità in ambito interdisciplinare "La MdP – storia naturale della malattia e diagnosi differenziale: lezioni dalla pratica clinica", Policlinico Gemelli, Roma, Giugno-Luglio 2015
- Stocchi F. 1° Congresso Accademia Italiana per lo Studio della Malattia di Parkinson e i Disor-

dini del Movimento "Sessione 2: Novità terapeutiche nella fase avanzata della malattia di Parkinson – Terapie sperimentali. 2. Incontro con le Aziende: Parkinson e gli aspetti multidisciplinari nelle varie fasi di malattia oggi - Dal gastroenterico al cervello. Incontro con le Aziende Apomorphine: an old drug for new issues in Parkinson's Disease", Torino, Settembre 2015

- Stocchi F. NEPSI – Disturbi Affettivi nelle patologie di confine Neuropsichiatriche "Diagnosi differenziale delle patologie di confine – Diagnosi clinica", Roma, dicembre 2015
- Vacca L. 1° Congresso Accademia Italiana per lo Studio della Malattia di Parkinson e i Disturbi del Movimento Corsi di Formazione per Medici "Utilizzo delle scale di valutazione dei sintomi motori e non motori nella malattia di Parkinson: La Non Motor Symptoms Scale", Torino, settembre 2015
- Vecchio F, Miraglia F, Curcio G, Altavilla R, Scrascia F, Giambattistelli F, Quattrocchi CC, Vernieri F, Rossini PM. 60th National Congress of Clinical Neurophysiology (SINC), "Cortical brain connectivity evaluated by graph theory in dementia: a correlation study between functional and structural data", Verona, Maggio 2015
- Vecchio F, Miraglia F, Curcio G, Altavilla R, Scrascia F, Giambattistelli F, Cosimo C Quattrocchi, Vernieri F, Rossini PM. 15th European Congress on Clinical Neurophysiology (ECCN). Poster: "Cortical brain connectivity evaluated by graph theory in dementia: a correlation study between functional and structural data", Brno Settembre-Ottobre 2015
- Vecchio F, Caliandro P, Miraglia F, Piludu F, Iacovelli C, Lacidogna G, Reale G, Colosimo C and Rossini PM. 15th European Congress on Clinical Neurophysiology (ECCN). Poster: "Cortical connectivity and lesion volumes correlation in acute stroke patients: a study via graph theory from EEG data", Brno Settembre-Ottobre 2015
- Vecchio F. XVII Corso di Aggiornamento in Tecniche di NFP, "La Neurofisiologia clinica nel 3° millennio ed il ruolo del Tecnico di NFP", "Dallo scalpo alle sorgenti: le più avanzate tecniche di analisi dell'EEG", Roma, Aprile 2015
- Volterrani M. VI Convegno Regionale Sicoa Emilia Romagna
- Volterrani M. "L'anticoagulazione: l'innovazione è preferibile al classico", Bologna, Gennaio 2015
- Volterrani M. Workshop on management of hypertension, atrial fibrillation and stroke organizzato dalla ISCP e dall' Hopitaux Universitaires Pitié Salpêtrière, "Strategies for management of CV risk - Guidelines versus real life clinical practice", Parigi, Febbraio 2015
- Volterrani M. Congresso "Le Relazioni pericolose", Cattedra Cardiologica della Seconda Università di Napoli, "Ivabradina nei protocolli terapeutici: a chi, come e quando", Febbraio 2015
- Volterrani M. III Corso Superiore SICOA di Aggiornamento in Cardiologia, "Dalle linee guida al territorio trattamento della FA in Italia", Milano, Aprile 2015
- Volterrani M. Congresso Cardiologia Clinica e Interventistica, "Management and treatment of HF pt with comorbidities", Catania, 18 aprile 2015
- Volterrani M. Capri Cardiovascular Conference 2.0, "Cosa c'è di nuovo nelle Linee Guida e nella gestione del paziente con SC", Capri, Aprile 2015

- Volterrani M. ISCP Euro-Asian Congress "Perspective of urate lowering therapy for management of cardiac disease", "Case studies in ischemic heart disease", Singapore, Aprile 2015
- Volterrani M. XIII Congresso SICOA "Quali indicazioni dallo studio ISPICA", Giardini Naxos (Me), maggio 2015
- Volterrani M. Heart Failure 2015 "Optimize Heart Failure Care: from Global to Local perspective"; "Counteracting skeletal muscle abnormalities by anabolic stimuli: reality or fiction?", Siviglia, 2015
- Volterrani M. EURO-CVP 3rd Annual Meeting of the ESC Working Group Cardiovascular Pharmacotherapy "Drugs on the horizon for the treatment of cardiovascular disease. Treatment of hyperkalemia"; "How to manage chronic ischaemic heart disease: Symptoms vs prognosis: is this the question?" Roma, maggio 2015
- Volterrani M. Telemonitoraggio: un'opportunità per i sistemi sanitari, "Il telemonitoraggio nel paziente cardiopatico", IRCCS San Raffaele Pisana, Roma, Giugno 2015
- Volterrani M. ISCP Workshop on hypertension, atrial fibrillation and stroke, Co-Chair in "ISPA: raising awareness of cardiovascular risk globality" e "Anticoagulation Workshop", Riga, Giugno 2015
- Volterrani M. ISCP Workshop on cardio-pulmonary comorbidities, "200 years of research and discoveries", Karolinska Institutet, Stoccolma, Giugno 2015
- Volterrani M. ISCP and St George's University of London: International Cardiovascular Workshop "Interactive discussion on prevention of stroke in atrial fibrillation - Comparing real life experiences across international borders", Chair of the Anticoagulation workshop, Londra, Giugno 2015
- Volterrani M. ISCP Workshop on Management of Ischemic heart disease and prevention of HF Chair interactive workshop "Global cardiovascular risk", Parigi, Giugno 2015
- Volterrani M. Curare la Malattia di Parkinson: gestire la complessità in un ambito interdisciplinare, "Problematiche Cardiovascolari nella malattia di Parkinson", Roma, Policlinico A. Gemelli, Giugno 2015
- Volterrani M. ISCP and St George's University of London: International Cardiovascular Workshop, "Managing Atrial Fibrillation in 2015", Londra, Settembre 2015
- Volterrani M. ISCP Workshop: new horizons in cardiovascular drug therapy, "New Biomarkers and heart failure: from bio-adrenomedulin via pro-enkephalin to new natriuretic peptides", Vienna, Settembre 2015
- Volterrani M. Le Giornate Cardiologiche dell'Ospedale di Circolo di Busto Arsizio, "Universo Ivabradina", Stresa, Ottobre 2015
- Volterrani M. Convegno SICOA di Cardiologia Riabilitativa, "Ottimizzazione terapeutica e riserva coronarica: esiste un ruolo specifico della ivabradina in cardiologia riabilitativa?", Gardone Riviera (BS), Ottobre 2015
- Volterrani M. Joint ISCP and Chinese Society of Cardiology- Cardiovascular Workshop, "New

Biomarkers and heart failure : from bio-adrenomedulin via pro-enkephalin to new natriuretic peptides” , Pechino, Ottobre 2015

- Volterrani M. 37° Congresso SIF Società Italiana Farmacologia “New evidences in neurohumoral modulation in pt with HF: the clinical trials on angiotensin and neprilysin receptors” , Napoli , Ottobre 2015

- Volterrani M. PLACE Advance in Cardiac Electrophysiology, “Percorsi diagnostico terapeutici nello SC” e “Riabilitazione cardiologica nello S.C.: dove siamo e dove andiamo” , Roma, Novembre 2015

- Volterrani M. ISCP and St George’s University of London: International Cardiovascular Workshop, “New horizons in global CV disease treatment” , Londra, Novembre 2015

- Volterrani M. II Ediz. Giornate Cardiologiche, “Relazione; Insufficienza cardiaca e disturbi ormonali” , Napoli, Novembre 2015

- Volterrani M. ISCP Workshop on management of atrial fibrillation and stroke, “Managing Atrial Fibrillation in 2015” , Londra, Dicembre 2015

AREE DI RICERCA



Le attività di ricerca prevedono una organizzazione secondo Aree di Ricerca, comprendente un'Area trasversale di Epidemiologia Clinica e Molecolare che mette a disposizione dei ricercatori anche un servizio di Biostatistica.

AREE DI RICERCA

AREE DI RICERCA	RESPONSABILE
RIABILITAZIONE NEUROMOTORIA	MARCO FRANCESCHINI
CENTRO DEL FARMACO E CLINICAL TRIAL CENTER	FABRIZIO STOCCHI
PARKINSON E DISTURBI DEL MOVIMENTO	FABRIZIO STOCCHI
CEFALEE E DOLORE NEUROPATICO	PIERO BARBANTI
RIABILITAZIONE CARDIOVASCOLARE	MAURIZIO VOLTERRANI
PNEUMOLOGIA RIABILITATIVA	VITTORIO CARDACI
CENTRO DI RICERCA CLINICA E SPERIMENTALE	GIUSEPPE ROSANO
EPIDEMIOLOGIA CLINICA E MOLECOLARE	STEFANO BONASSI
DISABILITÀ DELLO SVILUPPO E RIABILITAZIONE	GIORGIO ALBERTINI
BIOBANCA - BIOTECNOLOGIE AVANZATE E BIOMARKER DISCOVERY	IORELLA GUADAGNI
ORGANIZZAZIONE E GESTIONE DEI SERVIZI	NATALE SANTUCCI
DIAGNOSTICA PER IMMAGINI	ALBERTO PIERALLINI
TELEMEDICINA E E-HEALTH	MAURIZIO VOLTERRANI

CENTRO RICERCHE IRCCS SAN RAFFAELE PISANA RICERCA DI BASE - TRASLAZIONALE

AREE DI RICERCA

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
ENDOCRINOLOGIA CARDIOVASCOLARE	MASSIMILIANO CAPRIO	ANTONELLA ANTELMI, ANDREA ARMANI, ALESSANDRA FERACO, CATERINA MAMMI, VINCENZO MARZOLLA
PATOFISIOLOGIA DELLA CACHESSIA E METABOLISMO DEL MUSCOLO SCHELETRICO	ELISABETTA FERRARO	LUCIA GATTA, STEFANIA GORINI, FRANCESCA MOLINARI, LAURA PONTECORVO, LAURA VITIELLO
NEUROBIOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE	ALESSIO CARDINALE	DANIELA MERLO
PATOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE	MATTEO ANTONIO RUSSO	CAROLINA LANE ALVES, TANIA ARCANGELI, ELENA DE SANTIS, ELEONORA FOGLIO, FEDERICA LIMANA, ELENA PONTEMEZZO, GIOVANNI PUDDIGHINU, SERENA SALADINI, LUIGI SANSONE, MARCO TAFANI
ELETTROFISIOLOGIA	ELEONORA PALMA	CRISTINA ROSETI
BIOCHIMICA DELL'INVECCHIAMENTO	MARIA ROSA CIRIOLO	KATIA AQUILANO, SARA BALDELLI, GIUSEPPE TATULLI
BRAIN CONNECTIVITY	FABRIZIO VECCHIO	FRANCESCA MIRAGLIA
BIOINGEGNERIA DELLA RIABILITAZIONE	FRANCESCO INFARINATO	PAOLA ROMANO, FEDERICA RIZZA, ANTONIA MONTERA, LUCA FORTINI
EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE	PATRIZIA RUSSO	STEFANIA BOCCIA, ALESSANDRA DEL BUFALO, MIRTA MILIC
PATOLOGIE CRONICO-DEGENERATIVE	ANNA TERESA PALAMARA	DOLORES LIMONGI, SIMONA PANELLA, ROSSELLA SGARBANTI

AREE DI RICERCA

NEUROMOTORIA

RESPONSABILE

MARCO FRANCESCHINI

STAFF

D. LE PERA, C. DAMIANI,
F. DEPISI, F. INFARINATO,
D. GALAFATE

I progetti elaborati dall'Area di ricerca si dividono in due ampie aree:

1. lo studio dei dati epidemiologici di alcune patologie neurologiche che determinano importanti limitazioni funzionali;
2. l'analisi di quanto di innovativo emerge dalla ricerca base e di laboratorio in ambito tecnologico; la messa a punto, assieme ad Aziende con Tecnologie avanzate, di prototipi tecnologici con potenziale utilità nella riabilitazione dell'arto superiore nelle persone con lesione neurologica.

Nel primo caso le informazioni ricavate possono consentire di influenzare e correggere al meglio il percorso riabilitativo.

Nel secondo caso invece è possibile acquisire strumenti o idee per proporre approcci riabilitativi innovativi, specie laddove l'ambito riabilitativo ha ancora dei grossi limiti (ad esempio il recupero di una attività funzionale all'arto superiore nelle persone con esiti di ictus, il mantenimento/miglioramento del cammino nelle persone con malattia di Parkinson).

L'obiettivo finale è quello di migliorare la presa in carico, in ambito riabilitativo, della persona con disabilità e la qualità della vita dei pazienti.

Gli interessi dell'Area sono focalizzati sulle seguenti tematiche:

- riabilitazione robotica dell'arto superiore - per ottenere un recupero funzionale dell'arto superiore nelle persone con esiti di stroke;
- riabilitazione robotica del cammino - per il monitoraggio e lo studio del recupero della sicurezza e capacità di cammino nella persona con malattia di Parkinson e con esiti di stroke;
- studi elettrofisiologici sul recupero funzionale dell'arto superiore in persone con esiti di stroke dopo trattamento riabilitativo innovativo;
- studi sul monitoraggio dei percorsi dei pazienti colpiti da stroke e da lesione midollare - per evidenziare criticità assistenziali del SSN e valutare eventuali fattori prognostici relativi al recupero funzionale e di buona qualità di Vita;
- studio sui possibili miglioramenti funzionali nelle persone con emiparesi da esiti di stroke e nelle persone con malattia di Parkinson con Task Observation Therapy.

AREE DI RICERCA

PARKINSON E DISTURBI
DEL MOVIMENTO

RESPONSABILE

FABRIZIO STOCCHI

STAFF

E. ANNESE, M. CASALI, C.
FOSSATI,
P. GRASSINI, F.G. RADICATI,
P. STIRPE,
M. TORTI, L. VACCA.

L'impatto sociale della Malattia di Parkinson, che si stima colpire l'1% della popolazione sopra i 65 anni, e con una sempre maggiore rilevanza nelle fasce di età più basse (30-60), porta ad una continua ricerca sia nell'accrescere le conoscenze fisiopatologiche della malattia, sia nel perfezionare l'approccio terapeutico, farmacologico e riabilitativo, nell'ottica di un miglioramento della qualità della vita di questi pazienti.

Il gruppo di ricerca è composto da un team di medici specialisti (neurologi e geriatri), infermieri, psicologi e logopedisti, e porta avanti progetti con tecnologie innovative finalizzati nell'area clinico-farmacologica, psicologica e riabilitativa nei pazienti affetti da malattia di Parkinson, Parkinsonismi atipici e altre malattie neurodegenerative.

Il gruppo di ricerca continua a lavorare con l'esigenza di organizzare ed eseguire a livello locale quanto avviene in ambito nazionale e internazionale, con studi clinici promossi da industrie, società scientifiche, enti di ricerca e singoli ricercatori. Questa attività di ricerca ha lo scopo di rappresentare il punto di riferimento della sperimentazione clinica e farmacologica in tali ambiti e di promuovere l'eccellenza e la qualità della sperimentazione clinica in accordo con le Good Clinical Practices.

La linea di ricerca dell'anno 2015 ha terminato progetti già in corso negli anni precedenti e iniziato nuovi progetti. Nella maggior parte dei casi le cause della Malattia di Parkinson (PD) restano sconosciute e modelli di tipo monogenico non sembrano molto verosimili. Probabilmente ci si trova di fronte a complesse interazioni di molti fattori di tipo genetico e non-genetico. La PD tende a ricorrere nella stessa famiglia più frequentemente di quanto possa avvenire per effetto del caso. Questo fenomeno viene ormai confermato in modo molto consistente dagli studi epidemiologici. Circa il 15-25% dei pazienti riferisce infatti la presenza di familiarità positiva. La ricorrenza familiare di una malattia non è sinonimo di ereditarietà; esistono infatti molti altri fattori, come esposizioni ambientali, occupazionali, ecc. che tendono a ricorrere nelle famiglie, e potrebbero avere un ruolo nel determinare la aggregazione familiare di malattia. La linea di ricerca, già iniziata negli anni precedenti e conclusa questo anno con una popolazione molto ampia, è stata volta ad individuare una definizione del modello eziopatologico della malattia di Parkinson, investigando una serie di variabili ambientali (aspetti dello stile di vita, la dieta, l'occupazione, la residenza).

Si è proseguita l'analisi di una popolazione di pazienti con PD con diagnosi di malattia superiore ai 20 anni, al fine di caratterizzare nuovi targets a cui indirizzarsi nelle fasi precoci di malattia e ottimizzare la gestione di questi pazienti nel corso degli anni. Si è iniziato uno studio di tipo osservazionale prospettico in un gruppo di pazienti con PD che hanno presentato nel corso della malattia una perdita di peso corporeo non volontaria di almeno il 7% del peso abituale, maggiore rispetto a soggetti sani della stessa età. Il fenomeno della perdita di peso rappresenta un importante elemento clinico, poiché può condizionare la prognosi della malattia e comportare outcome sfavorevoli. Lo studio è volto ad individuare le caratteristiche cliniche predittive/associate a perdita di peso; terapia farmacologica; eventuali associazioni con abitudini alimentari; eventuali disfunzioni metaboliche o alterazioni dei parametri di laboratorio in esame. Si è iniziato uno studio che si propone di validare un semplice questionario, il TOQ (time-to-ON Questionnaire), volto a verificare la presenza di eventuali problematiche legate al funzionamento del farmaco nei pazienti con PD e fluttuazioni motorie. Il TOQ è stato disegnato per aiutare il medico specialista ad

identificare il paziente che manifesta un ritardo dell'ON in relazione al proprio usuale regime di somministrazione della levodopa. Infine, tenendo conto che il fenomeno della perdita di motricità orale rappresenta un rilevante outcome sfavorevole a livello personale e sociale delle persone affette da PD e Paralisi Sopranucleare Progressiva (PSP), è stato intrapreso uno studio in cui ci si propone di monitorare il funzionamento del distretto orale su un campione di pazienti con malattia di Parkinson e PSP che manifestano deficit prassico a carico del volto cercando di dimostrare che un costante allenamento della zona del volto può migliorare o mantenere la motricità orale residua, dando beneficio alla parola e alla deglutizione.

Si è proseguito lo studio del dispositivo medico GONDOLA®. Questo dispositivo eroga la terapia di stimolazione plantare sensitivo/propriocettiva bilaterale denominata Foot Mechanical Stimulation (FMS), che può essere di ausilio per la riabilitazione di pazienti affetti da malattia di Parkinson.

Nel corso dell'anno è proseguita l'osservazione della casistica di pazienti affetti da PSP, dedicando particolare attenzione all'analisi dei sintomi "non motori" grazie alla Non Motor Symptoms Scale, al Non Motor Symptoms Questionnaire e alla PSP Scale. Sono stati inclusi nella valutazione tutti i pazienti con diagnosi di probabile di PSP, senza limitazione dell'età di esordio, con fascia età 40-80 anni, ricoverati presso il reparto di riabilitazione neuromotoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana. Il numero di pazienti osservati nel 2015 è di 28 soggetti affetti da PSP.

Inoltre, si è proseguito il lavoro di conduzione di trial clinici (internazionali, multicentrici) inerenti la sperimentazioni di nuovi farmaci.

AREE DI RICERCA

CENTRO DEL FARMACO
E CLINICAL TRIAL CENTER

RESPONSABILE

FABRIZIO STOCCHI

STAFF

M. CASALI, C. FOSSATI,
P. GRASSINI,
F.G. RADICATI, P. STIRPE,
M. TORTI, L. VACCA.

L'impatto sociale della malattia di Parkinson, che si stima colpire l'1% della popolazione sopra i 65 anni, e con una sempre maggiore rilevanza nelle fasce di età più basse (30-60), porta ad una continua ricerca nell'accrescere sia le conoscenze fisiopatologiche della malattia, sia nel perfezionare l'approccio terapeutico, farmacologico e riabilitativo, nell'ottica di un miglioramento della qualità della vita di questi pazienti.

Nel corso di questo anno, il gruppo di ricerca ha continuato a portare avanti progetti nell'area clinico-farmacologica, psicologica e riabilitativa sia nella malattia di Parkinson che nei parkinsonismi atipici:

1. E' proseguita l'osservazione della casistica di pazienti affetti da Paralisi Sopranucleare Progressiva (PSP), dedicando particolare attenzione all'analisi dei sintomi "non motori" grazie alla Non Motor Symptoms Scale, al Non Motor Symptoms Questionnaire e alla PSP Scale. Sono stati inclusi nella valutazione tutti i pazienti con diagnosi di probabile PSP, senza limitazione dell'età di esordio, con fascia età: 40-80 anni, ricoverati presso il reparto di riabilitazione neuromotoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana. Il numero raggiunto di pazienti a tutto il 2015 è di 28 soggetti affetti da PSP.

2. Si è concluso uno Studio sull'analisi della differenza di percezione e consapevolezza dei movimenti involontari tra i pazienti con malattia di Parkinson e i loro caregivers. L'obiettivo di questo studio è stato quello di analizzare la percezione e la consapevolezza dei movimenti involontari tra i pazienti parkinsoniani e i loro caregivers utilizzando un nuovo questionario PD-C SCL Parkinson's disease /Caregivers Symptoms Check List. A tale scopo, è stato chiesto ai 50 pazienti partecipanti allo studio (ed ai 50 caregivers) di fornire una valutazione ad una serie di sintomi della malattia di Parkinson. Il grado di accordo (o disaccordo) fra valutazione effettuata dal paziente e dal caregiver è stato valutato statisticamente attraverso il Kappa di Cohen. Per alcuni sintomi è eseguito anche il confronto con la valutazione espressa dal clinico, riportata nella scheda mAIMS.

L'accordo fra paziente e caregiver è risultato scarso in 6 aree.

- Problemi psicologici: in 21 casi su 50 il caregiver ha dato un giudizio più grave di quello fornito dal paziente;
- Movimenti involontari tronco: in 22 casi su 50 il caregiver ha dato un giudizio più grave del paziente;
- Movimenti involontari arti: in 25 casi su 50 il caregiver ha dato un giudizio più grave del paziente (50% dei casi);
- Movimenti involontari capo: in 21 casi su 50 il caregiver ha dato un giudizio più grave del paziente;
- Situazione inversa si ha nel blocco/rallentamento motorio grave, dove è il paziente a risentire maggiormente dei sintomi e questo suo malcontento si riflette nelle risposte date.
- Accordo massimo si ha nel giudicare il tremore del capo.

Come ci si aspettava, il giudizio del clinico non è in accordo con il concetto di "fastidio" sentito dal paziente. Ad esempio, nel "movimenti involontari del tronco" il confronto fra paziente e clinico presenta una concordanza scarsa ed in 28 casi su 50 totali, il clinico descrive una situazione di una certa gravità mentre il fastidio descritto dal paziente risulta essere abbastanza lieve. I pazienti

parkinsoniani tendono a sottovalutare la gravità e l'impatto dei loro sintomi sulle attività della vita quotidiana, mentre i familiari e caregivers spesso considerano i movimenti involontari come il segno principale o il più fastidioso tra sintomi parkinsoniani. Questi risultati sono importanti nell'affrontare nella pratica clinica con la dovuta attenzione le esigenze del paziente e quelle del caregiver che spesso possono risultare completamente differenti.

3. Nell'ambito dello studio delle nuove procedure riabilitative, si è concluso un primo studio pilota per valutare l'efficacia del dispositivo medico "Gondola" per la riabilitazione motoria di soggetti affetti da Parkinson. Nella maggior parte di questi pazienti si osserva un lento e inesorabile decadimento delle funzioni motorie dell'arto inferiore. Pertanto la riabilitazione dell'arto inferiore e del cammino in generale, associata ad una terapia farmacologica, costituisce un obiettivo fondamentale, ma spesso insoddisfatto, del trattamento. L'utilizzo di dispositivi elettromeccanici, in aggiunta alle convenzionali terapie farmacologiche, nell'ultimo anno è risultato di estremo ausilio nel trattamento dei pazienti con malattia di Parkinson (PD). GONDOLA è un dispositivo personale portatile di riabilitazione progettato per erogare individualmente la Foot Mechanical Stimulation (FMS), una terapia riabilitativa complementare rispetto alle cure farmacologiche. L'innovazione tecnologica di GONDOLA si basa su stimolazioni del sistema nervoso periferico. Più precisamente, stimola specifiche aree dei piedi con impulsi meccanici controllati. In questo protocollo sono stati inclusi 20 pazienti con Malattia di Parkinson affetti da fluttuazioni della risposta motoria. I pazienti sono stati randomizzati in due gruppi: trattamento GONDOLA attivo e trattamento SHAM GONDOLA. La randomizzazione è stata effettuata con il supporto di un software dedicato. Solo l'operatore incaricato della somministrazione del trattamento era a conoscenza del gruppo di appartenenza del singolo paziente. Ogni paziente è stato sottoposto a 8 stimolazioni (2 stimolazioni a settimana GONDOLA o SHAM GONDOLA) e, dopo 4 settimane di wash-out, ad una visita di follow up. Le valutazioni cliniche sono state effettuate all'inizio (T0), alla fine del ciclo di stimolazioni (T1) e dopo il follow up di 4 settimane (T2), da osservatori in cieco rispetto al trattamento effettuato. Lo studio computerizzato del cammino (GAIT) era stato previsto, all'inizio e alla fine di ciascun ciclo di stimolazioni, in almeno il 50% dei pazienti arruolati. L'analisi statistica dei dati ottenuti ha mostrato un miglioramento significativo nei punteggi dell'UPDRS III e nel Six Minute Walking test (6MWT) tra i tempi di valutazione T0 e T1 nel gruppo di pazienti trattati con GONDOLA attivo. E' stato inoltre evidenziato un peggioramento statisticamente significativo dei punteggi UPDRS III tra i tempi di valutazione T1 (post-stimolazione) e Follow up (dopo 4 settimane di wash out). Nessuna variazione statisticamente significativa è stata evidenziata per tutte le altre scale di valutazione ad eccezione della CGI - Investigator e Paziente che ha mostrato un peggioramento significativo nel gruppo di stimolazione attiva tra la valutazione di fine stimolazione (T1) e la valutazione effettuata al Follow-up (T2). Nessuna variazione significativa è stata riportata nel gruppo SHAM. I risultati ottenuti hanno mostrato un trend di miglioramento nelle performance motorie nei pazienti trattati con Gondola® attivo rispetto al gruppo placebo.

4. Sempre nell'ambito dello studio di nuove procedure terapeutiche, è stato condotto uno studio utilizzando la Deep TMS (DTMS- Deep Transcranial Magnetic Stimulation), tecnica che consente la attivazione diretta e non-invasiva di strutture cerebrali profonde fino a 6 cm. La Deep TMS utilizza un coil (H-coil) brevettato ed unico nel suo disegno ed architettura, che grazie al suo particolare disegno raggiunge le strutture più profonde modulando eccitazione e/o inibizione neuronale, anche nel sistema limbico implicato nei disturbi dell'umore come depressione, sindromi bipolari, tossicodipendenze, disturbo ossessivo-compulsivo, ed altri ancora in fase di studio. In particolare, la DTMS a bassa frequenza sull'area motoria primaria potrebbe avere effetti significativi sulla modulazione delle discinesie indotte da levodopa (LID), ipotizzando che una stimolazione magnetica profonda e con un più largo volume di attivazione, possa determinare una maggiore inibizione delle aree corticali con conseguenti maggiori e duraturi effetti benefici sulle LID. Lo studio, longitudinale cross-over randomizzato in doppio cieco, ha avuto lo scopo di investigare l'efficacia nel recupero funzionale, nella riduzione dei movimenti involontari e negli aspetti neu-

ropsicologici indotti dalla terapia con Deep TMS® in 15 pazienti affetti da Malattia di Parkinson e 20 pazienti con PSP. Nei pazienti parkinsoniani con discinesie la Deep TMS a bassa frequenza ha dimostrato di determinare una lieve ma significativa riduzione dell'intensità delle discinesie, con minimi effetti residui una settimana dopo la fine del trattamento. Tale miglioramento dell'intensità non ha avuto però un significato clinico nel migliorare la disabilità causata dai movimenti involontari. Nei pazienti con PSP i risultati hanno mostrato un miglioramento dei sintomi motori e non motori in quasi tutti i pazienti in aree quali l'attenzione e il linguaggio, il sonno e la stanchezza, la stipsi, l'andatura e l'instabilità posturale. Si è trattato di un miglioramento a breve termine (stimato in 6/7 giorni dopo l'ultimo trattamento), ma molto apprezzato dai pazienti e dai loro caregivers. I feedback ottenuti da tutti i pazienti sono stati molto positivi, dopo la fine del trattamento, e tutti erano disposti a proseguire il trattamento. La DTMS è una tecnologia molto costosa e assicurare un trattamento continuo ai pazienti è difficile per la maggior parte delle strutture sanitarie italiane.

5. Il Parkinson è una malattia cronica con progressiva disabilità. Alla luce del progresso sia delle terapie farmacologiche che in generale dell'assistenza, sono sempre di più i pazienti che hanno una storia di malattia molto lunga. È stato avviato uno studio volto a descrivere le caratteristiche cliniche, la qualità della vita e la progressione della malattia nei pazienti con Parkinson diagnosticato e trattato da più di 20 anni, mirando: all'identificazione di diversi fenotipi clinici nella malattia di Parkinson avanzata e la loro caratterizzazione farmacologica; alla valutazione dell'impatto delle differenti comorbidità; alla individuazione dei sintomi che causano maggiore disabilità; alla individuazione delle differenti disabilità. Nel primo anno di studio sono stati arruolati 20 pazienti (13 M, 7 F) con diagnosi di malattia di Parkinson idiopatica. La durata media di malattia è di $21 \pm 1,2$ anni, la media di età è di $75 \pm 3,5$, stadio H&Y $4 \pm 0,7$. Una analisi preliminare ha evidenziato che il 48% dei pazienti presenta deterioramento cognitivo; le allucinazioni sono presenti in circa il 40% dei pazienti. Disturbi della sfera urinaria sono presenti in circa il 60%. Il 65% presenta discinesie indotte da levodopa e l'80% wearing off disabilitanti. La maggior parte dei pazienti necessita di ausili per la deambulazione. Durante il secondo anno di studio si provvederà a terminare l'arruolamento dei pazienti e ad effettuare una accurata analisi statistica dei dati, che permetterà di definire meglio la popolazione parkinsoniana in fase avanzata con lo scopo di individuare nuovi target per ottimizzare la gestione di questi pazienti.

6. Tra i sintomi non motori della malattia di Parkinson (PD) i disturbi del comportamento rivestono un ruolo significativo. Tra questi disturbi psichiatrici, si possono distinguere quelli indipendenti dalla terapia, come la depressione e i disturbi d'ansia, e quelli invece, amplificati dalla terapia dopaminergica, come la psicosi e i disturbi del controllo degli impulsi. In questa categoria rientrano il gioco d'azzardo patologico, lo shopping compulsivo, l'ipersessualità, il punding, ecc. Caratteristiche comuni sono: incapacità di resistere all'impulso, alla spinta o alla tentazione di eseguire l'atto; un crescente senso di tensione o attivazione prima di commettere l'atto; un senso di piacere, gratificazione o "release" al momento di commettere l'atto. Il gioco d'azzardo patologico (gambling) è caratterizzato dall'impossibilità da parte del paziente di resistere all'impulso del gioco nonostante conseguenze personali, familiari o occupazionali, e significative ripercussioni sulla vita sociale dei pazienti. Negli anni passati diversi studi hanno evidenziato dipendenze patologiche nei pazienti affetti da PD. La degenerazione del sistema dopaminergico presente nella PD e la continua e obbligatoria assunzione di farmaci dopaminergici causa in alcuni pazienti disfunzioni nel sistema della gratificazione. E' iniziato questo studio con lo scopo di testare l'ipotesi che specifici fattori molecolari giochino un ruolo nei processi cognitivi ed emotivi alla base dello sviluppo del gioco d'azzardo patologico (GAP), in pazienti con PD. In particolare verranno valutati sistematicamente una serie di plimorfismi genetici, ad oggi studiati specialmente in soggetti gambler senza altro disturbo psichiatrico o neurologico. Lo studio prevede l'arruolamento di un numero minimo di 20 pazienti con PD e GAP presso gli ambulatori neurologici dell'IRCCS San Raffaele Pisana e sarà svolto in collaborazione con l'Università Sapienza e la UOD di Diagnostica

molecolare Avanzata della Azienda Universitaria Ospedaliera Sant'Andrea II.

7. Nel corso del 2015 è proseguito lo Studio caso-controllo sui fattori di rischio familiare e diagnosi precoce della Malattia di Parkinson. Nella maggior parte dei casi le cause della Malattia di Parkinson restano sconosciute e modelli di tipo monogenico non sembrano molto verosimili. Probabilmente ci si trova di fronte a complesse interazioni di molti fattori di tipo genetico e non-genetico. La Malattia di Parkinson tende a ricorrere nella stessa famiglia più frequentemente di quanto possa avvenire per effetto del caso. Questo fenomeno viene ormai confermato in modo molto consistente dagli studi epidemiologici. Circa il 15-25% dei pazienti riferisce infatti la presenza di familiarità positiva. La ricorrenza familiare di una malattia non è sinonimo di ereditarietà; esistono infatti molti altri fattori, come esposizioni ambientali, occupazionali, ecc. che tendono a ricorrere nelle famiglie, e potrebbero avere un ruolo nel determinare la aggregazione familiare di malattia.

La potenziale multifattorialità dell'eziologia della Malattia di Parkinson, combinata alla presenza di un quadro di debole suscettibilità genetica sostiene un modello di interazione gene-ambiente come modello eziologico preferenziale.

In associazione con l'identificazione dei fattori di suscettibilità genetica la letteratura ha riportato alterazioni nella distribuzione in casi e controlli di alcuni fattori fenotipici, fra cui l'instabilità genetica ed il danno al DNA. A completamento delle variabili considerate nella definizione del modello eziopatologico del Parkinson, una serie di variabili ambientali è stata investigata in studi di tipo clinico ed epidemiologico. Fra queste vari aspetti dello stile di vita, la dieta, l'occupazione, la residenza. Anche parametri di funzionalità fisiologica sono stati in varie occasioni considerati come predittori dello sviluppo di malattia. Obiettivo di questo studio osservazionale di tipo caso controllo è il calcolo dell'Odds Ratio per i singoli fattori di rischio, di tipo genetico (SNPs), ambientale (Occupazione, life-style, etc.), clinici (stipsi, etc.). Ulteriori endpoints riguardano: i) la valutazione dell'interazione gene-ambiente fra le SNPs valutate nei gruppi in studio con i fattori di rischio della malattia; ii) validazione dei principali meccanismi connessi con le fasi precoci della malattia; iii) creazione di un biorepository per lo studio dei fattori di rischio della malattia di Parkinson. Il campione finora analizzato è composto da 520 casi affetti e da 257 controlli non affetti da malattia. Il target da raggiungere è di 1000 soggetti.

8. E' proseguito lo studio dei fattori predittivi nello sviluppo della malattia di Parkinson (PD): analisi della variabilità dell'intervallo cardiaco R-R in familiari di pazienti, che si propone di verificare:

- se i familiari di primo grado dei pazienti con PD (che hanno un più alto rischio di sviluppare la malattia) hanno una ridotta variabilità dell'intervallo R-R rispetto al gruppo di controllo.
- se la variabilità della frequenza cardiaca è ridotta nei familiari di un sottogruppo di pazienti con PD affetti anche da anosmia e REM Behavior sleep disorders.

Si è inoltre in grado di individuare coorti di: a) familiari di primo grado aventi una ridotta variabilità della frequenza cardiaca; b) familiari di primo grado aventi una normale variabilità della frequenza cardiaca e c) gruppi di controllo correlati per sesso ed età.

In questo studio, si effettua un elettrocardiogramma di routine con misurazione della variabilità dell'intervallo R-R su un gruppo di familiari di primo grado di pazienti e su un gruppo di controllo correlato per età e sesso.

Questo tipo di ricerca potrebbe rivoluzionare il modo di diagnosticare e trattare i pazienti con PD, nonché portare ad una prevenzione secondaria qualora diventino disponibili farmaci in grado di modificare il decorso di malattia.

Inoltre, prosegue la partecipazione a trial clinici (internazionali, multicentrici) inerenti la sperimentazione di nuovi farmaci.

AREE DI RICERCA

CEFALEE E DOLORE
NEUROPATICO

RESPONSABILE

PIERO BARBANTI

STAFF

C. AURILIA, G. EGEO,
L. FOFI, S. PIROSO,
A. PESENTI

Il dolore è una delle prime cause di disabilità della popolazione mondiale. Una legge (n° 38 del 15/3/10) in Italia impone di riconoscere e trattare debitamente il dolore in ogni sua espressione ed in ogni ambito sanitario.

Il focus dell'area di ricerca è la rieducazione funzionale del dolore quando esso perda il proprio ruolo finalistico debordando stabilmente oltre la fisiologica funzione di protezione. Particolare attenzione è rivolta al dolore cefalico cronico, patologia che affligge il 4% degli individui della nostra Nazione, colpendo in particolare le fasce di età di massima produttività lavorativa e sociale ed i cui soli costi diretti ammontano a circa 2.900 euro per paziente per anno.

La ricerca traslazionale dell'area di ricerca mira a integrare le conoscenze genetiche e biologico-molecolari con i paradigmi clinici e strumentali, allo scopo di recuperare alla validità sociale e lavorativa questa non trascurabile porzione di popolazione. Essa si articola sui seguenti fronti:

a) Epidemiologico.

Tramite l'istituzione del registro nazionale delle cefalee croniche persegue finalità:

- clinico-assistenziali (identificazione dei soggetti affetti, accertamento di farmacoresistenza, garanzia di cura);
- economico-sanitarie (regolamentazione dell'accesso dei pazienti alle moderne procedure di cura-riabilitazione esercitando nel contempo un governo clinico sui diversi centri dislocati sul territorio nazionale);
- medico-legali (invalidità civile);
- scientifiche (creazione del primo data-base nazionale al mondo, studio di correlazione fenotipo-biotipo mediante biobanca e approccio di system-medicine).

b) Neurofisiologico.

- impiego dei potenziali evocati sensoriali laser per delineare e monitorare le alterazioni di sistemi nocicettivi in corso di dolore cronico primario o secondario (patologie neurologiche vascolari, traumatiche, infiammatorie, degenerative) e per valutare il network endogeno di controllo del dolore (DNIC: diffuse noxiousinhibitory control) allo scopo di orientare meglio i programmi di recupero funzionale;
- utilizzo dei sistemi di stimolazione elettrica non invasiva del nervo vago e del nervo sovra orbitario nel dolore cefalico cronico.

c) Genetico:

- identificazione di marcatori molecolari e genetici correlati alla evoluzione verso la cronicità del dolore neuropatico e neurovascolare, cercando una correlazione fenotipo-biotipo che permetta di personalizzare il programma riabilitativo e di predire la possibilità di recupero.

d) Farmacologico:

- attuazione di protocolli terapeutici con farmaci in sperimentazione clinica (anticorpi monoclonali anti CGRP/anti recettore per il CGRP; vaccini con l'Herpes Zoster).

AREE DI RICERCA

PNEUMOLOGIA
RIABILITATIVA

RESPONSABILE

VITTORIO CARDACI

STAFF

V. CONTI, E. STIRPE, S. DI
TORO, A. ZARZANA, E. LE-
MONTZI, C. POZZUTO, M.
BISCEGLIA

Si stima che nel 2020 11.9 milioni di decessi su 68 milioni a livello mondiale saranno causati da malattie polmonari (4.7 da Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva – BPCO - , 2.5 da polmonite, 2.4 da TB e 2.3 da carcinoma polmonare).

In termini di mortalità, incidenza, prevalenza e costi, le patologie polmonari si trovano al secondo posto a livello globale dopo le malattie cardiovascolari. In alcuni paesi (ad esempio il Regno Unito), esse costituiscono già la principale causa di decesso (fonte: European Lung Foundation, <http://www.it.european-lung-foundation.org/425-patologie-polmonari.htm>).

Per quanto riguarda in particolare la situazione italiana, nel mese di gennaio 2008 il Ministero della Salute pubblica la “Relazione sullo stato Sanitario del Paese 2005-2006”, nella quale dichiara che le malattie respiratorie “rappresentano per numerosità la 3° causa di morte in Italia, dopo le malattie dell’apparato circolatorio e le neoplasie. La bronchite cronica e l’asma colpiscono più del 20% della popolazione di età superiore ai 65 anni e rappresentano per questa fascia di popolazione la terza causa di patologia cronica, dopo l’artrosi/artrite e l’ipertensione (ISTAT, 2003)”. Il 50% dei decessi per cause respiratorie è attribuibile alla BPCO (ISTAT, Cause di Morte, 2002, 2005), ma l’effetto più drammatico di questa patologia si evince quando si considera che nei prossimi decenni essa è destinata a divenire la quinta causa di disabilità a livello mondiale, valutata in termini di DALYs -disability-adjusted life years (OMS, Ginevra). “In età geriatrica infatti la BPCO grave si associa a comorbidità e contribuisce in maniera significativa alla perdita di autosufficienza ed alla fragilità dell’anziano, specialmente a causa di importanti limitazioni dello stato funzionale, deterioramento cognitivo, problemi comportamentali e alterazioni del tono dell’umore. E’ evidente, quindi, che la patologia respiratoria cronica ostruttiva ha un grande impatto socio-economico sull’individuo ma anche sull’intera società soprattutto a causa dei ricoveri ospedalieri e di terapie complesse e costose (compresa l’ossigenoterapia domiciliare a lungo termine e la ventiloterapia domiciliare). Anche utilizzando una stima conservativa, alla BPCO viene attribuito almeno il 6% dell’intera spesa sanitaria italiana, la quota maggiore è rappresentata dalle ospedalizzazioni” (Ministero della, “Relazione sullo stato Sanitario del Paese 2005-2006”).

Tutto questo si traduce in un carico economico ed assistenziale enorme per la società: l’onere annuale delle malattie respiratorie in Europa è stimato essere approssimativamente pari a 102 miliardi di €, pari a 118 € pro capite. I fattori che presentano la maggiore incidenza su tale costo sono le giornate lavorative perse, pari a 48,3 miliardi di €, ossia il 47,4%, e l’assistenza ospedaliera dei pazienti, pari a 17,8 miliardi di €, ossia il 17,5%. L’assistenza ambulatoriale dei pazienti rappresenta un ulteriore costo pari a 9,1 miliardi di € (8,9%) e i farmaci prescritti aggiungono ulteriori 6,7 miliardi di € (6,6%). I ricoveri ospedalieri dovuti a patologie polmonari rappresentano un costo annuo totale di 17,8 miliardi di € (fonte: European Lung Foundation, <http://www.it.european-lung-foundation.org/425-patologie-polmonari.htm>).

La soluzione ideale per limitare gli effetti esponenziali di questo problema prevede, secondo il Ministero della Salute, un approccio su più fronti: “prevenire l’evoluzione della malattia, migliorare i sintomi, migliorare la tolleranza allo sforzo, migliorare la qualità della vita, prevenire e ritardare le complicanze, prevenire e ritardare le riacutizzazioni, ridurre la mortalità. In particolare, le linee guida più accreditate propongono per la BPCO e per una strategia terapeutica “a step”, in rapporto al livello di gravità della malattia. Si inizia dall’intervento preventivo, con l’eliminazione

dei fattori di rischio e si prosegue con l’introduzione e l’integrazione dei trattamenti farmacologici e non farmacologici (riabilitazione, ossigenoterapia domiciliare, ventilazione non invasiva, terapia chirurgica)”.

Complessivamente quindi, nel management delle patologie respiratorie croniche la pneumologia riabilitativa acquisisce un ruolo di primo piano, come diffusamente dimostrato dalla letteratura scientifica, non solo nei pazienti con BPCO ed insufficienza respiratoria cronica (American Thoracic Society/European Respiratory Society statement on pulmonary rehabilitation, Am J Respir Crit Care Med 2006; 173: 1390–413. The effects of respiratory training for chronic obstructive pulmonary disease patients: a randomised clinical trial, Journal of Clinical Nursing 2012; 21: 2870–2878. Treatment of chronic respiratory failure: lung volume reduction surgery versus rehabilitation, Eur Respir J 2003; 22: Suppl. 47, 47s–56s. Standards for Quality Care in Respiratory Rehabilitation in Patients With Chronic Pulmonary Disease, Arch Bronconeumol 2012; 48: 396–404.), ma anche nei pazienti sottoposti o destinati a sottoporsi ad un intervento di chirurgia toracica (riabilitazione respiratoria post- o pre-operatoria) (Chest physiotherapy revisited: evaluation of its influence on the pulmonary morbidity after pulmonary resection, European Journal of Cardio-thoracic Surgery 2011; 40: 130–135. Post-operative respiratory rehabilitation after lung resection for non-small cell lung cancer, Lung Cancer 2007; 57: 175–180. Preoperative evaluation of the lung resection candidate, Cleveland Clinic Journal of Medicine 2012; 79: e-S 17- e-S22.)

L’Area di ricerca ha aperto canali di cooperazione scientifica con centri di ricerca di rilevanza nazionale ed internazionale, orientando le proprie ricerche sull’approccio integrato alle patologie respiratorie causa di disabilità (infiammatorie e neoplastiche).

Sulla base di questo orientamento clinico-culturale è stata impostata una linea che prevede la pianificazione e l’attuazione di progetti di ricerca e strutturali e l’organizzazione di workshop e seminari, oltre che lo start-up della fase traslazionale vera e propria con il laboratorio di biologia cellulare e molecolare e di genomica armonico col trend di crescita istituzionale e con l’analogo settore cardiovascolare.

L’Area è altresì impegnata sul fronte della Formazione aziendale ed ECM oltre che in attività di fund raising.

L’Area inoltre pianifica e conduce trials di ricerca clinica sponsorizzata:

– Crystal (Novartis): Studio multicentrico, randomizzato, prospettico, in aperto, della durata di 12 settimane per valutare l’efficacia e la sicurezza di glicopirronio (50 microgrammi q.d.) o di indacaterolo maleato e glicopirronio bromuro in combinazione a dose fissa (110/50 microgrammi q.d.) relativamente ai sintomi e allo stato di salute in pazienti con BPCO moderata che passano a tali trattamenti dal trattamento con qualsiasi regime standard per la BPCO .

– Sprint (Teva): studio osservazionale di fase IV, multicentrico mondiale in pazienti affetti da BPCO ed Asma in terapia con farmaci inalatori in associazione fissa, sul controllo della malattia e sul raggiungimento degli obiettivi terapeutici .

– Novelty (Astra Zeneca): studio osservazionale in pazienti affetti da Asma e BPCO per descrivere le caratteristiche dei pazienti, i pattern di trattamento e l’aggravamento delle patologie nel tempo per identificare fenotipi ed endotipi.

– Studio erogatori ossigeno (in collaborazione con Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive Università Sapienza Roma): Studio delle contaminazioni microbiche e polimicrobiche a carico degli erogatori di ossigeno utilizzati in riabilitazione respiratoria.

– Studio Tapse: valutazione dell’impatto della disfunzione del ventricolo destro sulla tolleranza all’esercizio e i cambiamenti risultanti dall’allenamento nei pazienti affetti da BPCO durante la riabilitazione respiratoria.

– Effetto di Fluticasone/Formeterolo su pazienti BPCO in riabilitazione respiratoria (Mundipharma): Studio osservazionale sul monitoraggio dei parametri funzionali di riabilitazione respiratoria, tolleranza allo sforzo fisico e Qualità di vita in pazienti affetti da BPCO con recente riacutizzazione.

– Studio eparina: studio clinico sulla somministrazione di eparina non frazionata nebulizzata in pazienti con BPCO.

– Studio piattaforma: applicazione di un approccio di systems medicine alla valutazione di aspetti terapeutici e riabilitativi in pazienti affetti da malattie non trasmissibili: implementazione di una piattaforma integrata di dati clinici, epidemiologici e biologici.

AREE DI RICERCA

AREA
CARDIOVASCOLARE

CENTRO DI RICERCA
CLINICA E SPERIMENTALE

RESPONSABILE

MAURIZIO VOLTERRANI

GIUSEPPE ROSANO

STAFF

A. ARMANI, D. BATTAGLIA, F. CACCIAPUOTI, G. CAMPOLONGO, M. CAPRIO, F. CARETTA, V. D'ANTONI, MR DI NAPOLI, L. GATTA, S. GORINI, F. IELLAMO, A. FERACO, E. LIPPI, C. MAMMI, R. MASSARO, V. MARZOLLA, F. MOLINARI, E. FERRARO, R. POSCIA, N. PUNZO, D. SANTINI, B. SPOSATO, I. SPOLETINI, C. VITALE, L. VITIELLO, CD. VIZZA.

L'Area di ricerca focalizza la ricerca sui meccanismi di recupero funzionale delle malattie cardiovascolari e cerebrovascolari.

Le principali linee di ricerca riguardano i seguenti ambiti:

1. Clinico/ Gestionale - Riabilitazione in malattie cardiovascolari con particolare attenzione a :
 - Meccanismi di recupero funzionale della patologia cronica e disabilitante: analisi dei determinanti di outcome;
 - Sistemi innovativi di prevenzione/controllo e promozione della salute, con un interesse specifico per i sistemi di telemedicina e robotica nella riabilitazione: implementazione e validazione di sistemi di teleassistenza e teleriabilitazione in pazienti;
 - Modelli organizzativi e gestionali delle disabilità in riabilitazione: implementazione di modelli di "Integrated Care" di gestione delle malattie croniche in ambito territoriale.
2. Ambito cardiologico Clinico:
 - Modelli e percorsi riabilitativi: esercizio fisico e modalità innovative di riallenamento allo sforzo. Sviluppo e validazione di device e modalità di training fisico dedicati;
 - Individuazione di nuovi biomarkers e loro validazione come indicatori di outcome in cardiopatia ischemica, valvolare e scompenso cardiaco;
 - Terapie farmacologiche e device innovativi nel trattamento di pazienti per la prevenzione primaria e secondaria delle malattie cardiovascolari;
 - Nuovi percorsi educazionali in ambito di stile di vita e compliance terapeutica;
 - Modelli organizzativi innovativi per la continuità assistenziale : telemonitoraggio, teleriabilitazione .

Il Centro di Ricerca Clinica e Sperimentale è interessato a valutare gli effetti dell'esercizio fisico da solo o in associazione a terapie patogenetiche sul recupero funzionale e metabolico. Negli ultimi anni sono state intraprese attività di ricerca in ambito clinico e sperimentale che rivestono un ruolo fondamentale nell'identificare il determinismo del danno d'organo e nell'investigare meccanismi di recupero funzionale dopo riabilitazione, quali: le nuove strategie nella ottimizzazione

del metabolismo cardiaco, l'interazione tra tessuto adiposo e danno vascolare, la neo-angiogenesi, l'apoptosi miocardica e vascolare e l'infiammazione cardiovascolare e sui meccanismi molecolari alla base della riparazione del danno funzionale.

Attualmente le linee di ricerca si basano sulla valutazione dell'effetto della terapia fisica da sola o in associazione a terapie specifiche in patologie determinanti disabilità:

- Meccanismi di recupero funzionale della patologia cronica e disabilitante: analisi dei determinanti di outcome. Meccanismi fisiopatologici del training fisico nel recupero di organi ed apparati sede di malattia cronica, con particolare attenzione all'aspetto molecolare e cellulare nell'evoluzione della patologia potenzialmente disabilitante attraverso l'utilizzo di modelli cellulari ed animali, normali e transgenici, di modelli controllati di danno subletale e di modelli di patologia umana e cronica che necessitano di recupero funzionale della disabilità. Effetti delle comorbidi-tà cardio-respiratorie ed endocrinometaboliche nel raggiungimento dell'outcome riabilitativo. Ruolo del training fisico e della sua associazione con presidi farmacologici sulle alterazioni metaboliche e funzionali nelle patologie croniche ed invalidanti. Studio delle differenze di genere nel rischio cardiovascolare e impatto del fattore età nel ricevere trattamento adeguato per le malattie cardiovascolari.
- Utilizzo di sistemi telemedicali in ambito riabilitativo territoriale. Implementazione e validazione di sistemi di teleassistenza/teleriabilitazione in gruppi di pazienti affetti da patologie croniche ed altamente invalidanti attuati in regime intra ed extra-ospedaliero. Gestione di programmi di training fisico con monitoraggio dei parametri vitali al domicilio del paziente.

In linea con l'attività di ricerca clinica, la ricerca preclinica svolta nel laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare si occupa di studiare meccanismi fisiopatologici, metabolici e molecolari in organi rilevanti ai fini della riabilitazione in malattie cardiovascolari/ neurodegenerative/ polmonari e di validare strumenti farmacologici in supporto della funzionalità di tali organi.

In particolare il laboratorio si occupa dell'organo adiposo, dell'endotelio e del muscolo scheletrico

1) Organo adiposo ed endotelio.

Nel corso degli ultimi anni, sono stati chiariti diversi aspetti del ruolo di MR nell'infiammazione endoteliale, nella funzione adipocitaria e nella sindrome metabolica. La ricaduta assistenziale è immediata, in quanto il recettore è implicato direttamente nello sviluppo dell'obesità, dell'ipertensione e delle sindromi coronariche acute. La conoscenza dettagliata dei meccanismi fisiopatologici alla base della disfunzione del sistema mineralcorticoide è fondamentale nello sviluppo di nuove strategie terapeutiche e riabilitative nell'obesità, nell'ipertensione e nelle cardiopatie.

2) Muscolo scheletrico

L'obiettivo principale degli studi condotti sul muscolo scheletrico dal laboratorio è l'analisi dell'effetto di molecole che funzionano come modulatori del metabolismo sulla funzionalità e sulla massa muscolare, nell'ottica di un loro possibile utilizzo nel trattamento di pazienti con disordini caratterizzati da perdita della massa muscolare (scompenso cardiaco, broncopneumopatia cronico-ostruttiva - BPCO, cancro ecc..) e nel corso dell'invecchiamento.

AREE DI RICERCA

CENTRO DI RICERCA
CLINICA E SPERIMENTALE

RESPONSABILE

GIUSEPPE ROSANO

STAFF

A. ANTELMI, D. ARESTIA,
A. ARMANI, P. BARATTA,
G. CAMPOLONGO, M.
CAPRIO, V. D'ANTONI, A.
DI LUCCIO, L. GATTA, S.
GORINI, F. IELLAMO, A. LA
SALA, C. MAMMI, V. MAR-
ZOLLA, M. MASTRANTONI,
R. MELCHIONNA, G. NAS-
SO, N. PUNZO, I. SPOLETI-
NI, C. VITALE, L. VITIELLO,
CD. VIZZA.

Le linee di ricerca del Dipartimento di Scienze Internistiche sono incentrate sui meccanismi di recupero funzionale delle malattie cardiovascolari, cerebrovascolari. La attività di ricerca del Dipartimento sono coordinate dal Centro di Ricerca Clinica e Sperimentale. Tali attività sono volte, in particolare, alla valutazione degli effetti dell'esercizio fisico da solo o in associazione a terapie patogenetiche sul recupero funzionale e metabolico.

Le attività di ricerca sia clinica che sperimentale sono state rivolte verso la identificazione dei meccanismi responsabili del danno d'organo nei pazienti con malattie croniche evolutive e particolarmente quelle cardiovascolari e nell'investigare meccanismi di recupero funzionale associati con i processi riabilitativi, quali le nuove strategie nella ottimizzazione del metabolismo cardiaco, l'interazione tra tessuto adiposo e danno vascolare, la neo-angiogenesi, l'apoptosi miocardica e vascolare e l'infiammazione cardiovascolare e sui meccanismi molecolari alla base della riparazione del danno funzionale. Particolare interesse è stato rivolto a patologie croniche debilitanti ad alto impatto sociale come lo scompenso cardiaco.

Le linee di ricerca del Dipartimento di Scienze Internistiche sono rivolte alla valutazione dell'effetto della terapia fisica da sola o in associazione a terapie specifiche in patologie determinanti disabilità:

- Meccanismi di recupero funzionale della patologia cronica e disabilitante: analisi dei determinanti di outcome. Meccanismi fisiopatologici del training fisico nel recupero di organi ed apparati sede di malattia cronica, con particolare attenzione all'aspetto molecolare e cellulare nell'evoluzione della patologia potenzialmente disabilitante attraverso l'utilizzo di modelli cellulari ed animali, normali e transgenici, di modelli controllati di danno subletale e, di modelli di patologia umana e cronica che necessitano di recupero funzionale della disabilità. Effetti delle comorbidi-tà cardio-respiratorie ed endocrinometaboliche nel raggiungimento dell'outcome riabilitativo. Ruolo del training fisico e della sua associazione con presidi farmacologici sulle alterazioni metaboliche e funzionali nelle patologie croniche ed invalidanti. Studio delle differenze di genere nel rischio cardiovascolare e impatto del fattore età nel ricevere trattamento adeguato per le malattie cardiovascolari.
- Utilizzazione di sistemi telemedicali in ambito riabilitativo territoriale. Implementazione e validazione di sistemi di tele-assistenza in gruppi di pazienti affetti da patologie croniche ed altamente invalidanti attuati in regime extra-ospedaliero. Gestione di programmi di training fisico con monitoraggio dei parametri vitali al domicilio del paziente.

AREE DI RICERCA

EPIDEMIOLOGIA
CLINICA E
MOLECOLARE

RESPONSABILE

STEFANO BONASSI

STAFF

S. BOCCIA, V. DALL'ARMI, A. DEL BUFALO, A. FRUSTACI, F. INFARINATO, M. MILIC, R. MORONI, M. NERI, G. PRINZI, P. RUSSO, G. SALINARO

L'attività di ricerca di questa Area è caratterizzata da una visione di insieme sulla patogenesi e sul trattamento delle principali malattie non trasmissibili. La denominazione dell'Area è stata cambiata divenendo Epidemiologia Clinica e Molecolare e riassume competenze ed interessi che spaziano dalla prevenzione alla gestione clinica del paziente, incluso il trattamento farmacologico e, particolarmente, quello riabilitativo.

Per affrontare il duplice impegno di operare sugli eventi precoci delle malattie e sulla parte di interazione con il paziente, l'area è strutturata in due gruppi: a) il laboratorio di Epidemiologia Molecolare e b) l'Unità di Epidemiologia Clinica e Biostatistica. Nel primo vengono esplorati i meccanismi molecolari delle malattie, con particolare attenzione agli aspetti di suscettibilità e di danno genomico precoce, mentre il gruppo di Epidemiologia Clinica e Biostatistica, nel contesto della Direzione Scientifica, fornisce il contributo alla progettazione ed analisi degli studi condotti all'interno dell'area, oltre a fornire un servizio di assistenza a tutte le strutture del San Raffaele nella pianificazione ed analisi statistica degli studi clinici.

L'Area di Epidemiologia Clinica e Molecolare è basata su una componente clinica, per lo più in ambito pneumologico. L'approccio utilizzato è prevalentemente traslazionale in modo da consentire l'integrazione fra valutazioni di ambito prettamente molecolare e l'outcome clinico.

Il consolidamento di collaborazioni esterne con centri di rilevanza internazionale per la Ricerca di Base (biologia molecolare e cellulare) in bronco-pneumologia ha permesso un significativo incremento dei prodotti di ricerca relativi a questa componente. L'esperienza acquisita nel corso di queste collaborazioni, unitamente alla programmazione di progetti di ricerca prospettici e condivisi, rende possibile l'estensione della metodologia finora utilizzata in campo pneumologico ad attività di ricerca traslazionale, anche in altri campi, quali quello cardiologico, delle patologie neurodegenerative, ed in patologie psichiatriche. Ne è un esempio l'attività di ricerca di marcatori molecolari (pattern di infiammazione e stress ossidativi) di outcome e correlazione tra la BPCO e la patologia cardiovascolare, ma anche il ruolo di questi meccanismi nella patogenesi di alcune patologie psichiatriche quali l'autismo.

A partire dal 2013, l'Area di Ricerca ha intrapreso un sostanziale impulso verso la Medicina della Complessità dotandosi di una Piattaforma di dati clinico-epidemiologici associata ad una repository di materiale biologico, denominata San Raffaele Respiratory Diseases Platform, improntata ai principi della Systems Biology e Systems Medicine.

Le attività in quest'ambito sono supportate dalla standardizzazione clinica e dall'attività di laboratorio volta ad ottimizzare la gestione delle risorse a disposizione con una pianificazione che consente lo sviluppo di piani adeguati di trasferimento tecnologico di conoscenze di valore in ambito commerciale. Tale attività è stata allargata a livello Europeo, con alcuni passi di rilievo quali l'inserimento dell'IRCCS san Raffaele Pisana fra i soci fondatori dell'Istituto Europeo di Systems Biology e Systems Medicine, con sede a Lione, Francia. Fra gli scopi principali di questa attività vi è la descrizione dell'outcome riabilitativo con un'ottica di systems medicine, dando quindi rilevanza alla personalizzazione dei risultati ed al coinvolgimento del paziente nelle scelte terapeutiche. Sempre con un approccio personalizzato, la valutazione dei fattori predittivi della risposta

riabilitativa avviene in funzione del singolo paziente, raccogliendo un notevole quantitativo di informazioni, legate sia allo stile di vita che alla compresenza di altre patologie croniche. In ultimo sono stati presentati quest'anno due progetti che ricostruiscono la storia espositiva dei pazienti con BPCO (Exposomics) per valutarne il ruolo nella progressione e severità della patologia.

Gli interessi scientifici del gruppo includono gli aspetti di potenziale trasferibilità (tecnologica e gestionale) verso il Sistema Sanitario Regionale. In quest'ambito l'interesse del gruppo è anche testimoniato dalla partecipazione ad un progetto finanziato dal Centro per il Controllo delle Malattie (CCM) del Ministero legato alla identificazione, codifica e management clinico organizzativo della complessità in medicina.

La collaborazione scientifica con il reparto di riabilitazione respiratoria si realizza anche tramite l'attività di ricerca clinica sponsorizzata centrata essenzialmente sulla valutazione della fattibilità, sicurezza ed efficacia di trattamenti farmacologici investigativi. I reparti di riabilitazione respiratoria sono stati coinvolti in diversi studi prestigiosi, fra cui uno monocentrico dedicato alla sperimentazione dell'eparina in pazienti con BPCO i cui risultati potrebbero dare una svolta importante alla terapia della BPCO.

L'area di Ricerca ha espresso inoltre un importante impegno nel campo della geriatria, con particolare attenzione alla appropriatezza delle prescrizioni farmaceutiche negli anziani. Quest'attività si è svolta in collaborazione con AIFA, tramite la partecipazione alle attività del Geriatric Working Group e utilizzo dei dati OsMed che ha portato alla pubblicazione di un lavoro nel quale sono stati individuati 13 indici di inappropriatezza che hanno dimostrato come una larga parte di questa popolazione riceva terapie non appropriate (Onder et al, J Gerontol A Biol Sci Med Sci., 2014). Un altro importante progetto in ambito geriatrico è il progetto Sc@rabeo, un database multidimensionale mirato a raccogliere e gestire dati (attualmente solo clinici) da tutti i pazienti geriatrici ricoverati nelle RSA del gruppo (oltre 1200 posti letto). Questa attività è stata condotta in collaborazione con un gruppo nazionale di ricerca geriatrica nell'ambito di due progetti AIFA. Nel corso dell'anno è stato inoltre concluso e pubblicato uno studio mirato ad identificare i predittori genomici, epigenomici e immunologici della fragilità, una condizione fortemente associata alla disabilità e alla mortalità la cui prevenzione e trattamento è in grado di migliorare consistentemente qualità e durata della vita nell'anziano.

In particolare sono stati pubblicati dati sul ruolo dei telomeri (Marzetti et al., Front Aging Neurosci, 2014). Sempre con lo stesso set di dati sulla fragilità sono in corso analisi per valutare il ruolo del danno al DNA (Università di La Coruña, Spagna) e del proteoma, valutato con analisi calorimetriche (Università di Louisville, USA).

Infine quest'anno il responsabile dell'area è stato nominato dal Ministero come rappresentante Italiano nel comitato di coordinamento di un progetto COST dedicato all'ageismo, il cui PI è la Prof.ssa Lyat Ayalon, dell'Università Bar Ilan, Israele.

A) Laboratorio di Epidemiologia Clinica e Molecolare

Nel corso dell'anno si sono conclusi e sono proseguiti vari studi di popolazione. Conclusi i due grandi studi GWAS, è proseguita la raccolta dei campioni e delle informazioni dei soggetti esposti ad amianto, come previsto dal protocollo dello studio finanziato da un grant INAIL. Il progetto, coordinato dalla unità in collaborazione con le Università di Genova, Firenze, e Pisa si è concluso a settembre ed i dati sono in corso di analisi.

Le attività di questo gruppo di maggior rilievo consistono nel coordinamento epidemiologico di due progetti collaborativi internazionali, rispettivamente sull'instabilità genomica (HUMN) e sul danno al DNA (ComNet). Sebbene avviato da molti anni il progetto HUMN (Human Micro-nucleus) continua a produrre evidenze. Nel corso dell'anno in particolare è stato pubblicato un articolo che affronta in dettaglio tutte le problematiche relative all'uso del test del micronucleo nei linfociti periferici (Kirsch-Volders et al., Rev Mutat Res, 2014). Contemporaneamente è in corso la stesura di uno special issue sull'uso del test del Micronucleo per monitorare l'esposizione occupazionale e ambientale. HUMN ha un data set di circa 12.000 persone e coinvolge circa 50

laboratori internazionali che collaborano alle attività proposte dallo steering committee (www.HUMN.org). Il secondo progetto è dedicato alla validazione del test della Cometa. Si tratta di un saggio di danno e riparo del DNA molto usato in studi di popolazione e sempre più anche in clinica. Il progetto ComNet (www.comnetproject.org) lanciato nel 2013 coinvolge circa 100 laboratori in tutto il mondo con un dataset potenziale di alcune decine di migliaia di soggetti.

B) Unità di Epidemiologia Clinica e Biostatistica

L'attività dell'Unità si è prevalentemente concentrata sulla funzione di supporto metodologico alle diverse strutture del San Raffaele o esterne, incluso varie realtà internazionali. Sono stati analizzati e pubblicati studi con le unità di Riabilitazione Respiratoria, Cardiologica, e Neurologica. Con il Centro dedicato alla malattia di Parkinson e ai disturbi del movimento sono stati avviati studi epidemiologici sul ruolo della familiarità e dei fattori di rischio occupazionali in pazienti affetti da morbo di Parkinson, finanziati tra gli altri da un grant INAIL. Con il Centro dedicato allo studio delle cefalee e del dolore sono stati analizzati dataset clinici di pazienti con cefalea oltre alla stesura di una review sul ruolo del danno ossidativo come possibile marcatore della patologia. Una importante attività del gruppo degli statistici è legata alle analisi bibliometriche. Si tratta di un settore di grande importanza che, tramite una analisi mirata della letteratura, permette di quantificare e caratterizzare la produzione scientifica in un settore e orientare le scelte dei ricercatori. Temi recenti sono stati: la produzione scientifica in riabilitazione respiratoria, in oncologia, in cardiologia e per le malattie neurodegenerative. Da alcuni anni si è consolidato il ruolo del gruppo degli statistici come consulenti per l'analisi di studi (specialmente di epidemiologia molecolare) di grande complessità. Ad esempio, in questi ultimi due anni ricercatori dall'Istituto di igiene pubblica di Porto, Portogallo e dell'Università di Coruña, Spagna, hanno trascorso alcuni mesi a Roma per analizzare i loro dati. Questa attività ha generato una intensa produzione scientifica.

Tutto il gruppo è da tempo attivamente impegnato in attività di formazione. A fronte di impegni nella realizzazione di corsi FAD quali, ad esempio, il corso sulla appropriatezza prescrittiva in pazienti anziani per il progetto ELICADHE in collaborazione con l'Istituto Mario Negri di Milano, vi è l'organizzazione di corsi residenziali di Epidemiologia molecolare per PostDoc e studenti PhD in Italia e vari altri paesi (es. Portogallo, Turchia, Spagna). A questi eventi si aggiunge l'impegno in corsi permanenti come il master in Epidemiologia dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma e, più recentemente, l'incarico da parte della FIMMG di formare i Medici di Famiglia su temi epidemiologici e statistici.

AREE DI RICERCA

DISABILITÀ
DELLO SVILUPPO

RESPONSABILE

GIORGIO ALBERTINI

STAFF

G. BRUNNER, C. CONDOLUCI, A. CORBELLINI, E. CHIODI, G. DI GIROLAMO, M. GALLI, E. GIULITTI, M. JANICKI, G. LA MALFA, L. MAJOLINI, P. ONORATI, G. ORSINI, C. THELLUNG, N. TENORE.

Il Dipartimento di Scienze delle Disabilità Congenite ed Evolutive Motorie e Sensoriali dell'IRCCS San Raffaele Pisana ha svolto nella propria attività di ricerca in continuità con gli anni precedenti incentrandola prevalentemente sullo studio in vivo del movimento, con particolare riferimento allo studio dello stesso sia dal punto di vista biomeccanico, sia come funzione cognitiva. Nello specifico, si pone attenzione alle funzioni neuropsicologiche di base, come le funzioni esecutive e le prassie. Di particolare rilevanza sono gli studi sui correlati neurofisiologici e neurobiologici delle Disabilità Intellettive e dei Disturbi Specifici dell'Apprendimento.

E' stato ulteriormente sviluppato il modello di cartella clinica informatizzata centrata sul bambino e sulla persona secondo un approccio multidisciplinare nella prospettiva life span.

AREE DI RICERCA

ORGANIZZAZIONE E
GESTIONE DEI SERVIZI

RESPONSABILE

NATALE SANTUCCI

STAFF

E. PASCAZIO

La gestione della persona con malattia cronica e con disabilità necessita di protocolli e linee guida definite e condivise.

La Clinical Governance, intesa come razionalizzazione e organizzazione della diagnosi e della terapia per il miglioramento continuo della qualità dei servizi e il raggiungimento e mantenimento di standard assistenziali elevati, deve integrarsi in modo sinergico con la presa in carico globale del paziente successiva a stesura e aggiornamento dei percorsi diagnostico-terapeutici, con la cura globale del malato con protocolli malattia-specifici.

In questa cornice, la gestione del rischio clinico (Risk Management), la creazione di un sistema integrato informatizzato che razionalizzi il processo assistenziale e garantisca la compliance ai vincoli legislativi, la valutazione della performance ed infine il governo clinico sono stati individuati quali argomenti centrali attorno ai quali avviare una serie di progetti di ricerca volti all'individuazione e alla valutazione degli aspetti essenziali al miglioramento della qualità dei trattamenti - dall'accezione più prettamente organizzativo-gestionale a quella più specificamente clinico-riabilitativa.

Nel corso del 2015 è stato stilato il Regolamento Controllo Comitato Infezioni Ospedaliere (C.C.I.O.) e sono stati formulati i Piani Aziendale di Risk Management (PARM) rispettivamente per la San Raffaele SpA (il cui responsabile è il Professore Natale Santucci) e per la San Raffaele Roma Srl (il cui responsabile è il Professore Ugo Luigi Aparo).

AREE DI RICERCA

BIOTECNOLOGIE
AVANZATE

RESPONSABILE

FIORELLA GUADAGNI

STAFF

D.DELLA MORTE,
P.FERRONI, F. LA FA-
RINA, R.PALMIROTTA,
M. G. VALENTE

Le malattie croniche disabilitanti rappresentano uno dei problemi più visibili di salute pubblica, costituendo circa il 50% del carico totale mondiale di malattie. La comprensione degli aspetti genetici, cellulari e molecolari alla base di tali patologie è notevolmente migliorata negli ultimi anni grazie all'introduzione di biotecnologie in grado di valutare a fondo i meccanismi etiopatogenetici e di identificare nuovi fattori in grado di influenzare la risposta al trattamento riabilitativo, nonché il recupero e la qualità di vita di pazienti con patologie croniche disabilitanti.

In tale contesto, si collocano i progetti di ricerca corrente afferenti all'Area di Biomarker Discovery e Biotecnologie Avanzate (BioDAT), grazie anche alla disponibilità di un numero significativo di campioni biologici conservati nella BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (Progetto BioBIM) che garantiscono la fattibilità di studi di biomarker discovery. In particolare, l'applicazione clinica di tecniche di genomica, farmacogenomica e l'analisi di modelli di rischio potrebbe rivelarsi estremamente utile all'inquadramento prognostico per la valutazione del rischio di insorgenza di patologie future, per un'accurata predizione della risposta al trattamento farmacologico e/o della possibile insorgenza di effetti indesiderati, così da permettere l'applicazione in tempi rapidi di protocolli terapeutici ottimizzati per ogni singolo paziente ed un uso razionalizzato dei farmaci. Contestualmente, il rapido avanzamento di queste tecniche ha portato ad una rapida crescita della quantità di dati biologici, biomedici ed epidemiologici prodotti in flussi diagnostici o di ricerca. Pertanto, la biologia moderna presenta ora nuove sfide in termini di gestione ed analisi dei dati. Le caratteristiche principali di queste nuove sorgenti di informazioni sono il formato digitale, l'elevatissimo numero di record raccolti, il superamento del concetto di "campionamento statistico" a favore della raccolta ed analisi sistematica e completa di "tutti" i dati e la ricerca euristica di correlazioni tra fenomeni per la costruzione di modelli predittivi.

Questi tipi di dati sono definiti "Big Data", per la cui definizione non è più sufficiente la sola dimensione, ma anche altre caratteristiche che gli esperti riassumono nel paradigma delle 5V (Volume, Velocità, Varietà, Variabilità e Viralità), caratteristiche riassumibili in una sola altra "V" che sta per Valore. E', infatti, la capacità di comprendere e gestire adeguatamente tutti questi aspetti dei "Big Data" che consente di estrarne il loro valore. Il tema Big Data è molto vasto e le sue applicazioni spaziano dalla ricerca alla sicurezza del dato informatico. In questo contesto, l'attività di ricerca dell'Area BioDAT è incentrata su due aspetti fondamentali nella loro gestione: applicazione di tecniche di Intelligenza Artificiale alla biomedicina traslazionale e alla sanità pubblica e l'analisi di alcuni aspetti regolatori in tema di privacy e consenso informato.

Progetto BioBIM: BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM)

Il notevole sviluppo delle biotecnologie ha determinato un parallelo avanzamento delle conoscenze ed un consequenziale progresso nel settore della biomedicina. Alcuni settori hanno visto il maggior sviluppo per quanto riguarda il trasferimento dalla ricerca di base alla applicazione clinica.

Considerate le potenzialità applicative di questi settori, si può comprendere il notevole interesse della ricerca biomedica nei confronti delle "Banche Biologiche". Infatti, il rapido successo di molti studi è unicamente possibile grazie alla disponibilità di campioni biologici di persone affette, portatrici, o predisposte a patologie su base genetica o ambientale, o che manifestano variabilità

alla risposta dei farmaci, possibilmente in comparazione a gruppi di controllo appaiati. Pertanto, la disponibilità di campioni biologici ha oggi assunto un ruolo cruciale nel campo della ricerca biomedica, da quella di base a quella finalizzata, dalla comprensione dei meccanismi etio-patogenetici, dei fattori prognostici/predittivi, e dei parametri diagnostici, alla suscettibilità alla terapia. La Biobanca InterIstituzionale Multidisciplinare (BioBIM) dell'IRCCS San Raffaele Pisana è, secondo la definizione attuale, una "unità di servizio, senza scopo di lucro, finalizzata alla raccolta e alla conservazione di materiale biologico umano utilizzato per diagnosi, per studi sulla biodiversità e per ricerca". Essa rappresenta un centro di riferimento interistituzionale, in quanto consente la partecipazione a strutture periferiche che non dispongono delle infrastrutture dedicate. La BioBIM rappresenta, pertanto, un network di strutture sanitarie pubbliche e private, ognuna di esse punto di riferimento e di eccellenza nel settore specifico, che ha determinato la possibilità di realizzare nel corso del tempo numerosi progetti di ricerca traslazionale interistituzionali, cui ha fatto seguito una considerevole produzione di pubblicazioni scientifiche su riviste internazionali.

Attualmente afferiscono alla BioBIM alcune Strutture Sanitarie e di Ricerca: Sovrano Ordine Militare dei Cavalieri di Malta (ACISMOM), Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini di Roma, ASL 2 di Salerno, Azienda Ospedaliera "Complesso Ospedaliero San Giovanni Addolorata" di Roma, l'area vasta Romagna e I.S.T., la Stroke Unit dell'Università degli studi di Perugia, Casa di Cura del Policlinico di Milano ed il San Raffaele Cassino. In tale ottica sono state stipulate apposite convenzioni nelle quali sono formalizzate modalità e criteri per:

- raccogliere, identificare e gestire i campioni conferendoli alla BioBIM IRCCS San Raffaele Pisana o conservarli presso la sede di raccolta, qualora la struttura sia idonea alla funzione
- trasferire i dati inerenti i campioni e tutte le informazioni ad essi associate alla BioBanca IRCCS San Raffaele Pisana nel rispetto della tutela dei dati personali (D.lgs 196/2003 e successive raccomandazioni del Garante)
- assicurare il rispetto delle procedure (in particolare somministrazione del consenso informato approvato dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana e dal Comitato Etico dell'Istituzione partner).

Grazie a questa rete interistituzionale, la BioBIM dell'IRCCS San Raffaele Pisana include, oltre ad una popolazione di controllo costituita da soggetti apparentemente sani, i campioni delle patologie/discipline di maggiore rilievo nel settore della Sanità, al fine di studiare i processi etio-patogenetici nella loro complessità e dinamicità (Patologie Cardiovascolari e Respiratorie, Patologie Neurodegenerative, Patologie Oncologiche, Patologie dello sviluppo motorio e cognitivo, Patologie Rare).

COLLABORAZIONI SCIENTIFICHE:

- Università di Roma "Tor Vergata", UOSD Oncologia Medica, Dip. Medicina dei Sistemi
- Università di Roma "Tor Vergata", Dip. Ingegneria dell'Impresa "Mario Lucentini"
- Sapienza Università di Roma, Dipartimento di Scienze Cardiovascolari
- Università "G. D'Annunzio" Chieti - Pescara, Dipartimento di Medicina Interna
- National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA
- Laboratory of Tumor Immunology and Biology, diretto dal Dr. Jeffrey Schlom (Consultant, Prof. Guadagni).

AREE DI RICERCA

DIAGNOSTICA PER
IMMAGINI

RESPONSABILE

ALBERTO PIERALLINI

STAFF

M. DE SANTIS, E. FERONE,
G. SIMONELLI,
C. SETTECASI,
D. VRICELLA

I principali campi di interesse dell'area di ricerca sono legati alla riabilitazione neurologica e cardiologica e sono focalizzati soprattutto sulla diagnosi e sull'individuazione di eventuali fattori prognostici dell'outcome riabilitativo neurologico, cardiovascolare e dell'età evolutiva.

A tal fine, il principale campo di ricerca è quello sullo studio della morfo-volumetria cerebrale e dello spessore corticale nei pazienti affetti sia da Sindrome di Down che da patologie neurodegenerative dell'adulto quali la malattia di Alzheimer, la paralisi sopranucleare progressiva, il morbo di Parkinson e le malattie demielinizzanti quali la sclerosi multipla. Allo studio puramente morfologico si è aggiunto nel corso del tempo, anche lo studio funzionale e trattografico. Tali ricerche vengono effettuate in collaborazione sia con strutture interne all'Istituto, che esterne quali l'Università degli Studi di Roma Sapienza e la II Facoltà di Medicina e Chirurgia.

Dal punto di vista cardiologico, la presenza di una TC 64 slices con tecnica "dual source" consente la valutazione dell'albero coronarico in modo non invasivo in pazienti affetti da coronaropatia, sospetta o accertata nonché la valutazione della volumetria cardiaca in pazienti con disfunzione ventricolare e studi di perfusione.

La Risonanza Magnetica fornisce in aggiunta i dati perfusionali, consentendo di individuare con precisione sede ed estensione delle aree infartuate. L'insieme dei dati provenienti dalla TC e dalla RM viene utilizzato nell'attività di ricerca in ambito cardiologico, principalmente indirizzata all'outcome riabilitativo.

LABORATORIO

BRAIN CONNECTIVITY

RESPONSABILE

FABRIZIO
VECCHIO

STAFF

F. MIRAGLIA

Il laboratorio si occupa della valutazione dei network cerebrali attraverso lo studio della connettività funzionale, strutturale ed effettiva.

L'attività è specificatamente rivolta alla valutazione delle modulazioni di questi network dovuti a patologie neurodegenerative e non (come, ad esempio, in pazienti affetti da Alzheimer, epilessia, sclerosi multipla, Parkinson, Stroke) come anche al trattamento terapeutico e di riabilitazione motoria o cognitiva (ad esempio in Alzheimer, Stroke, etc).

Le metodiche di acquisizione utilizzate sono: dati elettroencefalografici (EEG) anche ad alta risoluzione, dati di risonanza magnetica sia strutturale (MRI) che funzionale (fMRI), registrazioni simultanee di dati elettroencefalografici e stimolazione elettrica e magnetica (EEG-TMS, EEG-tDCS, EEG-tACS).

Le maggiori innovazioni apportate dalle ricerche riguardano principalmente l'approccio multimodale alla patologia e l'integrazione tra dati di origini diverse (come quelli elencati), ma sono relative anche alla registrazione durante il movimento. Inoltre, con il supporto della Gait analysis, i dati provenienti da test neuropsicologici e clinici permettono una correlazione con le valutazioni neurofisiologiche per seguire il paziente durante la progressione della malattia o il recupero funzionale e cognitivo. Ciò è reso possibile anche dall'utilizzo di nuovi approcci di riabilitazione come quelli legati a compiti cognitivi e stimolazioni magnetiche ed elettriche, mirati allo specifico recupero cognitivo di determinate aree cerebrali.

Tutto ciò è ottenuto grazie a l'utilizzo di moderne tecniche di analisi che vengono utilizzate nel Laboratorio, come le valutazioni delle sorgenti corticali cerebrali, la loro interazione funzionale e le loro interconnessioni strutturali, ma anche grazie allo sviluppo e all'implementazione di nuovi algoritmi di calcolo basati su applicazioni d'avanguardia della teoria dei grafi.

Il laboratorio inoltre è impegnato nella disseminazione dei risultati ottenuti dagli studi mediante la stesura pubblicazioni scientifiche su riviste internazionali e tramite la partecipazione a congressi scientifici del settore.

LABORATORIO

BIOINGEGNERIA DELLA
RIABILITAZIONE

RESPONSABILE

FRANCESCO INFARINATO

STAFF

FEDERICA RIZZA, PAOLA
ROMANOTIROCINANTI: ANTONIA
MONTERA, LUCA FORTINI

Il Laboratorio di Bioingegneria della Riabilitazione si occupa della gestione di progetti di ricerca nazionali e internazionali su innovazione, e-health, ambient assisted living, teleriabilitazione e telemonitoraggio.

Tra le attività principali inoltre rientrano: la stesura di protocolli per la ricerca in riabilitazione neuromotoria e robotica riabilitativa, l'analisi dei dati biomedici legati agli outcome fisiologici e biometrici dell'attività motoria, gli studi di traslationalità nella pratica clinica, lo sviluppo di strategie e metodologie per la valutazione funzionale negli studi di efficacia della terapia, l'analisi di biomarcatori, l'implementazione e design di modelli di sistemi biologici complessi.

Il Laboratorio, nell'ambito di progetti di collaborazione nazionale e internazionale sullo sviluppo di strumenti innovativi per la riabilitazione e la telemedicina, offre la propria conoscenza e struttura per il "fine tuning" e la valutazione funzionale di nuove piattaforme per la riabilitazione sviluppate in ambito ICT e prototipi robotici, per migliorarne il design, la funzionalità e l'efficacia, garantendo al contempo il rispetto delle necessità degli utenti finali, siano essi le persone con patologia neurologica, i loro parenti e prestatori di cura, i professionisti in ambito sanitario. Grazie alla creazione di focus group ai quali partecipano medici, tecnici, terapisti, bioingegneri, pazienti e associazioni dei familiari di pazienti con particolari patologie, il Laboratorio in collaborazione con il gruppo di Riabilitazione Neuromotoria e con l'Unità di Epidemiologia Clinica e Molecolare, ha contribuito:

- alla definizione e ottimizzazione dei prototipi passivi sensorizzati per la riabilitazione di mano e polso e per i prototipi attivi dello stesso progetto (SCRIPT: Supervised Care & Rehabilitation involving personal Tele-Robotics; FP7-ICT-2011-7-288698);
- alla definizione delle caratteristiche e all'ottimizzazione del design e della funzionalità del prototipo di strumentazione multisensorizzata per il controllo domiciliare delle demenze e delle insufficienze respiratorie (eWALL; eWALL: Electronic Wall to Improve Quality of Life for the Elderly; FP7 grant agreement no 610658);
- alla definizione e alla raccolta delle necessità e dei requisiti degli utenti finali, alla definizione dei protocolli per le interfacce touchless, alla progettazione di una piattaforma per la teleriabilitazione. (SmartCARE Satellite enhanced Multi-channel e-health Assistance for Remote Treatment and CAREgiving, European Space Agency ESA Tender: AO/1-5891/08/NL/US ARTES 3-4 Satcom Applications Projects)

Il Laboratorio collabora con diversi partner nazionali e internazionali, industriali ed accademici:

- Facoltà di Ingegneria – Sapienza Università di Roma
- Facoltà di Ingegneria – Università degli Studi di Roma Tor Vergata
- Aalborg Universitet -Danimarca
- Hewlett Packard Enterprise - Italia
- Ericsson Nikola Tesla D.D. - Croazia
- Roessingh Research and Development Bv - Olanda
- Cure Centrum fur die Untersuchung und Realisierung Endbenutzerorientierter Interaktiver Systeme - Austria
- Research and Education Laboratory in Information technologies - Grecia
- Universitatea politehnica din Bucuresti- Romania
- Ss. Cyril and Methodius University in Skopje - Macedonia

- Javna Ustanova Univerzitet Crne Gore Podgorica - Montenegro
- Technical University of Sofia - Bulgaria
- Sveuciliste u Zagrebu Fakultet Elektrotehnike i Racunarstva - Croazia
- Stellar Security Technology Law Research Ug - Germania
- The University of Hertfordshire Higher Education Corporation - Regno Unito
- R.U.Robots Limited - Regno Unito
- The University of Sheffield - Regno Unito
- Universiteit Twente -Olanda
- Moog Bv - Olanda
- User Interface Design Gmbh - Germania
- ITSLab - Italia
- Alpha Consult - Italia
- CNR ICAR - Italia
- Austrian Institute of Technology -Austria

Presso il laboratorio vengono svolti anche tre progetti di tirocinio:

- Analisi multimodale delle caratteristiche dinamiche, cinematiche ed elettrofisiologiche per la valutazione della riabilitazione funzionale del passo in pazienti con patologie neurologiche. (In collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 10 mesi).
- La valutazione funzionale e biometrica della riabilitazione robotica in pazienti con patologie neurologiche. (In collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 10 mesi).
- Metodologie e tecniche per la valutazione strumentale dei correlati neurali della neuroriabilitazione (In collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 6 mesi, in corso).

Didattica:

Francesco Infarinato è docente del corso di Elaborazione dei Dati e Segnali Biomedici 1 per il corso di laurea in Ingegneria Clinica dell'Università degli Studi di Roma Sapienza e docente dal 2014 per i corsi della Euro Mediterranean Rehabilitation Summer School (EMRSS) di Siracusa.

Paola Romano e Antonia Montera curano le esercitazioni di laboratorio MatLab per il corso di Elaborazione dei Dati e Segnali Biomedici 1 per il corso di laurea in Ingegneria Clinica dell'Università degli Studi di Roma Sapienza.

LABORATORIO

BIOCHIMICA
DELL'INVECCHIAMENTO

RESPONSABILE

MARIA ROSA CIRIOLO

STAFF

K. AQUILANO,
S. BALDELLI,
G. TATULLI

Il laboratorio focalizza gli interessi di ricerca prevalentemente su:

A. Funzionalità mitocondriale in modelli in vitro ed in vivo di invecchiamento

Durante l'invecchiamento si osserva una progressiva perdita della funzionalità mitocondriale che sembra essere principalmente causata da: 1) calo della difesa antiossidante; 2) diminuzione della produzione di ATP (es. diminuzione dell'efficienza della catena di trasporto, calo di Bcl-2); 3) ossidazione/nitrazione delle proteine; 4) accumulo di mutazioni all'mtDNA; 5) deficit nell'importo di proteine nel mitocondrio. Nelle cellule nervose, a questi eventi va aggiunta anche una forte diminuzione dell'incorporazione di glucosio, che si ripercuote fortemente sull'efficienza bio-energetica della cellula.

I mitocondri irreversibilmente compromessi possono essere adeguatamente eliminati e rigenerati per inibire l'insuccesso del processo apoptotico e garantire la sopravvivenza cellulare. Il turnover mitocondriale è regolato dall'avvicinarsi di due processi:

1) biogenesi, fissione (sintesi di nuovi mitocondri);

2) autofagia (autodigestione lisosomiale di mitocondri invecchiati e mal funzionanti: mitofagia).

Studi recenti hanno dimostrato che durante l'invecchiamento si assiste ad una graduale diminuzione dell'efficienza di entrambi questi processi. In particolare, il blocco dell'autofagia è imputabile all'accumulo di prodotti di scarto non digeribili (lipofuscina o 'ceroidi'), derivanti dal processo di smaltimento dei mitocondri (ed altri organelli) invecchiati, all'interno dei lisosomi. Il blocco della biogenesi sembra essere invece dovuto ad una diminuzione della sintesi di Ossido Nitrico (NO) che rappresenta il più importante mediatore di tale processo. In particolare, l'NO promuove l'espressione GMPc-dipendente dell'enzima PGC1 α , a monte del processo di segnalazione che culmina nella proliferazione mitocondriale.

Questa linea di ricerca ha come intento principale quello di studiare le vie di segnalazione redox alla base dell'induzione del processo di autofagia e/o biogenesi mitocondriale, allo scopo di: i) individuare possibili target cellulari per prevenire o ritardare l'invecchiamento e la morte neuronale; ii) individuare molecole naturali (nutraceutici) in grado di inibire la morte neuronale favorendo il ricambio mitocondriale attraverso l'induzione dell'autofagia/biogenesi.

B. Ruolo dell'alterazione redox (stress ossidativo) durante l'invecchiamento.

Nonostante il ruolo dell'alterazione redox (stress ossidativo) durante l'invecchiamento di modelli animali sia un argomento ampiamente riconosciuto, sono ancora pochi gli studi a livello clinico mirati ad individuare molecole redox quali bio-markers associati all'invecchiamento e/o a patologie correlate. Inoltre, poco è ancora noto sulla specificità delle vie di segnalazione cellulari in risposta a stimoli redox differenti (ad es. over-produzione di specie radicaliche o stress da over-load da disolfuri). Tuttavia, è ben noto che lo stato di ossidazione (potenziale redox) dei tioli extracellulari (glutazione, cisteina, omocisteina, proteine solforate) risente in maniera ampiamente documentata della dieta (rapporto ossidanti/antiossidanti) e di molte patologie quali malattie metaboliche, neurodegenerative, cardio-vascolari e muscolo-scheletriche. D'altra parte la dieta dell'anziano è notoriamente insufficiente per quanto riguarda l'apporto di proteine ad alto valore

nutrizionale, minerali come rame e selenio essenziali per l'azione di enzimi antiossidanti e alimenti vegetali ricchi di vitamine e non-nutrienti (polifenoli) antiossidanti.

Questa linea ha come intento principale quello di analizzare in vitro la specificità delle vie di segnalazione cellulari a stress ossidativo di varia natura e come queste possano determinare differenti risposte (morte o sopravvivenza), specialmente a livello neuronale, muscolare e del tessuto adiposo.

LABORATORI

ELETTROFISIOLOGIA

RESPONSABILE

ELEONORA
PALMA

STAFF

C. ROSETI

Il laboratorio si occupa principalmente delle seguenti tematiche:

A. Lo studio dei meccanismi molecolari dell'epilettogenesi.

L'interesse della ricerca è volto a caratterizzare il ruolo dei recettori GABAA in tessuti cerebrali di pazienti affetti da epilessia farmacoresistente. In particolare, viene studiato il fenomeno della desensitizzazione del recettore GABAA (run-down), una caratteristica che nei pazienti affetti da epilessia del lobo temporale è significativamente aumentata. Lo studio del meccanismo che sottende questo alterato fenomeno, risulta essere molto importante, in quanto potrebbe aprire la strada per la scoperta di nuove molecole farmacologiche in grado di contrastarlo, permettendo il riequilibrio tra trasmissione eccitatoria ed inibitoria. Questa parte della ricerca è svolta grazie a collaborazioni nazionali ed internazionali, tra le quali il Dipartimento di Neuropatologia dell'Università di Amsterdam, l'IRCCS Mario Negri di Milano e l'Università di Ferrara. Ulteriore interesse del laboratorio è la caratterizzazione del tessuto cerebrale di pazienti affetti da malformazioni corticali dello sviluppo (TSC e FCD). L'obiettivo è studiare le proprietà funzionali dei recettori GABA/AMPA in questi tessuti e confrontarli con tessuti di controllo da autopsie in modo da individuare uno dei meccanismi che possono contribuire a spiegare l'alta incidenza di crisi epilettiche in questi pazienti.

B. Funzione di recettori nicotinici muscolari in pazienti affetti da SLA.

Questa ricerca, in collaborazione con il Centro per la SLA, dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Umberto I, e con Irvine University, CA, USA, è volta a comprendere le differenze molecolari esistenti nella composizione del suddetto recettore e di come queste siano in grado di alterare la sua funzionalità nelle fibre muscolari di pazienti affetti da SLA. Inoltre, con la stessa tecnica, viene valutata l'effettiva efficacia di diversi trattamenti terapeutici a cui i pazienti vengono sottoposti, e di come questi siano in grado di modificare la composizione e la funzionalità recettoriale nel tempo.

LABORATORIO

PATOFISIOLOGIA
DELLA CACHESSIA E
METABOLISMO DEL
MUSCOLO SCHELETRICO

RESPONSABILE

ELISABETTA FERRARO

STAFF

A. FERACO, L. GATTA, S.
GORINI, F. MOLINARI, L.
VITIELLO

In linea con l'attività di ricerca clinica, la ricerca preclinica e traslazionale svolta nel laboratorio si occupa di studiare meccanismi fisiopatologici, metabolici e molecolari in organi rilevanti ai fini della riabilitazione in malattie cardiovascolari/neurodegenerative/polmonari e di validare strumenti farmacologici a supporto della funzionalità di tali organi.

In particolare il laboratorio si occupa: A) del muscolo scheletrico e B) della maturazione neuronale.

A. Il muscolo scheletrico

Il muscolo scheletrico è un organo chiave nella messa a punto delle terapie riabilitative in caso di malattie cardiovascolari, neurodegenerative e polmonari. L'obiettivo principale degli studi sul muscolo scheletrico è l'analisi dell'effetto di molecole che funzionano come modulatori del metabolismo sulla funzionalità e sulla massa muscolare, nell'ottica di un loro possibile utilizzo nel trattamento di pazienti con disordini caratterizzati da perdita della massa muscolare (Ferraro et al. *Antioxidants & redox signaling* 2014). L'atrofia muscolare associata alle malattie croniche viene definita cachessia. Sia la forza che la massa muscolare si riducono in molte malattie croniche a carico di vari organi (scompenso cardiaco, BPCO, cancro ecc..) e nel corso dell'invecchiamento. Nel laboratorio è in corso la valutazione dell'effetto di alcuni modulatori del metabolismo sulla massa e sulla funzionalità muscolare di modelli murini di cachessia e di invecchiamento. In particolare, si valuta la capacità di alcuni modulatori metabolici di ottimizzare il metabolismo del muscolo scheletrico e di contrastare l'atrofia muscolare e quindi aumentare la forza muscolare nelle condizioni patologiche riassunte dai modelli murini. E' stata già confermata la capacità della trimetazidina (TMZ) di proteggere cellule muscolari in coltura dall'atrofia (Ferraro et al. *The FEBS journal*. 2013). E' stato inoltre osservato un aumento delle performance fisiche sia in modelli murini di invecchiamento trattati con TMZ, che in modelli murini di cachessia soggetti allo stesso trattamento.

Il ruolo dell'apoptosi e dell'autofagia in seguito al trattamento con modulatori metabolici è, inoltre, oggetto di studio. Si è ipotizzato che l'effetto dei modulatori metabolici sul muscolo scheletrico possa essere mediato dalla loro capacità di modulare l'autofagia e l'apoptosi; questa capacità potrebbe contrastare l'atrofia muscolare tipica di alcune condizioni patologiche. Ci si propone inoltre di individuare i sensori metabolici attivati dai modulatori metabolici usati e le conseguenze della loro attivazione a livello trascrizionale e di attivazione genica. In particolare, si studia PGC-1alfa e AMPK e il loro ruolo e la loro correlazione con l'autofagia e l'apoptosi.

Sono stati, infine, identificati la rigenerazione del muscolo scheletrico e il differenziamento dei mioblasti come potenziali meccanismi-bersaglio del modulatore metabolico TMZ. La TMZ potenzia entrambi i meccanismi che sono fondamentali per il mantenimento della massa (e quindi della forza) muscolare sia in condizioni di cachessia sia nell'invecchiamento. Ciò rende questa classe di farmaci interessanti per la messa a punto di terapie riabilitative in molteplici condizioni caratterizzate da atrofia muscolare.

Recentemente, è stata attivata una nuova collaborazione per lo studio del recettore purinergico P2X7 nella patogenesi della cachessia tumorale. P2X7 è un recettore dell'ATP extracellulare che ha un ruolo importante nell'infiammazione. Si ritiene che potrebbe anche avere un ruolo nel differenziamento muscolare e, come tale, essere verosimilmente in grado di influenzare la progres-

sione della cachessia.

B. Maturazione neuronale: allungamento dell'assone

La maturazione neuronale prevede l'emissione di prolungamenti che si distinguono in svariati dendriti e un solo assone. E' stato scoperto un nuovo ruolo della proteina apoptotica Apaf1 che si è rivelata necessaria per una corretta maturazione dell'assone e, verosimilmente per una corretta neurogenesi.

Apaf-1 è una proteina chiave nel processo apoptotico. Essa è la molecola adattatrice attorno cui si assembla l'apoptosoma, il complesso multiproteico che promuove l'attivazione delle caspasi. Recentemente è stato suggerito un ruolo aggiuntivo per Apaf-1; è stato dimostrato che Apaf-1 media il corretto funzionamento del centrosoma. In particolare, è stato osservato che la delezione di Apaf-1 rallenta la divisione cellulare e altera la migrazione cellulare, processi entrambi dipendenti dal citoscheletro e dal centrosoma. Il centrosoma è considerato l'organizzatore del citoscheletro nella specificazione assonale e quindi Apaf1 influenza anche la maturazione neuronale. Per questo studio sono stati utilizzati sia approcci in vitro che approcci in vivo. Nello specifico sono stati usati topi Apaf-1-KO e cellule corticali primarie prelevate da questi topi a stadio embrionale. Lo studio e l'identificazione di nuove molecole coinvolte nell'assogènesi contribuisce a comprendere le cause di anomalie neurologiche causate da condizioni di stress durante lo sviluppo embrionale.

LABORATORIO

PATOLOGIE
CRONICO-DEGENERATIVE

RESPONSABILE

ANNA TERESA PALAMARA

STAFF

D. LIMONGI, P. CHECCONI

L'attività di ricerca è principalmente incentrata sull'identificazione del ruolo di agenti microbici nella patogenesi di malattie cronicodegenerative, quali Parkinson e Alzheimer, per le quali è stato recentemente dimostrato il ruolo patogenetico di alcuni agenti infettivi.

In particolare, il laboratorio è impegnato nella individuazione dei meccanismi molecolari con i quali alcuni virus, tra i cui il virus herpes simplex 1, possono svolgere un ruolo co-fattoriale nell'insorgenza della malattia di Alzheimer.

L'identificazione e la comprensione di tali meccanismi può essere di grande rilevanza nell'identificazione di nuove strategie per la prevenzione/terapia di una malattia neurodegenerativa così diffusa.

Allo stesso tempo, il laboratorio si occupa di investigare se le alterazioni dello stato redox intracellulare indotte dall'infezione virale possano costituire marcatori biochimici non solo di maggiore suscettibilità alle infezioni, ma anche di una maggiore severità delle stesse legata all'intensità del processo infiammatorio e alla sua cronicizzazione.

Il laboratorio si occupa, inoltre, di valutare varie molecole dotate di attività anti-ossidante nell'inibire l'attivazione di vie di segnalazione coinvolte nei processi infiammatori.

LABORATORIO

ENDOCRINOLOGIA
CARDIOVASCOLARE

RESPONSABILE

MASSIMILIANO
CAPRIO

STAFF

ANDREA ARMANI, CATERINA
MAMMI, VINCENZO
MARZOLLA.

Le linee di ricerca sono incentrate sui meccanismi di recupero funzionale delle malattie cardiovascolari, cerebrovascolari. La attività di ricerca sono volte, in particolare, alla valutazione degli effetti dell'esercizio fisico da solo o in associazione a terapie patogenetiche sul recupero funzionale e metabolico.

Le attività di ricerca, sia clinica che sperimentale, sono state rivolte verso la identificazione dei meccanismi responsabili del danno d'organo nei pazienti con malattie croniche evolutive e particolarmente quelle cardiovascolari e nell'investigare meccanismi di recupero funzionale associati con i processi riabilitativi, quali le nuove strategie nella ottimizzazione del metabolismo cardiaco, l'interazione tra tessuto adiposo e danno vascolare, la neo-angiogenesi, l'apoptosi miocardica e vascolare e l'infiammazione cardiovascolare e sui meccanismi molecolari alla base della riparazione del danno funzionale. Particolare interesse è stato rivolto a patologie croniche debilitanti ad alto impatto sociale come lo scompenso cardiaco.

Gli interessi di ricerca sono rivolti alla valutazione dell'effetto della terapia fisica da sola o in associazione a terapie specifiche in patologie determinanti disabilità:

- Meccanismi di recupero funzionale della patologia cronica e disabilitante: analisi dei determinanti di outcome. Meccanismi fisiopatologici del training fisico nel recupero di organi ed apparati sede di malattia cronica, con particolare attenzione all'aspetto molecolare e cellulare nell'evoluzione della patologia potenzialmente disabilitante attraverso l'utilizzo di modelli cellulari ed animali, normali e transgenici, di modelli controllati di danno subletale e, di modelli di patologia umana e cronica che necessitano di recupero funzionale della disabilità. Effetti delle comorbilità cardio-respiratorie ed endocrinometaboliche nel raggiungimento dell'outcome riabilitativo. Ruolo del training fisico e della sua associazione con presidi farmacologici sulle alterazioni metaboliche e funzionali nelle patologie croniche ed invalidanti. Studio delle differenze di genere nel rischio cardiovascolare e impatto del fattore età nel ricevere trattamento adeguato per le malattie cardiovascolari.
- Utilizzazione di sistemi telemedicali in ambito riabilitativo territoriale. Implementazione e validazione di sistemi di tele-assistenza in gruppi di pazienti affetti da patologie croniche ed altamente invalidanti attuati in regime extra-ospedaliero. Gestione di programmi di training fisico con monitoraggio dei parametri vitali al domicilio del paziente.

Premi e riconoscimenti del Responsabile del Laboratorio, Massimiliano Caprio:

Gennaio 2015: Membro della Commissione Scientifica della SIE

Febbraio 2015: Membro dell'Editorial Board di Journal of Endocrinology e Journal of Molecular Endocrinology

Giugno 2015: Coordinatore del Comitato Scientifico dell'area ECM di Carocci editore SpA

Ottobre 2015: Excellent Poster Presentation Award of the American Heart Association (senior author) 8th International Symposium "Aldosterone, MR and Salt – What's new?", Zermatt, Switzerland.

LABORATORIO

PATOLOGIA
MOLECOLARE E
CELLULARE

RESPONSABILE

MATTEO ANTONIO RUSSO

STAFF

C. LANE ALVES, T. ARCAN-
GELI, E. DE SANTIS,
E. FOGLIO, F. LIMANA, E.
PONTEMEZZO,
G. PUDDIGHINU, S. SALADI-
NI, L. SANSONE, M. TAFANI

Le principali competenze metodologiche del Laboratorio di Patologia Molecolare e Cellulare comprendono le metodologie di base della biologia molecolare e cellulare, inclusa la laser capture microdissection e la CRISPR, le metodologie di base della morfologia standard ottica, di immunofluorescenza confocale multi fotonica e di microscopia elettronica a trasmissione e a scansione, con la possibilità di una microanalisi di base (spettrometria di elettroni secondari o retro riflessi). L'attività di ricerca si esplica nell'ambito della mission riabilitativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana. In particolare, comprende una serie di progetti che esplorano i meccanismi di recupero di funzioni perse, in relazione sia a trattamenti riabilitativi tradizionali o innovativi, sia ad interventi farmacologici che ne potenziano gli effetti benefici. In queste linee di ricerca vengono studiati il recupero di funzione in tessuti postmitotici dopo danno subletale, come nelle cardiomiopatie (miocardiociti), malattie neurodegenerative (neuroni) e miopatie scheletriche.

Un importante risultato di questi studi è la definizione di tre classi di proteine che fungono da trasduttori delle pratiche riabilitative e il recupero della funzione e che sono normalmente attive per il buon mantenimento e la riparazione delle cellule post-mitotiche.

- La prima classe è quella della sirtuine, deacetilasi di classe III che, sensori dello stato metabolico determinato dall'attività fisica, sono in grado di modificare DNA e fattori di trascrizione coinvolti nell'espressione di geni e nella sintesi delle proteine necessarie alla riparazione e al recupero della funzione perduta. Pertanto, le sirtuine sono coinvolte nella risposta metabolica, nell'invecchiamento, nei tumori, ecc... Viene esplorata la loro espressione o attivazione (per esempio farmacologica) per facilitare la sopravvivenza o il recupero cellulare dopo vari tipi di danno subletale.

- La seconda classe esplorata è quella delle proteine con dominio LIM anche note come proteine ricche in cisteine (CSRPs). Esse sono state scoperte nelle cellule muscolari scheletriche e poi identificate in altri tessuti come miocardio, muscolo liscio, osteociti e osteoblasti, ecc. con una funzione strutturale importante (come nel disco Z e nelle densità fusiformi), ma anche come co-attivatori o corepressori trascrizionali, potendo essere traslocati nel nucleo. Influenzano potentemente l'espressione di geni e la sintesi di proteine coinvolte nel mantenimento, nella riparazione cellulare e negli effetti benefici della riabilitazione. Alcuni membri di questa famiglia sono ampiamente noti come mecano sensori sensibili a stimoli meccanici, inclusi quelle della riabilitazione fisica e della gravità.

- La terza classe studiata è quella della miopalladine e palladine, identificate come proteine strutturali del muscolo liscio, ma poi ritrovate in altri tessuti. Similmente alle proteine LIM possono essere traslocate al nucleo e influenzare l'espressione di geni correlati al mantenimento e alla riparazione di quei tessuti, sotto stimoli meccanici.

Da sottolineare altri due risultati che hanno indicato la direzione da seguire per valutare l'importanza di questi meccanismi nella fisiopatologia e nella riabilitazione di funzioni perse:

- E' stata osservata una stretta interazione tra sirtuine e CSRPs come parte di un più grande meccanismo che collega metabolismo e recupero di struttura e funzione cellulare, soprattutto nelle cellule muscolari scheletriche e miocardiche e nei neuroni.

- E' stato suggerito che proteine LIM e palladine possano costituire i fisiologici sensori della gravità terrestre, in assenza della quale (microgravità delle astronavi), muscolo scheletrico, miocardio, osteoblasti e neuroni perdono una importante quota per il normale mantenimento e riparazione cellulare producendo quella perdita di funzione che si osserva negli astronauti dopo lunghe permanenze nello spazio (ipotrofia muscolare scheletrica, cardiomiopatia dilatativa, osteoporosi, alcuni sintomi neurologici, ecc.).

LABORATORIO

EPIDEMIOLOGIA
MOLECOLARE

RESPONSABILE

PATRIZIA RUSSO

STAFF

A. DEL BUFALO
P. LAMONACA

Nel corso del 2015 il laboratorio ha lavorato sulla "Creazione e validazione di una Piattaforma per sviluppare e studiare modelli innovativi di patologia umana non trasmissibili [BPCO, cancro (NSCLC) e malattie neurologiche geriatriche (Alzheimer)", che ha comportato lo sviluppo di diversi ambiti di ricerca.

Negli ultimi decenni si è assistito a un incremento delle possibilità offerte dalle tecnologie "high throughput" in termini di qualità e quantità (oltre che ottimizzazione) della "misura" molecolare e cellulare a livello, soprattutto, genomico e proteomico. Lo sviluppo di tecnologie di analisi sempre più sensibili e sofisticate (genetica, profili, funzionalità, ecc.) richiede la disponibilità di materiale biologico raccolto e trattato secondo tecniche standardizzate sempre più definite ed affidabili in accordo alle attuali procedure europee. Alla luce di queste indicazioni viene realizzata una raccolta di campioni biologici (siero, plasma, linfociti) umani provenienti da pazienti affetti da malattie non trasmissibili, quali ad esempio BPCO, allo scopo di facilitare la traslazione delle informazioni di biologia, in particolare di omica, alla pratica clinica, di permettere una rapida risposta a quesiti sperimentali di potenziale valenza (terapia e/o diagnosi) garantendo la qualità e la quantità di campioni utilizzabili per queste pratiche.

Come risultati significativi per un centro di ricerca avanzato centrato sulla riabilitazione e il recupero funzionale di pazienti si ha la possibilità di ottimizzare e personalizzare le strategie terapeutiche riabilitative dei pazienti. Vengono studiati metodi per l'individuazione di nuovi farmaci o terapie, marcatori prognostici e di risposta, e test tossicologici e funzionali.

Gli ambiti di ricerca esplorati sono i seguenti:

- Valutazione critica del ruolo delle varianti geniche del recettore nicotinic nell'aumento di rischio per dipendenza, insorgenza di tumore e ruolo nella terapia per la cessazione dal fumo di sigaretta. Varianti nei geni codificanti le sub-unità alfa 3-5 (rs1051730 e rs16969968) sono specificamente associate alla dipendenza da nicotina, al maggiore rischio di insorgenza di tumore e influiscono la risposta ai farmaci utilizzati per la terapia per la cessazione dal fumo quali Bupropione e Vareniclina.
- Valutazione critica della letteratura selezionata dell'attività dei farmaci antitumorali di origine marina. I metaboliti secondari prodotti dai Cyanobacteria products sono il prototipo dal quale possono essere sviluppati nuovi farmaci. Selezione e valutazione metodologica e statistica dei dati riportati.
- Valutazione critica della letteratura selezionata dell'attività dei farmaci di origine naturale per terapia Alzheimer di origine naturale. Selezione e valutazione metodologica e statistica dei dati riportati. Galantamina e rivastigmina sono attualmente in terapia. Terapia con nicotina ha dato risultati promettenti e studi sono in corso per valutare il suo potenziale terapeutico.
- Valutazione della letteratura selezionata dei farmaci per terapia Alzheimer aventi come bersaglio il recettore alpha7 nicotinic. Diversi farmaci entrati in Fase II non sono passati alla fase III umana. I nostri risultati sperimentali della attività del Donepezil come "up-regulator" delle proteine x alpha7 aumenta l'espressione proteica di alpha7 in linfociti umani e in cellule staminali neuronali umane. Selezione e valutazione metodologica e statistica dei dati riportati.

- Valutazione critica della letteratura selezionata dei farmaci aventi come bersaglio i recettori nicotinici di tipo alpha 9 e 10 come antidolorifici.
- Selezione e valutazione metodologica e statistica dei dati riportati. RgIA and Vc1.1 due peptidi originati dal Conus (cono peptidi) inducono analgesia sia a breve che a lungo termine attraverso i meccanismi della risposta immune ed infiammatoria.
- Definizione critica del ruolo della nicotina in angiogenesi, proliferazione e apoptosi. La nicotina stimola gli eventi di angiogenesi e proliferazione ed inibisce i processi di apoptosi interagendo con i recettori nicotinici di tipo alpha-7 presenti anche sulle cellule non neuronali (epiteliali, endoteliali).
- Valutazione critica di una letteratura selezionata su meccanismi genetici quali varianti geniche coinvolte nell'insorgenza di BPCO, NSCLC e malattie geriatriche, e ruolo nella risposta alla terapia.
- Utilizzo di embrioni precoci di animali semplici, che fisiologicamente si sviluppano al di fuori del corpo materno (invertebrati marini, quali il riccio di mare *Paracentrotus lividus*), allo scopo di studiare i recettori colinergici. Esiste un'altissima percentuale di omologia fra le proteine strutturali di riccio e quelle umane.
- Valutazione critica della letteratura sul processo di "ageing".

LABORATORIO

NEUROBIOLOGIA
MOLECOLARE E
CELLULARE

RESPONSABILE

ALESSIO CARDINALE

STAFF

DANIELA MERLO

Le malattie da "protein misfolding", o malattie conformazionali, rappresentano una classe di patologie umane caratterizzate dall'accumulo di proteine con una struttura alterata che causa la formazione di aggregati e/o conformeri proteici con potenzialità altamente citotossiche. Le malattie neurodegenerative costituiscono una sottoclasse di queste patologie in cui la formazione e l'accumulo di queste specie proteiche causano la morte di specifiche popolazioni neuronali e quindi scatenano il processo di neurodegenerazione. Il fattore di rischio per eccellenza delle malattie neurodegenerative è l'invecchiamento e poiché la vita media della popolazione mondiale è aumentata considerevolmente, il numero di casi clinici di queste patologie sta raggiungendo proporzioni elevate. L'esempio più eclatante è quello della malattia di Alzheimer, che costituisce la forma più comune di demenza. Attualmente i meccanismi molecolari alla base della patogenesi della malattia di Alzheimer, così come più in generale del processo di neurodegenerazione sono poco compresi. Inoltre, non sono ancora disponibili strategie terapeutiche efficaci per bloccare o quanto meno rallentare il decorso di questa terribile patologia, anche se negli ultimi anni le immunoterapie si stanno dimostrando uno strumento potenzialmente efficace.

L'obiettivo principale del Laboratorio è lo studio dei meccanismi molecolari e cellulari alla base delle patologie neurodegenerative, utilizzando modelli sperimentali in vitro ed in vivo. In particolare, l'attività di ricerca mira a:

1. Determinare il ruolo svolto dall'alterazione dei meccanismi di riparazione del DNA e della funzionalità nucleolare nella patogenesi della malattia di Alzheimer e più in generale nel processo neurodegenerativo.

2. Individuare biomarcatori periferici della malattia di Alzheimer al fine di sviluppare nuovi strumenti diagnostici precoci ed accurati così come di individuare eventuali bersagli terapeutici.

Ulteriore obiettivo del laboratorio è quello di applicare nuove strategie immunoterapeutiche specifiche per la malattia di Alzheimer, basate sulla tecnologia degli anticorpi intracellulari.

Per il raggiungimento di tali obiettivi è adottato un approccio multidisciplinare, basato su tecniche di tipo molecolare, biochimico ed elettrofisiologico.



LINEE DI RICERCA

L'attività della ricerca corrente dell'IRCCS San Raffaele Pisana è organizzata secondo le seguenti linee di ricerca:

Linea 1. Studio dei determinanti cellulari, molecolari, genetici, elettrofisiologici e nutrizionali della riabilitazione motoria e sensoriale nelle malattie neurodegenerative e nel dolore.

- Determinanti cellulari, molecolari e genetici della risposta riabilitativa in modelli riproducenti le malattie neurodegenerative e cerebrovascolari e nel dolore cronico.
- Studio clinico dell'efficacia dell'esercizio fisico e/o dei presidi farmacologici e nutrizionali nel recupero funzionale delle malattie neurodegenerative e del dolore cronico.
- Identificazione delle variabili genetiche e molecolari che condizionano la risposta riabilitativa in pazienti affetti da morbo di Parkinson, malattia di Alzheimer, malattie cerebrovascolari e nel dolore cronico.
- Malattie vascolari croniche che implicano un deficit funzionale.

Linea 2. Studio dei meccanismi di recupero funzionale nelle patologie croniche, disabilitanti dell'apparato cardiovascolare e respiratorio.

- Determinanti cellulari, molecolari e genetici della risposta riabilitativa al training fisico in modelli riproducenti le patologie cronico-degenerative dell'apparato cardiovascolare e respiratorio.
- Studio clinico dell'efficacia della riabilitazione e/o dei presidi farmacologici e nutrizionali nel recupero funzionale delle malattie cronico-degenerative dell'apparato cardiovascolare e respiratorio.
- Studio delle malattie cronico-degenerative dell'apparato cardiovascolare e respiratorio come fattore di comorbilità che condiziona la risposta al trattamento riabilitativo in popolazioni fragili.

Linea 3. Sviluppo di sistemi innovativi per il monitoraggio ed il controllo della risposta al trattamento riabilitativo

- Definizione di un framework della complessità per un approccio di systems medicine per la realizzazione di integrated care per le persone in riabilitazione al fine di realizzare una piattaforma per patologie croniche ad alta complessità.
- Sviluppo di tecniche avanzate di neuroimaging per il monitoraggio della risposta e la predizione dell'outcome in pazienti con patologie neurologiche e cardiovascolari sottoposti a trattamento riabilitativo.
- Ripristino della funzionalità sensoriale o motoria attraverso lo sviluppo di nuove tecnologie per il miglioramento dei servizi di monitoraggio e dell'ambiente dei pazienti.

Linea 4. Studio delle disabilità dello sviluppo e neuroriabilitazione pediatrica

- Studio dei determinanti cellulari, molecolari e genetici delle disabilità pediatriche per un intervento terapeutico mirato.
- Studio qualitativo e quantitativo del cammino e dei movimenti in bambini con disabilità.
- Studio degli aspetti clinici, gestionali e riabilitativi che condizionano lo sviluppo del linguaggio e dell'apprendimento.
- Determinanti della qualità della vita del bambino con disabilità e della sua famiglia.

Linea 5. Identificazione di nuovi modelli organizzativi e gestionali per ottimizzare la risposta riabilitativa nel paziente disabile

- Studi epidemiologici sugli effetti della riabilitazione in specifiche popolazioni di pazienti affetti da patologie a prognosi severa.
- Formazione del paziente, del caregiver, del personale medico e del medico di medicina generale per la gestione del paziente disabile in riabilitazione.
- Valutazione dell'outcome riabilitativo attraverso l'impiego di tecniche radiologiche, morfologiche e funzionali.
- Utilizzazione di sistemi telemedicali e di nuove tecnologie ICT per garantire la continuità assistenziale nel territorio in pazienti con patologie croniche ed altamente invalidanti
- Attuazione del Governo Clinico della riabilitazione attraverso lo sviluppo di metodologie di verifica e di sistemi di monitoraggio dell'outcome e della qualità della vita.

LINEA 1

STUDIO DEI DETERMINANTI CELLULARI, MOLECOLARI, GENETICI, ELETTROFISIOLOGICI E NUTRIZIONALI DELLA RIABILITAZIONE MOTORIA E SENSORIALE NELLE MALATTIE NEURODEGENERATIVE E NEL DOLORE

Area di Ricerca Neuromotoria

Osservazione di attività motorie funzionali dell'arto superiore al fine di valutare con EEG quali siano le più significative nell'attivazione del Sistema dei "Neuroni a Specchio"

L'intervento riabilitativo che include approcci convenzionali per promuovere il recupero della funzione motoria dell'arto superiore non è completamente efficace. Negli ultimi anni, al fine di migliorare l'attività di vita quotidiana (ADL), nella ricerca sono emerse e sono state utilizzate nuove strategie non invasive. Una di queste è il trattamento con "Action Observation (AOT)", sostenuto da risultati raccolti attraverso studi clinici controllati randomizzati (RCT). Questo nuovo approccio riabilitativo si basa sul sistema di Mirror Neuron (MNS) - neuroni a specchio. Il Mirror Neuron System scoperto nel cervello di scimmia ha una proprietà fondamentale: quella di rispondere all'osservazione degli atti motori dell'arto superiore, in particolare della mano con l'attivazione del sistema senza l'esecuzione di alcun movimento. L'AOT si avvale della possibilità di ripristinare le funzioni motorie lese, nonostante il danno subito da parte del paziente e sembra essere un valido esempio di medicina traslazionale dalle neuroscienze di base alla riabilitazione.

La ricerca si propone di esplorare come l'osservazione di diverse azioni di vita quotidiana moduli le oscillazioni EEG delle regioni corticali danneggiate. Scopo della ricerca è identificare il tipo di azione che evoca maggiore modulazione neuronale e, in particolare, quale tipo di azione proposti evochi maggiormente un reclutamento al fine di massimizzare l'efficacia del AOT.

Il progetto prevede la valutazione della soppressione mu-ritmo tra le categorie ADL osservate. La categoria più efficace viene successivamente selezionata per un successivo studio con RCT. Per valutare quale tipo di stimolo visivo delle ADL è più efficace nell'indurre l'eccitabilità corticale durante l'osservazione dell'azione motoria funzionale dell'arto superiore/mano viene eseguita una registrazione EEG. Vengono reclutati 10 pazienti con ictus in fase cronico-stabilizzata conseguenza di un primo evento ictale con sede lesionale unilaterale da ischemia. Lo stato cognitivo deve essere tale da poter comprendere il setting sperimentale e le richieste del Fisioterapista. Il progetto prevede anche l'arruolamento di 10 soggetti sani. Vengono proposte durante la registrazione EEG tre tipologie differenti di movimenti funzionali: 1) video funzionali riguardanti l'alimentazione; 2) riguardanti la cura di sé; 3) azioni esterne al corpo. Sono oggetto di indagine il confronto sulla soppressione mu-ritmo tra i due gruppi di persone incluse e le tre categorie ADL osservati.

E' stato predisposto il protocollo per esteso ed il consenso informato. Il progetto è stato approvato dal Comitato Etico. Sono state definite le tre tipologie di video necessarie per attuare la stimolazione. Si è poi proceduto alla preparazione dei video. Attualmente è in corso la selezione dei soggetti da sottoporre alla sperimentazione.

Le attività previste dal progetto continueranno nel corso del 2016 e verrà effettuata la sperimentazione completa su soggetti sani e persone con ictus cerebrale in fase cronica al fine di dare una risposta all'obiettivo della ricerca.

Sviluppo di un innovativo sistema di ortesi del gomito sensorizzata e successiva applicazione in ambito riabilitativo

Il Progetto Roborth, inizialmente denominato "Roborthosis" è nato dalla collaborazione tra la Ingegneria Elettronica Sistemi S.r.l. (IES) e l'Area di Ricerca Neuromotoria dell'IRCCS San Raffaele per poter realizzare un dispositivo di carattere biomedico. Dopo un primo studio effettuato

nell'ambito dei dispositivi della stessa tipologia a livello mondiale, si è affrontato lo studio concettuale del sistema e una analisi delle specifiche tecniche e dei requisiti che un dispositivo del genere deve avere.

L'obiettivo è quello di sviluppare una ortesi motorizzata per gli arti superiori, controllata anche in base ai segnali mioelettrici generati tramite la contrazione muscolare del bicipite e del tricipite. La prima fase del lavoro ha riguardato l'implementazione di un prototipo di ortesi che, dopo le dovute sperimentazioni in laboratorio e su soggetti sani, sarà utilizzato sul paziente al fine di verificarne l'efficacia.

L'identificazione delle specifiche meccaniche dell'ortesi è stato il primo passo della progettazione del dispositivo. La sensoristica ha richiesto tempo per individuare e testare i dispositivi più utili alle esigenze dell'ortesi robotizzata. Il controllo raffinato del movimento ha richiesto una cura particolare ed attenta. Ciò ha portato alla realizzazione del primo Roborth prototipale.

Le principali variabili che richiedevano il calcolo di una stima sono la contrazione del bicipite, la contrazione del tricipite, la volontà di movimento espressa dal paziente, l'azione di forzatura contrapposta dal paziente al movimento dell'ortesi, la posizione angolare assoluta.

I primi programmi o funzioni implementati nel sistema di controllo sono state:

- movimento di flessione-estensione a controllo manuale;
- movimento di flessione-estensione in base alla contrazione muscolare di bicipite e tricipite;
- movimento di flessione-estensione secondo la pressione esercitata dal braccio interno all'ortesi (forzatura);
- movimento di flessione-estensione da contrazione muscolare e forzatura combinate.

La collaborazione medico-riabilitativa, successiva alle prime fasi progettuali della componente meccanica, della componente elettronica e della componente software, ha permesso di selezionare e configurare le funzionalità più adeguate ai casi d'uso e alle patologie.

Il successivo programma di controllo del Roborth ha previsto:

- movimento di flessione-estensione in base alla pressione esercitata dal braccio interno sull'ortesi (forzatura);
- movimento di flessione-estensione in base alla contrazione muscolare di bicipite e tricipite;
- movimento di flessione-estensione da contrazione muscolare e forzatura combinate;
- movimento per riabilitazione con ripetizioni controllate in velocità, angoli, pause, ecc.;
- movimento di flessione-estensione attiva con carico impostabile;
- riabilitazione per recupero dell'estensione articolare tramite sovrapposizione di piccolo carico (pressione impostabile) in estensione;
- riabilitazione per recupero dell'estensione articolare tramite sovrapposizione di piccolo carico (pressione impostabile) in flessione.

Nei programmi del Roborth sono configurati molti parametri che possono essere regolati a piacimento, quali ad esempio: velocità, sensibilità, soglie, limite estensione, limite flessione, ripetizioni, pausa max estensione, pausa max flessione, incremento angolo, carico, ecc..

L'esigenza principale è quella di standardizzare un trattamento riabilitativo per aiutare il paziente nel suo processo di recupero efficace.

Le prime prove hanno dimostrato che la disponibilità di un'ortesi in grado di agire sull'articolazione possa ottimizzare e completare l'intervento del terapeuta, permettendo di creare un protocollo riabilitativo scientificamente misurabile e classificabile.

I primi test sul sistema di controllo prototipo destinato all'ortesi robotica in progettazione, hanno permesso di verificare la gestione dei vari tipi di sensori e dell'interfacciamento con il dispositivo Android.

Una prima versione del programma ha permesso di verificare il comportamento dell'ortesi ed il corretto pilotaggio della motorizzazione.

Le prime azioni implementate sono state:

- lettura dei comandi inviati dal dispositivo Android tramite interfaccia radio Bluetooth;
- aggiornamento dei parametri del sistema ed esecuzione comando;

- lettura dei vari sensori del Roborth;
- calcolo delle stime di tutte le variabili di interesse per le diverse funzionalità;
- visualizzazione di parametri e variabili;
- esecuzione dei compiti elaborativi secondo la funzione impostata.

L'esecuzione di prove su pazienti neurologici permetterà di valutare se sia necessario adeguare o reindirizzare alcune scelte progettuali per l'effettivo utilizzo della piattaforma riabilitativa, sia di discutere le leggi di moto che risultino al tempo stesso più confortevoli per i pazienti e più efficaci per la riabilitazione.

Nell'ottica di possibili miglioramenti futuri da apportare, è possibile valutare la modellazione di ulteriori gruppi di muscoli, per rendere più completo il modello ridondante della spalla, tenendo conto dell'azione di tutti gli attuatori che la movimentano.

Questo procedimento dovrebbe ridurre parzialmente il contributo di forza che il modello attualmente attribuisce ad ogni muscolo.

Successive applicazioni o esigenze riabilitative potrebbero condurre alla modellazione cinematica e dinamica del polso e dei relativi gradi di libertà per introdurre la possibilità di eseguire task riabilitativi senza la presenza dell'ortesi per pazienti i cui deficit non precludano la capacità di sostegno contro la gravità.

Questa ultima parte sarà oggetto di una sperimentazione da effettuare presso l'IRCCS San Raffaele Pisana, dopo approvazione del Comitato Etico, non appena il prototipo sarà idoneo ad essere utilizzato sul paziente. Si è in attesa di ricevere l'idoneità del dispositivo da parte degli organi competenti.

Caratterizzazione clinica, disabilità, risposta terapeutica ed outcome dell'emicrania in pazienti con segni di attivazione del riflesso trigemino-autonomico

I sintomi autonomi cranici unilaterali (UAs) quali la lacrimazione, l'iniezione congiuntivale, l'edema palpebrale, la congestione nasale e la rinorrea sono frequenti negli emicranici essendo stati descritti in circa 1 paziente su 2 (45.8%) nella popolazione afferente ad un centro cefalee di terzo livello ed in più di 1 emicranico su 4 (26.9%) in studi di popolazione. Gli UAs sono conseguenza dell'attivazione del sistema parasimpatico cranico. L'aumento contemporaneo di peptide geneticamente correlato alla calcitonina (CGRP) e di peptide intestinale vasoattivo (VIP) nel sangue della vena giugulare esterna ipsilaterale al dolore durante gli attacchi di emicrania suggeriscono infatti l'attivazione di un riflesso trigemino-parasimpatico. L'attivazione parasimpatica potrebbe, dunque, provocare la lacrimazione, l'iniezione congiuntivale, la rinorrea e l'ostruzione nasale che compaiono durante l'attacco. Sebbene nella pratica clinica non è infrequente ritrovare soggetti emicranici che presentano UAs, finora pochi studi sistematici sono stati condotti a riguardo. Obiettivo di questo studio è, dunque, valutare la prevalenza di UAs negli emicranici ed identificare le caratteristiche cliniche di tale popolazione.

Sono stati studiati in modo consecutivo tutti i soggetti affetti da emicrania con e senza aura, emicrania cronica con e senza abuso di farmaci, afferenti all'IRCCS San Raffaele dal 1 Gennaio 2010 al 31 Dicembre 2012. Ai tutti i pazienti è stato richiesto di firmare un Consenso Informato allo studio. E' stata somministrata un'intervista semistrutturata per la raccolta dei dati clinici delle caratteristiche diagnostiche dell'emicrania con e senza aura, dell'emicrania cronica con e senza abuso di farmaci quali familiarità per emicrania, esordio del dolore, durata di malattia, durata di cronicizzazione, durata di abuso di farmaci, localizzazione, tipo, frequenza, intensità, durata del dolore, prodromi, fenomeni d'accompagnamento (fotofobia, fonofobia), allodinia, terapia per l'attacco, farmaci di profilassi, risposta ai triptani. La presenza di UAs è stata indagata attraverso domande specifiche e i soggetti con almeno uno dei sintomi quali lacrimazione, iniezione congiuntivale, edema palpebrale, congestione nasale, rinorrea, durante l'attacco di emicrania, sono stati considerati emicranici con UAs, differenziandoli dagli emicranici senza UAs. Sono stati inoltre raccolti dati relativi alle abitudini di vita e voluttuarie (fumo, caffè, alcol, BMI, stato civile), comorbidità, uso di contraccettivi orali ed altre terapie concomitanti di tutti i partecipanti allo studio.

Sono stati arruolati 757 emicranici (F/M 604/153) di cui 283 con UAs e 474 senza UAs. 150 soggetti (53%) hanno presentato un unico sintomo, 108 (38.2%) due e 25 (8.8%) tre sintomi in combinazione. Il 61.8% degli emicranici con UAs ha mostrato esclusivamente sintomi oculari (lacrimazione e/o iniezione congiuntivale e/o edema palpebrale), il 25.8% sintomi oculari contemporaneamente a quelli nasali (congestione e/o rinorrea) ed il 12.4% sintomi nasali isolati. Lo studio ha confermato la sede unilaterale ($p<0.001$), la qualità pulsante ($p=0.044$), la maggiore intensità ($p<0.005$) e durata ($p<0.001$) del dolore dei soggetti con UAs rispetto ai controlli. I fenomeni associati all'attacco emicranico quali prodromi ($p=0.042$), fotofobia ($p<0.001$), fonofobia ($p=0.003$), allodinia ($p<0.001$) e postdromi ($p=0.062$) sono comparsi negli emicranici con UAs più frequentemente rispetto a quelli senza UAs. Così come già riportato in studi precedenti, la presenza di UAs durante l'attacco emicranico ha rappresentato un elemento predittivo di buona risposta ai triptani ($p<0.001$) rispetto agli emicranici senza UAs, Non sono state riportate differenze statisticamente significative negli emicranici con e senza UAs relative a comorbidità, uso di contraccettivi orali ed altre terapie concomitanti, abitudini voluttuarie (fumo, caffè, alcol, BMI). Gli emicranici con UAs sono stati identificativi con uno stato civile di coppia rispetto agli emicranici senza UAs ($p=0.046$).

I risultati descritti sono stati confermati dall'analisi statistica multivariata, eseguita nello scorso anno, che ha dimostrato negli emicranici con UAs un rischio triplo per comparsa dell'unilateralità del dolore, doppio per durata prolungata degli attacchi, doppio di presentare fotofobia, triplo di sviluppare allodinia rispetto agli emicranici senza UAs.

Studio prospettico sulla prevalenza e caratteristiche dell'emicrania in una popolazione di atleti afferenti al CONI

L'associazione tra sport ed emicrania è nota fin dai tempi di Ippocrate che per primo ne descrisse la comparsa in un gruppo di studenti in seguito ad attività sportiva (ginnastica, corsa, camminata veloce, etc). Gli studi condotti sulla prevalenza dell'emicrania negli atleti sono risultati finora sporadici, effettuati per lo più su sport specifici (es. pallacanestro, corsa, etc) pertanto le basi scientifiche in tema di esercizio fisico ed emicrania, si riferiscono a studi aneddotici o osservazionali in aperto senza popolazioni di controllo.

Lambert e Barnet in uno studio condotto sull'esercizio fisico e l'emicrania hanno concluso che l'esercizio fisico potrebbe rappresentare un trigger per l'emicrania, così come l'altitudine o l'ipoglicemia. In un altro studio, Lockett e Campbell asseriscono, al contrario, che l'esercizio fisico diminuisce sia l'intensità che lo stress nel percepire il dolore dell'attacco emicranico. Per quanto riguarda la prevalenza dell'emicrania negli atleti, uno studio condotto da Williams nel 1994 presso l'Università di Otago, ha evidenziato che più di un terzo degli atleti lamentava emicrania correlata allo sport. Sempre in uno studio sulla prevalenza dell'emicrania condotto in Australia ed effettuato su una popolazione di giocatori di football, è risultato che il 50% di questi soffriva di emicrania ed approssimativamente il 25% di emicrania correlata con lo sport.

Lo scopo dello studio è quello di valutare, in una popolazione di atleti, la prevalenza e le caratteristiche dell'emicrania; il rapporto intercorrente tra tipo di cefalea e tipo di pratica agonistica, con riferimento anche al timing di insorgenza del dolore in rapporto al carico dell'allenamento o della gara; il comportamento, terapeutico e non, dell'atleta con l'insorgenza dell'attacco emicranico. Sono stati arruolati consecutivamente tutti gli atleti afferenti all'Istituto di Medicina e Scienza dello Sport del C.O.N.I. di Roma per le regolari visite di idoneità sportiva, a partire dal 1 settembre 2011.

Criteri di inclusione:

- Età \geq 14 anni;
- Attività sportiva agonistica;
- Atleti afferenti all'Istituto di Medicina e Scienza dello Sport del C.O.N.I.;
- Atleti in buona salute secondo l'opinione del medico basandosi sulla valutazione iniziale che include la storia medica e l'esame fisico;
- Atleti in grado di comprendere le procedure dello studio ed acconsenta volontariamente a partecipare allo studio firmando il consenso informato;
- In grado di completare i questionari valutativi previsti da protocollo e diario.

Criteri di esclusione:

- Atleti non in grado di comprendere le procedure dello studio e di completare i questionari
- Atleti non in grado di comprendere e firmare il consenso informato.

A tutti gli atleti è stato consegnato un questionario autosomministrato per indagare analiticamente dati personali e sportivi, anamnesi generale, medica e per le cefalee.

Il questionario è stato consegnato e completato da tutti gli atleti ($n=331$; M/F=212/119; età media=25.5+6.6). 89 soggetti (26.8%) hanno riportato di soffrire di "mal di testa" (M/F=44/45).

In base allo studio delle schede con le caratteristiche cliniche del dolore è stato possibile dedurre che: 56 soggetti presentavano emicrania senza aura, 18 una probabile emicrania senza aura e 15 una cefalea tensiva. Inoltre 44 atleti hanno riferito la comparsa di emicrania sia in correlazione con l'esercizio fisico che al di fuori, 13 in associazione con la pratica sportiva o con la competizione agonistica e 32 indipendentemente dalla pratica sportiva.

Non sono state riscontrate correlazioni tra la specifica pratica sportiva e l'incidenza della cefalea. Dall'analisi non sono risultate specifiche caratteristiche cliniche dell'emicrania negli atleti. A completamento del lavoro è stata effettuata anche una valutazione del profilo psicologico degli atleti. E' in corso l'analisi statistica per la stesura del lavoro ai fini di pubblicazione.

Uso della neurostimolazione vagale transcutanea mediante GammaCore per la terapia dell'emicrania mestruale o correlata al periodo mestruale

Il trattamento con neuromodulazione mirato alle cefalee, impiegato per la prima volta nel trattamento della cefalea a grappolo cronica farmacoresistente, sta mutando grazie alla messa a punto dello stimolatore nVNS, acronimo di non invasive vagal nerve stimulation.

Questo tipo di stimolazione può essere utilizzata sia nel trattamento sintomatico che in quello di profilassi.

Il device (GammaCore), delle dimensioni di un cellulare, va collocato sul lato del collo ed emette treni rettangolari di stimoli della durata di circa 90 secondi la cui intensità può essere variata tramite un'apposita rotella fino a che il paziente non percepisce lievi contrazioni muscolari sottocutanee. Presso l'IRCCS San Raffaele Pisana, in collaborazione con l'IRCCS Carlo Besta Milano è in programma uno studio osservazionale per il trattamento di profilassi dell'attacco di emicrania in pazienti con emicrania mestruale o emicrania correlata al periodo mestruale (ICHHD-3 beta A.1.1.1-A.1.1.2).

Lo scopo dello studio è quello di valutare, in questi soggetti la risposta al trattamento di neuromodulazione non invasivo (nVNS) tramite GammaCore. Questo tipo di stimolazione, che può essere utilizzata sia nel trattamento in acuto e sia in quello di profilassi, viene utilizzata come profilassi per il controllo degli attacchi nel periodo mestruale.

Sono state reclutate 56 pazienti con una età media di 40.2 anni. Delle 56 pazienti il 91.1% aveva una diagnosi di Emicrania mestruale correlata ed il rimanente 8.9% una diagnosi di Emicrania mestruale. 5 pazienti sono uscite dallo studio durante il periodo di trattamento con il device (GammaCore), di queste 2 per gravidanza, 1 per menopausa, 1 per intervento chirurgico e 1 per effetti collaterali non correlati con l'utilizzo del dispositivo.

Le pazienti sono state valutate, prima di essere inserite nello studio, da un punto di vista clinico per avere informazioni sulle caratteristiche dell'emicrania e la relazione degli attacchi con il ciclo mestruale.

Inoltre è stata valutata, tramite questionario, la presenza di allodinia cutanea e tramite diario clinico e questionario MIDAS (Migraine Disability Assessment Score Questionnaire), sono stati osservati i giorni di cefalea e la disabilità del paziente. Alla fine del periodo di utilizzo del GammaCore è stato valutato, sempre tramite questionario, il grado di soddisfazione del trattamento. Prima del trattamento i soggetti partecipano, in piccoli gruppi, ad un training in cui viene spiegato il razionale della tecnica e come utilizzare il GammaCore. Durante il training hanno modo di provare il device per verificare la comprensione dell'utilizzo. Il trattamento consiste in una stimolazione del nervo vago a destra, della durata di 90 secondi ciascuna, per 3 volte al giorno (mattina, pomeriggio e sera), da 3 giorni prima, durante e 3 giorni dopo il ciclo mestruale. L'efficacia del trattamento sul dolore (misurata mediante scala VAS) e sui sintomi associati, viene valutata dopo 30, 60 e 120 minuti e successivamente dopo 12 e 24 ore. E' prevista la possibilità di ricorrere a una rescue medication nei pazienti non responsivi a 2 ore dal trattamento. Il GammaCore verrà utilizzato dai pazienti per 3 mesi dopo un periodo di osservazione di 3 mesi. Dopo questo periodo il paziente sarà nuovamente valutato clinicamente, si prenderà visione del diario e del questionario MIDAS per verificare il numero dei giorni di emicrania, il numero di farmaci assunti e il livello di disabilità. L'utilizzo del GammaCore ha significativamente ridotto i giorni di cefalea (4.7 ± 0.5 days; $P < 0.001$) rispetto al baseline (7.2 ± 0.7 days). Inoltre si è assistito anche ad una riduzione dell'intensità del dolore (7.1 ± 0.2 ; $P = 0.002$). L'uso di analgesici di conseguenza si è ridotto da 8.9 ± 0.8 a 5.6 ± 0.5 per mese. Come endpoint secondari si è assistito anche ad una riduzione della disabilità dimostrata tramite il punteggio ottenuto tramite la scala HIT-6 (Headache Impact Test).

Nessuna differenza significativa è stata osservata per la variazione dell'allodinia. Nessun effetto collaterale serio è stato riportato.



Studio caso-controllo sui fattori di rischio familiari e diagnosi precoce della malattia di Parkinson

Nella maggior parte dei casi, le cause della Malattia di Parkinson (Mdp) restano sconosciute e modelli di tipo monogenico non sembrano molto verosimili. Probabilmente ci si trova di fronte a complesse interazioni di molti fattori di tipo genetico e non-genetico.

La Mdp tende a ricorrere nella stessa famiglia più frequentemente di quanto possa avvenire per effetto del caso. Questo fenomeno viene ormai confermato in modo molto consistente dagli studi epidemiologici. Circa il 15-25% dei pazienti riferisce infatti la presenza di familiarità positiva. La ricorrenza familiare di una malattia non è sinonimo di ereditarietà; esistono infatti molti altri fattori, come esposizioni ambientali, occupazionali, ecc. che tendono a ricorrere nelle famiglie, e potrebbero avere un ruolo nel determinare la aggregazione familiare di malattia. La potenziale multifattorialità dell'eziologia della Mdp, combinata alla presenza di un quadro di debole suscettibilità genetica sostiene un modello di interazione gene-ambiente come modello eziologico preferenziale. In associazione con l'identificazione dei fattori di suscettibilità genetica, la letteratura ha riportato alterazioni nella distribuzione in casi e controlli di alcuni fattori fenotipici, fra cui l'instabilità genetica ed il danno al DNA. A completamento delle variabili considerate nella definizione del modello eziopatologico del Parkinson, una serie di variabili ambientali sono state investigate in studi di tipo clinico ed epidemiologico. Fra queste vari aspetti dello stile di vita, la dieta, l'occupazione, la residenza. Anche parametri di funzionalità fisiologica sono stati in varie occasioni considerati come predittori dello sviluppo di malattia.

Obiettivo di questo studio osservazionale di tipo caso controllo è il calcolo dell'Odds Ratio per i singoli fattori di rischio, di tipo genetico (SNPs), ambientale (Occupazione, life-style, etc.), clinici (stipsi, etc.). Ulteriori endpoints riguardano: i) la valutazione dell'interazione gene-ambiente fra le SNPs valutate nei gruppi in studio con i fattori di rischio della malattia; ii) validazione dei principali meccanismi connessi con le fasi precoci della malattia; iii) creazione di un biorepository per lo studio dei fattori di rischio della Mdp.

La popolazione dei casi è rappresentata dai soggetti con diagnosi confermata di Mdp afferenti agli ambulatori del servizio di neuroriabilitazione dell'IRCCS San Raffaele Pisana. I controlli, appaiati per sesso ed età (± 5 anni) sono selezionati fra gli afferenti al centro riabilitativo San Raffaele Pisana per prestazioni non legate a patologie di tipo neurodegenerativo. A tutti i soggetti che finora hanno dato il consenso a partecipare allo studio è stato somministrato un questionario da personale addestrato. L'intervista, proposta dopo gli accertamenti clinici di routine, ha una durata di circa 15 minuti. La dimensione dello studio è valutata con il software dedicato Power 3.0. I parametri inseriti sono scelti sulla base della prevalenza della familiarità con pazienti affetti dalla malattia di Parkinson nella popolazione generale (p_1). Pertanto, dato $p_1 = .20$; Ratio Case to Controls 1:1; $a = 0.05$; $1-b = .80$, per trovare significativo un OR di 1.30 corrispondente ad un rischio di malattia aumentato del 30% per il fatto di avere un parente di primo grado affetto da Parkinson è necessario reclutare 1000 pazienti affetti dalla malattia di Parkinson ed altrettanti controlli (circa 2000 soggetti complessivamente).

Al 31/12/2015 è stato raggiunto un campione finale di 1187 soggetti.

Il campione precedentemente analizzato era composto da 520 casi affetti da Morbo di Parkinson e da 257 controlli non affetti da malattia. L'analisi statistica che segue si riferisce a tale campione. In tabella 1 sono riassunte le caratteristiche socio-demografiche, le abitudini al fumo e l'esposizione a sostanze tossiche per il gruppo dei casi e dei controlli.

E' emerso che nel primo gruppo vi era una maggiore numerosità di maschi (60%) mentre nel

secondo gruppo erano prevalenti le femmine (66%), e tale differenza nella distribuzione per sesso è risultata statisticamente significativa ($p < 0.001$).

I casi avevano un'età media di 68.28 ± 9.55 anni mentre i controlli di 65.18 ± 9.60 . Benché questa differenza sia risultata statisticamente significativa ($p < 0.001$), la probabilità che i tre anni di differenza - e quindi la possibilità che i controlli abbiano avuto tre anni di tempo in meno per sviluppare la malattia - possano avere distorto i risultati appare poco probabile. Il campione è stato ulteriormente suddiviso in classi di età così definite: < 55 anni, 55-59 anni, 60-64 anni, 65-69 anni, 70-74 anni, 75-79 anni, ≥ 80 anni; è apparso che una maggiore proporzione di controlli si distribuiva nelle classi di età inferiori ai 65 anni ($p = 0.004$), tuttavia non è emersa una netta differenza. Per lo studio del Body-Mass-Index (BMI) sono stati messi in relazione il peso attuale e il peso abituale di ciascun individuo e i soggetti sono stati classificati in base alle seguenti classi di BMI: sottopeso BMI < 18.50 ; normopeso BMI: 18.50-24.99; pre-obesità BMI: 25-29.99; obesità BMI ≥ 30 . E' emerso che una proporzione maggiore di casi rispetto ai controlli (8% vs 2%) ha subito un aumento di peso (attuale) tale da determinare un salto di classe di BMI, ed una proporzione maggiore di controlli rispetto ai casi è rimasta nella stessa classe (85% vs 77%) (p -value=0.001). Infine, un numero maggiore di casi (12% vs 5%) è risultato esposto a sostanze tossiche (quali pesticidi e concimi, vernici, colle, solventi e colori per pittura, vernici per carrozzeria, trielina, cianuro di potassio ecc) nelle attività di tempo libero ($p = 0.003$). Nei pazienti inclusi sono stati indagati i seguenti possibili sintomi di esordio di malattia: tremore, stitichezza, depressione, iposmia, e disturbi del sonno. Il primo era presente in circa la metà del gruppo (54%), mentre gli altri sono risultati più rari, essendo presenti in circa il 30%-40% dei pazienti (stitichezza 42% ; depressione 40% ; iposmia 32% ; disturbi del sonno 39%). La localizzazione iniziale di malattia era a destra nel 46% dei casi, a sinistra nel 49% e bilaterale nell'1%, non nota nel restante 4%. La severità di malattia è classificata secondo la scala di Hoehn & Yahr, che copre un range da 1 a 5. In base a questa scala è risultato che la maggior parte dei casi aveva un punteggio tra 2 e 3 (28%). Le abitudini alimentari sono studiate approfondendo il quantitativo di frutta, verdura carne, pesce, salumi ed affettati, caffè, té, coca-cola/altre bibite, bibite energetiche, integratori alimentari, vino, birra e liquori assunto. I casi consumano meno verdura rispetto ai controlli (68% vs 78% di consumo giornaliero, p -value=0.023), mangiano più affettati e salumi (14% vs 6% di consumo giornaliero, p -value=0.016), e tendono a bere più frequentemente vino (41% vs 32% beve con regolarità, $p = 0.002$). Non è emersa differenza statisticamente significativa tra casi e controlli rispetto ai restanti alimenti, bibite e integratori. Dall'analisi sulle aree di residenza degli individui è emersa una differenza statisticamente significativa soltanto relativamente alla residenza più recente; nello specifico, i casi hanno vissuto più a lungo in una zona urbana rispetto ai controlli (37.23 ± 20.39 anni vs 31.67 ± 18.40 anni, $p < 0.001$), mentre non è emersa differenza per il numero medio di anni trascorsi in una zona rurale. Questo dato probabilmente è influenzato dall'ubicazione del Centro dell'IRCCS San Raffaele Pisana, a cui afferiscono principalmente pazienti residenti in zone urbane. Dall'analisi delle occupazioni professionali è emerso che, relativamente all'occupazione più recente, un gran numero di soggetti sono pensionati o non lavorano (64% casi e 47% controlli), un numero maggiore di controlli sono casalinghe (22% vs 12%), oppure lavorano in ufficio o negozio (24% vs 16%) ($p = 0.001$). Questi risultati sono tuttavia da leggere in relazione all'età del campione che è mediamente di 67 anni, e alla distribuzione del sesso (66% di femmine fra i controlli). Per tale ragione sono state studiate anche le professioni precedenti, per cui nel gruppo dei controlli è prevalente il lavoro in ufficio o in negozio, mentre nel gruppo dei casi è più frequente il lavoro come artigiano od operaio. Infine, per ciascun individuo si considera il lavoro eseguito per il maggior numero di anni ed è emerso che il 20% dei casi è stato artigiano o operaio, contro l'8% dei controlli; inoltre una proporzione maggiore di controlli ha riportato come occupazione prevalente l'essere pensionato, nessuna attività lavorativa oppure casalinga (29% vs 11%) ($p < 0.001$). Dall'analisi di regressione logistica semplice è stimato che i maschi hanno un odds di malattia quasi tre volte superiore rispetto alle femmine ($p < 0.001$); tuttavia, come precedentemente accennato, questo risultato andrebbe verificato in un campione con ugual numero di casi e controlli e bilanciato per sesso. Inoltre emerge un trend crescente per età, per cui soggetti con età compresa tra

75 e 80 anni hanno un odds di malattia di 2 volte superiore rispetto a soggetti di età < 55 anni e i soggetti con 80 anni o più hanno un odds di 2.30 volte superiore ($p=0.026$). Si evidenzia un'associazione tra malattia e incremento di classe del BMI, per il quale è stimato un odds quasi 6 volte superiore rispetto ad una classe di BMI invariata ($p=0.001$). Si ritiene che quest'ultimo dato sia da confermare con un'analisi statistica su un campione meglio bilanciato. Il fumo attivo risulta avere un effetto protettivo, con un odds ratio (OR) di 0.63 ($p=0.038$), e l'esposizione a sostanze tossiche nel tempo libero è nociva (OR=3.52, $p=0.001$). Emerge inoltre un trend per il consumo di carne e insaccati che raggiunge significatività statistica al consumo giornaliero (carne: OR=2.88, $p=0.018$; insaccati: OR=2.75, $p=0.014$). L'associazione con il consumo di vino è confermata, per cui risulta un odds di 1.97 ($p\text{-value}=0.001$) per un bevitore occasionale e un odds di 1.58 ($p=0.019$) per un bevitore regolare, rispetto ad un soggetto astemio. Infine per l'analisi di regressione sono considerate soltanto le professioni prevalenti. Rispetto ad una occupazione casalinga, ed escludendo il pensionamento o l'inattività, tutte le professioni sono fortemente associate al Morbo di Parkinson.

Dall'analisi di regressione multipla mediante il metodo 'backward stepwise' è emerso che il sesso, l'età, la variazione di classe del BMI, il fumo attivo, il fumo passivo in casa, l'esposizione a sostanze tossiche nel tempo libero e il consumo di insaccati, il consumo di bevande energetiche e di liquori, e le professioni prevalenti nel nostro campione, sono tutti fattori associati al Morbo di Parkinson. L'assunzione di bevande energetiche, molte delle quali contenenti caffeina e taurina, è risultata come fattore protettivo anche se al limite della significatività (OR=0.40, $p=0.065$), così come l'assunzione di liquori (OR=0.56, $p=0.038$).

Il livello di istruzione è medio alto (i diplomati sono il 37.4% e i laureati 23.3%) con età media di 67 anni deviazione standard 9.62. I soggetti sono per lo più concentrati nella penultima classe (43.03%) nella quale ricadono tendenzialmente persone con età in cui si inizia ad andare in pensione; altro aspetto da notare è la quasi uguaglianza delle due classi 55-64 (non ancora età del tutto pensionabile) e 75+ anni (sicuramente età pensionabile) infatti i soggetti sono per il 57.1% pensionati.

Nel corso del 2015 sono stati arruolati 229 soggetti, prevalentemente controlli di sesso maschile, allo scopo di bilanciare la composizione del campione. Ulteriori 172 soggetti (86 casi e 86 controlli) sono stati arruolati dal San Raffaele Cassino.

Si è provveduto inoltre alla raccolta di 100 campioni di sangue venoso per il calcolo dell'Odds Ratio per i singoli fattori di rischio di tipo genetico (SNPs). Per tale analisi genetica sono state selezionate coppie di coniugi, di cui uno affetto da Morbo di Parkinson idiopatico, conviventi da almeno 20 anni, allo scopo di valutare l'influenza di fattori di rischio ambientali e delle abitudini di vita sulle varianti genetiche selezionate.

L'analisi statistica finale, arricchita da una analisi di regressione multipla, è in corso.

Lo studio aveva già confermato i dati di letteratura che riportano un maggior rischio di malattia in soggetti che effettuano professioni che comportano il contatto con sostanze potenzialmente tossiche (ad es. artigiani, operai, agricoltori). Nel corso dell'ultimo anno sono state identificate ulteriori professioni a rischio (medici, piloti e personale aeroportuale, militari), dato questo non presente in letteratura. Per meglio indagare questo interessante risultato, è in corso una classificazione delle esposizioni a tossici professionali mediante costruzione di job exposure matrixes.

Studio osservazionale sulle caratteristiche cliniche e terapeutiche in pazienti con malattia di Parkinson da più di 20 anni

La Malattia di Parkinson (PD) è una malattia cronica con progressiva disabilità.

La progressione patologica della malattia e di conseguenza l'evoluzione clinica (storia naturale) della malattia è inesorabile ma il trattamento può migliorare i sintomi, modificandone la loro manifestazione clinica e la rilevanza che ciascun fattore invalidante ha sui pazienti. Il termine «advanced-PD» è ampiamente accettato per indicare soggetti con complicanze motorie, ma molti pazienti continuano a progredire verso una fase meno ben definita: la sequenza di eventi non è universale per tutti i pazienti e un sottogruppo di essi classificati con il termine di «advanced-PD» non soddisfano la definizione classica di PD avanzato.

Gli studi che hanno descritto le caratteristiche cliniche considerando la classificazione H & Y, fase 4 e 5, hanno dimostrato che il fenotipo del PD cambia notevolmente nelle fasi avanzate e che i sintomi che maggiormente contribuiscono alla disabilità nella fase avanzata di malattia differiscono da quelli presenti negli stadi meno avanzati e in fase iniziale. La disabilità in fase avanzata è principalmente associata a sintomi non motori quali demenza, psicosi e disautonomia e ai sintomi motori che non rispondono alla levodopa, quali le cadute. Relativamente pochi studi hanno descritto le caratteristiche cliniche, la qualità della vita e la progressione della malattia nei pazienti con molti anni di malattia e di trattamento. Il Sydney Multicenter Study è il più lungo studio prospettico sulla PD e si basa sul follow-up a 20 anni di 136 pazienti parkinsoniani de novo, inizialmente arruolati per comparare l'efficacia e la tollerabilità di basse dosi di L-dopa versus bromocriptina. Questo studio ha dimostrato che le complicanze motorie sono presenti nella maggior parte di pazienti, ma i problemi più invalidanti a lungo termine sono quelli relativi ai sintomi non responsivi alla levodopa. Presenta, però, il limite di essere uno studio prospettico in pazienti parzialmente selezionati, inizialmente arruolati in un trial clinico, quindi con caratteristiche cliniche e susseguente gestione farmacologica ben precisa. Altri studi hanno considerato solo le caratteristiche cliniche degli «advanced-PD» ma non in funzione degli anni di malattia, e senza considerare gli elementi di comorbidità.

Una conoscenza approfondita delle caratteristiche cliniche dei pazienti in fase avanzata si rende necessaria, dal momento che tali pazienti rappresentano un carico importante per le famiglie e il sistema sanitario, e per individuare nuovi target (farmacologici e sintomatologici) a cui indirizzarsi nelle fasi precoci di malattia.

Gli obiettivi dello studio sono:

- caratterizzazione clinica e terapeutica dei pazienti con PD diagnosticata e trattata da più di 20 anni
- identificazione di diversi fenotipi clinici nella PD avanzata e la loro caratterizzazione farmacologica
- valutazione dell'impatto delle differenti comorbidità
- individuazione dei sintomi che causano maggiore disabilità
- individuazione delle differenti disabilità

In questi 2 anni di studio, sono stati arruolati 25 pazienti (13 M, 12 F) con diagnosi di malattia di Parkinson idiopatica. La durata media di malattia è di 24 ± 6 anni, la media di età è di $71 \pm 4,5$ stadio H&Y $4 \pm 0,7$, dosaggio medio di levodopa 829 mg/day. Allo stato attuale, l'analisi dei dati ha evidenziato che 15 pazienti (58%) presentano deterioramento cognitivo; le allucinazioni sono presenti in circa 10 pazienti (40%). Disturbi della sfera urinaria sono presenti in 18 pazienti (72%). 15 pazienti (60%) presentano discinesie indotte da levodopa e 20 pazienti (80%) wearing off disabilitanti.

22 pazienti hanno avuto problemi di cadute, riportando almeno un episodio di cadute negli ultimi 12 mesi. Dei 25 pazienti, 21 necessitano di ausili per la deambulazione. Durante il secondo anno di studio, non è stato possibile raggiungere il numero di pazienti preposti, in gran parte per le difficoltà di accesso al centro, essendo pazienti in stato avanzato di malattia. Pertanto lo studio è stato prolungato di un anno per il raggiungimento del target.

Studio osservazionale prospettico sulla perdita di peso nei pazienti con malattia di Parkinson

La malattia di Parkinson (PD) è una patologia neurodegenerativa cronica e progressiva, caratterizzata da disturbi motori di tipo extrapiramidale e disturbi non motori. Alcuni studi hanno mostrato che i pazienti con PD presentano un peso corporeo inferiore a soggetti sani della stessa età. Tale perdita di peso non intenzionale sembrerebbe spesso precedere le manifestazioni cliniche motorie della malattia e quindi la diagnosi. Il fenomeno della perdita di peso rappresenta un importante elemento clinico, poiché può condizionare la prognosi della malattia e comportare outcome sfavorevoli. Sono stati ipotizzati vari fattori causali, soprattutto negli stadi avanzati, tra i quali la mancanza di appetito per immobilità, disturbi motori e della coordinazione mano-bocca, difficoltà nella masticazione e disfagia, nausea, ipomotilità intestinale, movimenti involontari, terapia con levodopa. Tuttavia, tali fattori non sono in grado di spiegare univocamente e completamente il fenomeno. L'ipotesi fisiopatologica riportata da vari studi ritiene che l'ipertono muscolare caratterizzante la malattia, possa causare un aumento del dispendio energetico e quindi la perdita di peso. L'obiettivo di questo studio è di analizzare il fenomeno della perdita di peso dal punto di vista clinico e metabolico su un campione di pazienti con malattia di Parkinson che abbiano perso peso, comparandoli con un campione di soggetti con malattia di Parkinson che non riferiscono perdita di peso.

Lo studio si prefigge di:

- Caratterizzare la perdita di peso;
- Individuare le caratteristiche cliniche predittive associate a perdita di peso;
- Analizzare il fenomeno nei vari stadi di malattia;
- Individuare la correlazione tra perdita di peso e terapia farmacologica;
- Analizzare le eventuali associazioni con abitudini alimentari;
- Individuare eventuali disfunzioni metaboliche o alterazioni dei parametri di laboratorio in esame.

Lo studio è di tipo monocentrico, osservazionale prospettico. Prevede l'arruolamento di 20 pazienti afferenti al centro per lo studio della Malattia di Parkinson e i disturbi del movimento (ambulatori e reparto di Riabilitazione Neuromotoria) dell'IRCCS San Raffaele Pisana con diagnosi di malattia di Parkinson idiopatica secondo i criteri della UK Brain Bank che abbiano riportato una perdita di peso non volontaria di almeno il 7% del peso abituale, nel periodo che va da 4 anni prima della diagnosi al momento della valutazione e 20 controlli afferenti al centro per lo studio della Malattia di Parkinson e i disturbi del movimento (ambulatori e reparto di Riabilitazione Neuromotoria) dell'IRCCS San Raffaele Pisana con diagnosi di malattia di Parkinson idiopatica secondo i criteri della UK Brain Bank che riferiscano stabilità del peso corporeo da 4 anni prima della diagnosi al momento della valutazione. I pazienti del gruppo di controllo devono avere caratteristiche cliniche e farmacologiche comparabili con il gruppo dei casi.

Nell'ottobre del 2015 è stato presentato al Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana un Emendamento al Protocollo (Emendamento 1 del 15/10/2015), le cui caratteristiche sono:

1. Modifica delle tempistiche previste dal protocollo:

- prolungamento del tempo di arruolamento (da 6 a 18 mesi) per arrivare al numero prefissato di controlli (pazienti con malattia di Parkinson, con caratteristiche cliniche appaiabili ai casi, che non avessero perso peso), che si è reso necessario in seguito alle difficoltà riscontrate nel corso del progetto pilota.

- prolungamento del tempo di osservazione di ogni paziente (da 18 mesi complessivi a 24 mesi complessivi dall'inclusione) poiché la perdita di peso è un fenomeno lento e progressivo.

Quanto esposto prolunga la durata complessiva dello studio da 24 a 43 mesi.

2. Valutazione nutrizionale con un medico specialista in nutrizione clinica per tutti i pazienti del gruppo dei casi che al primo follow-up presentino una perdita di peso clinicamente significativa (BMI<24).

3. Valutazione della composizione corporea tramite metodica DEXA per un sottogruppo di 10 casi con BMI<24 e 10 controlli consecutivi che accetteranno di essere sottoposti all'esame, per meglio definire le caratteristiche del dimagrimento.

Lo schema delle visite è stato modificato come segue:

I pazienti vengono sottoposti a: visita di screening per verificare l'eleggibilità allo studio e stesso obiettivo generale con raccolta dell'anamnesi fisiologica, patologica e farmacologica. All'interno della sezione anamnesi fisiologica viene indagata l'attività fisica abituale. Al momento dell'inclusione e a 24 mesi (T0 e T2) vengono inoltre effettuati:

- Calcolo dei seguenti indici: BMI (Body Mass Index), circonferenza vita, circonferenza tricipite, circonferenza polpaccio;
- Body Composition Analysis tramite metodica bioimpedenziometrica;
- Esami di laboratorio: emocromo, glicemia, insulinemia, GOT, GPT, gamma-GT, colesterolo totale, colesterolo HDL, trigliceridi, sideremia, ferritina, elettroforesi proteica, FT4, TSH, Testosterone totale, PSA totale, acidi grassi liberi;
- Calcolo dell'Homeostasis Model Assessment (HOMA) Index per la valutazione dell'insulino-resistenza;
- Somministrazione di scale specifiche: UPDRS, H&Y, AIMS, MMSE (solo al baseline per i criteri di esclusione). MoCA. Mini Nutritional Assessment (MNA) e Questionario sulle possibili cause di perdita di peso.

Alla valutazione di follow-up a 18 mesi (T1) vengono ripetute tutte le precedenti valutazioni (senza analisi).

Tutti i pazienti nel gruppo dei casi con BMI<24 effettuano una valutazione con un medico specialista in nutrizione clinica (tale colloquio viene effettuato anche a T2).

Inoltre, un sottogruppo di 10 casi con BMI<24 e un sottogruppo di 10 controlli che consecutivamente accettano di essere sottoposti all'esame, effettuano una valutazione della composizione corporea tramite metodica Dual Energy Xray Absorptiometry (DEXA). Tutti i dati raccolti vengono digitalizzati e analizzati mediante analisi statistica sia di tipo parametrico che non parametrico a seconda delle scale da analizzare. I pazienti vengono inoltre stratificati per stadio di malattia.

	CASI (N=21)	CONTROLLI (N=10)
ETA' (MEDIA ± DS)	70,19 ± 6.2	66.9 ± 9.08
SESSO (N)	10 M, 11 F	6 M, 4 F
SCOLARITA' (MEDIA ± DS)	11.14 ± 4.47	11.4 ± 3.43
PATOLOGIE CARDIOVASCOLARI (%)	33	30
DIABETE (%)	4.7	10
PATOLOGIE GASTROENTERICHE (%)	14	0
ANNI DI MALATTIA (MEDIA ± DS)	12.09 ± 6	9.5 ± 4.19
TERAPIA CON LEVO-DOPA (%)	100	100
MG LEVO-DOPA/DIE (MEDIA ± DS)	655.95 ± 254.57	470 ± 209.43
TERAPIA CON IMAO (%)	66	80
TERAPIA CON COMT-I (%)	57.1	70
TERAPIA CON DA (%)	38.1	50

TERAPIA CON AMANTADINA (%)	9.5	20
TERAPIA CON ANTIDEPRESSIVI/ANTIPSIKOTICI (%)	23.8	30
TERAPIA PER LA DEMENZA (%)	9.5	0
HOEHN & YAHR (MEDIA ± DS)	2.8 ± 0.29	2.65 ± 0.41
UPDRS TOTALE (MEDIA ± DS)	47.33 ± 13.65	43.5 ± 12.23
AIMS (MEDIA ± DS)	5.25 ± 4.22 (N=20)	2.8 ± 3.56 (N=8)
MOCA (MEDIA ± DS)	20.9 ± 5.21	20.6 ± 4.81
BMI (MEDIA ± DS)	22.7 ± 4.16	28.12 ± 3.2
PESO PERSO (MEDIA ± DS)	13.82 ± 7.23	NA
MNA (MEDIA ± DS)	20.9 ± 3.95	25.9 ± 1.1

Lo studio ha durata complessiva di 43 mesi (reclutamento: 18 mesi; valutazione clinica di ciascun paziente: dall'inclusione fino a 24 mesi).

Nel primo anno sono stati arruolati complessivamente 31 soggetti, di cui 21 casi e 10 controlli. Il target previsto per il numero di casi da arruolare è stato raggiunto. E' stato incluso nei casi un soggetto in più rispetto al previsto, in quanto una paziente che inizialmente aveva riferito stabilità del peso, ha in seguito precisato la sua anamnesi riferendo un dimagrimento significativo. Il reclutamento dei controlli si è rivelato più difficoltoso del previsto, in quanto le caratteristiche cliniche e soprattutto farmacologiche dovevano essere strettamente sovrapponibili ai casi inclusi. Tale difficoltà è una delle motivazioni che ha portato alla stesura del primo emendamento.

Le caratteristiche cliniche dei casi e dei controlli inclusi nello studio sono riassunte nella Tabella 1.

Gli esami di laboratorio effettuati non hanno mostrato alterazioni patologiche di rilievo o differenze di parametri ematici tra casi e controlli. L'unico valore alterato nella maggior parte dei soggetti arruolati, sia nei casi che nei controlli, è stata la Transaminasi Glutammico-Piruvica (GPT), che si è dimostrata al di sotto dei limiti inferiori della norma. Tale dato, qualora fosse confermato al termine dell'arruolamento, è meritevole di un ulteriore approfondimento e caratterizzazione. Sono stati evidenziati due casi di anemia sideropenica, opportunamente trattati. Le caratteristiche cliniche dei due gruppi hanno evidenziato una maggiore severità delle discinesie nei casi in accordo con quanto riportato in letteratura. I movimenti involontari sono infatti stati spesso associati alla perdita di peso per il dispendio calorico a cui sono associati. La storia farmacologica di un numero elevato di casi ha inoltre evidenziato un'esposizione a due particolari farmaci, anch'essi noti in letteratura per il loro effetto anoressizzante. L'introduzione della DEXA e della valutazione nutrizionale tra le procedure dello studio dovrebbe infine consentire una maggiore caratterizzazione del dimagrimento, permettendo agli sperimentatori di meglio definire la patogenesi di questo fenomeno.

Studio osservazionale per caratterizzare i problemi dell'OFF mattutino in pazienti affetti da malattia di Parkinson nella pratica clinica

Quando viene somministrata per la prima volta ai pazienti con malattia di Parkinson (PD), la levodopa generalmente ha una azione rapida (entro 20 minuti), un effetto prolungato, e determina un consistente controllo dei sintomi durante tutto il corso della giornata. Purtroppo, con l'avanzare della malattia, la durata del beneficio terapeutico di ogni singola dose spesso si accorcia, e il paziente può manifestare una ricomparsa dei periodi di OFF qualora i sintomi non siano sufficientemente controllati.

Quando si verifica, l'OFF può essere causato da un ritardo dell'inizio dell'effetto (delayed-ON) e/o da un accorciamento dell'efficacia della dose ("wearing-off"). Inoltre, la levodopa può determinare un beneficio solo parziale (ON-suboptimale), o può fallire completamente l'effetto (no-ON/fallimento della dose).

I motivi per cui la levodopa può impiegare più tempo per funzionare, o può non funzionare del tutto, sono molteplici. Ad esempio, la levodopa, essendo assorbita nel piccolo intestino, può risentire di problematiche inerenti un ritardato svuotamento gastrico, così come un alterato assorbimento intestinale della dose può inficiarne l'efficacia.

Mentre sono già presenti strumenti per la valutazione del wearing-off e dei sintomi legati a questo fenomeno, mancano strumenti specifici per una più netta identificazione dei fenomeni di OFF. Questo studio si propone di identificare la presenza di eventuali problematiche dell'ON, mediante l'utilizzo di un semplice questionario, il TOQ (time-to-ON Questionnaire).

Il TOQ è stato disegnato per aiutare il medico specialista ad identificare il paziente che manifesta un ritardo dell'ON in relazione al proprio usuale regime di somministrazione della levodopa. Il TOQ è composto di tre parti: la parte A indaga la presenza di due comuni eventualità cliniche – quella del mattino, quando il paziente assume la prima dose di farmaco ("early morning OFF"), e quella dell'ora di pranzo, quando il contenuto del pasto può interferire con l'assorbimento della dose di levodopa ("postprandial OFF"). La parte B è stata disegnata per identificare i principali sintomi che i pazienti manifestano durante il loro OFF. Infine la parte C è una sorta di diario che i pazienti devono compilare autonomamente.

Obiettivi primari:

1. documentare la prevalenza dell'early morning OFF nei pazienti con PD trattati con levodopa nella pratica clinica;
2. caratterizzare segni e sintomi associati al ritardo del tempo di ON (delays in time to ON – TTO) dopo l'assunzione della prima dose di levodopa del mattino (early morning OFF).

Obiettivo secondario: caratterizzare segni e sintomi associati al ritardo del tempo di ON (delays in time to ON – TTO) dopo l'assunzione della dose di levodopa del pranzo (postprandial OFF).

Lo studio è osservazionale, internazionale, monocentrico, non-interventistico.

La popolazione in studio è costituita da tutti i soggetti affetti da PD in trattamento da almeno un anno con levodopa afferenti consecutivamente al centro specialistico, che soddisfino i criteri di inclusione e di esclusione, nel periodo di arruolamento concordato. E' prevista una sola valutazione di ciascun paziente, in occasione di una visita programmata in base alla pratica clinica del centro. Durante questa visita, il paziente completa la parte A e B del questionario TOQ, con l'aiuto del medico o del personale idoneo (infermiere o psicologo). Questa parte richiede circa 10-15 minuti. Ai pazienti che indicano di avere ritardo del TTO (definito come una risposta positiva alla parte A), viene domandato di completare anche il diario (parte C) domiciliarmene per 5-6 giorni, diario che poi deve essere recapitato (anche per posta o e-mail) al centro.

L'early morning OFF è definito come il tempo di attesa per l'effetto clinico della levodopa, che sia ovviamente superiore a quello abituale (>1/>2/>3 ore).

Sono stati studiati 90 pazienti (34 F e 56 M), con durata media di malattia di 7.94 anni. Di questi pazienti, il 57% è stato capace di identificare la differenza clinica tra ON e OFF, ed ha quindi completato anche la seconda parte del questionario, con buona aderenza alle risposte.

Questi pazienti avevano una durata di malattia prevedibilmente più elevata (9.96 anni) rispetto al restante 43% di pazienti (5.46 anni) che invece non avevano una percezione chiara dell'ON e dell'OFF clinico. È emerso che il fenomeno dell'early morning OFF è piuttosto rappresentato e significativo nella popolazione. Il 27% dei pazienti deve aspettare tra i 30 e i 45 minuti per il funzionamento della prima dose di farmaco; il 25% addirittura più di un'ora; un altro 25% tra i 15 e i 30 minuti; il 17 % entro un'ora e solo il 6% entro i 15 minuti. Questo fenomeno si verifica su più giorni della settimana, e per la maggior parte dei casi risulta problematico per i pazienti. I sintomi maggiormente descritti durante l'attesa dell'ON sono: lentezza (48 pazienti); rigidità (39 pazienti); difficoltà motorie e di deambulazione (33 pazienti), e a seguire tutti gli altri, con alta rappresentazione dei sintomi della sfera cognitiva ed umorale. Lo studio proseguirà anche nel 2016 per raggiungere una maggiore significatività del campione.

Studio sull'efficacia – efficienza del trattamento delle prassie orali su pazienti con Malattia di Parkinson e Paralisi Sopranucleare Progressiva (PSP) per mantenimento delle abilità deglutitorie e fonatorie

La malattia di Parkinson (PD) e la Paralisi Sopranucleare Progressiva (PSP) sono patologie neurodegenerative croniche e progressive, caratterizzate da disturbi motori di tipo extrapiramidale e disturbi non motori. Alcuni studi hanno mostrato che i pazienti con PD e PSP presentano una motricità orale spesso ridotta rispetto alla categoria di persone della stessa età non affette dalla malattia. Tale deficit può comportare delle severe difficoltà sia a carico dell'espressione verbale, poiché la parola può risultare abburattata durante l'andamento dell'eloquio, sia a carico della deglutizione. I muscoli del distretto oro-bucco-faciale sono fondamentali sia per quanto riguarda l'efficace articolazione del linguaggio, che per la gestione delle varie consistenze durante l'ingestione di boli liquidi, semisolidi, solidi morbidi, solidi e doppie consistenze.

Il fenomeno della perdita di motricità orale rappresenta un rilevante segnale clinico, poiché può comportare un outcome sfavorevole al livello personale e sociale delle persone affette da PD e PSP.

Lo studio si propone di monitorare il funzionamento del distretto orale su un campione di pazienti con PD e PSP che manifestano deficit prassico a carico del volto cercando di dimostrare che un costante allenamento della zona del volto può migliorare o mantenere la motricità orale residua, dando beneficio alla parola e alla deglutizione.

Lo studio inoltre si prefigge di:

- Analizzare la motilità orale attraverso la valutazione delle abilità prassiche su un campione di pazienti;
- Individuare i pazienti reclutabili per il trattamento del deficit prassico;
- Analizzare l'andamento della disfunzione durante i trattamenti;
- Ricercare una ipotetica correlazione tra deficit a carico della parola e deficit deglutitorio;
- Effettuare una eventuale rilevazione di un miglioramento dell'escursione a carico dei muscoli del volto a seguito di trattamento;
- Verificare l'outcome a carico della motricità dei muscoli del distretto orale rispetto al T0 di reclutamento.

Lo studio è di tipo monocentrico, con valutazione e trattamento effettuati durante il periodo di degenza.

L'obiettivo è quello di valutare 100 pazienti con Malattia di Parkinson e 20 pazienti con PSP nei quali ricercare i disturbi a carico del distretto oro-bucco-faciale mediante la valutazione oggettiva del linguaggio e la sensibilità di risposta al questionario soggettivo inerente il deficit deglutitorio. Sono stati valutati e reclutati 47 pazienti, di cui 21 donne e 26 uomini di età mediamente compresa intorno ai 68 anni. Sul campione che si è mostrato sensibile e carente nelle prove di valutazione indicate è stato effettuato un trattamento logopedico mirato al miglioramento/mantenimento della motricità orale con valutazione finale per la quantificazione dei miglioramenti determinati dalla terapia. Sono stati inclusi i pazienti con diagnosi di PD afferenti al reparto di Riabilitazione Neuromotoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana, dal momento del ricovero fino alla dimissione, con programmazione di follow-up nell'ambulatorio dell'IRCCS, per la verifica della corretta acquisizione delle tecniche di allenamento dei muscoli del distretto orale.

I pazienti del gruppo di controllo, afferenti all'ambulatorio di ricerca per il Parkinson, hanno le stesse caratteristiche dei pazienti trattati con esercizi di motricità orale, ma non sono sottoposti al medesimo trattamento.

Tutti i pazienti inclusi nello studio sono sottoposti ad esame obiettivo generale della motricità orale, delle capacità diadococinetiche, del tempo medio fonatorio e delle abilità deglutitorie.

Al momento dell'inclusione è effettuata:

- indagine dell'orientamento spazio-temporale;

- analisi della motricità orale attraverso l'esecuzione su richiesta verbale delle prassie orali;
- indagine delle abilità diadococinetiche riguardanti coppie bisillabiche di fonemi anteriori, mediali e posteriori;
- indagine delle abilità deglutitorie mediante somministrazione di un questionario soggettivo ed oggettivo eseguito con tutte le consistenze proposte per lo studio clinico delle abilità deglutitorie;
- calcolo del tempo medio fonatorio con parametri di riferimento differenziati per sesso;
- valutazione della corretta ripetizione di frasi includenti suoni con articolazione complessa;
- indagine della fluenza verbale.

Lo studio ha una durata complessiva di 24 mesi (al momento del ricovero; valutazione clinica a T0; trattamento logopedico per tutta la durata del tempo di degenza; valutazione dell'outcome al momento della dimissione; follow-up a medio termine).

Parte dei pazienti valutati nello studio sono stati reclutati dalla degenza presso il reparto dell'IRCCS San Raffaele Pisana, altri invece sono stati reclutati dagli ambulatori dello stesso IRCCS. I pazienti reclutati presentavano tutti un livello cognitivo adeguato, ed uno stato di compliance durante i trattamenti favorevole allo svolgimento degli stessi: i pazienti sono stati trattati mediamente con una frequenza di 3 volte la settimana per 45' l'uno, e dal lavoro eseguito è emerso un miglioramento oggettivo e soggettivo della motricità orale che interessava tutto il distretto oro-bucco-facciale. Gli stessi pazienti hanno rilevato un giovamento a carico della fluidità verbale a seguito della partecipazione al training logopedico, presentando una maggiore chiarezza ed intelligibilità a carico dell'eloquio; solo una piccola minoranza degli stessi ha riferito miglioramenti al livello deglutitorio al termine del percorso riabilitativo.

Ricerca Traslazionale

LABORATORIO DI NEUROBIOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE

Il ruolo della nucleolina nei processi di disfunzione sinaptica e neurodegenerazione associati alla malattia di Alzheimer

La presenza di alterazioni morfologiche nelle strutture nucleolari ed un aumento dei livelli di stress nucleolare sono stati riportati in diverse patologie neurodegenerative incluse la malattia di Parkinson (PD) e la malattia di Alzheimer (AD). L'analisi in vitro ed in vivo della funzionalità nucleolare ha evidenziato come l'inibizione della trascrizione dell'rRNA sia una delle conseguenze principali associate alla disfunzione nucleolare nelle patologie neurodegenerative e nel processo di neurodegenerazione. La nucleolina è una delle principali proteine nucleolari responsabili della regolazione della trascrizione dell'rRNA ed i suoi livelli di espressione sono stati trovati ridotti a livello ippocampale e corticale nei pazienti AD, sia in stadi avanzati della malattia che in stadi precoci antecedenti la morte neuronale.

In questo primo anno di progetto è stato valutato l'impatto degli oligomeri del peptide A β 1-42 (A β O), considerato uno dei fattori causali principali dell'AD, sul processo d'inibizione della sintesi dell'rRNA in colture neuronali primarie. A tal fine, è stata innanzitutto verificata l'attività neurotossica delle preparazioni oligomeriche del peptide A β 1-42, preparata secondo protocolli standardizzati, mediante trattamento di neuroni corticali di ratto (DIV 7-9) con 1 e 10 μ M di A β O per diversi tempi (4,8 e 24h). I risultati ottenuti attraverso saggi di vitalità cellulare quali l'LDH hanno mostrato come, ad entrambe le concentrazioni utilizzate, l'A β 1-42 oligomerica preparata non induce morte neuronale entro le 24h analizzate. Dopo 48h invece, utilizzando 10 μ M di A β O, si osservano livelli di morte neuronale pari a circa il 20-40%.

Successivamente è stato analizzato l'effetto inibitorio della sintesi dell'rRNA da parte dell'A β O utilizzando una concentrazione pari a 10 μ M, in un range temporale di 4-24h. Queste condizioni sperimentali sono state scelte in modo da permettere di valutare l'effetto inibitorio dell'A β 1-42 oligomerica in assenza di un rilevante fattore confondente come la morte neuronale. Al termine del trattamento le cellule sono state raccolte e sottoposte ad estrazione di RNA mediante Trizol. I livelli di sintesi di rRNA sono stati valutati attraverso l'analisi del precursore dell'rRNA, 45S, mediante RT-PCR con primer specifici. I risultati preliminari ottenuti hanno mostrato come in presenza di 10 μ M A β O si ha una riduzione dell'rRNA 45S già dopo 4 ore di trattamento (Fold change log base 2: -0,4). Tale riduzione sembra aumentare lievemente nei tempi successivi analizzati (8h: -0,44; 24h: -0,52). L'analisi dei livelli di mRNA della nucleolina ha mostrato una concomitante riduzione dei livelli di espressione di questa proteina, soprattutto nei tempi brevi (4h: -0,4; 8h: -0,8), suggerendo una relazione causale tra diminuzione dei livelli di espressione della nucleolina ed inibizione della sintesi dell'rRNA.

Ci si attende di:

- Caratterizzare le alterazioni morfologiche-funzionali del nucleolo in colture primarie di neuroni corticali di ratto a seguito del trattamento con A β 1-42 oligomerica.
- Determinare il ruolo della nucleolina nel processo d'inibizione di sintesi dell'attività dell'RNA polimerasi I indotto da A β O in neuroni corticali di ratto.
- Identificare la nucleolina come fattore protettivo nel processo di morte neuronale indotta da A β O.
- Determinare in vitro ed in vivo il ruolo della nucleolina nei processi di disfunzione sinaptica associati al trattamento con A β O.
- Caratterizzare la proteina SIRT6 nel Sistema Nervoso Centrale.

Sviluppo di strategie immunoterapeutiche innovative specifiche per la malattia di Alzheimer utilizzando gli anticorpi intracellulari

I trattamenti terapeutici utilizzati attualmente per la malattia di Alzheimer (AD) sono essenzialmente di tipo sintomatico e dal 2003 non ci sono nuovi farmaci approvati per questa patologia. L'immunizzazione passiva diretta contro gli oligomeri del peptide beta amiloide, rappresenta uno dei potenziali trattamenti per combattere l'AD ed in questo ambito la strategia degli anticorpi intracellulari ha mostrato negli ultimi anni risultati promettenti. Il valore aggiunto di questa strategia immunoterapeutica si basa sulla possibilità di generare ed applicare anticorpi ricombinanti diretti contro conformeri specifici neurotossici come gli oligomeri di A β 1-42 (A β O), e di veicolare tali forme anticorpali verso i siti di localizzazione subcellulare coinvolti nella formazione, l'accumulo e l'azione patologica dell'A β O.

In quest'anno di progetto sono stati valutati in vivo gli effetti sinaptoprotettivi degli anticorpi intracellulari anti-A β 1-42 oligomerica generati e diretti verso il compartimento post-sinaptico (PostSyn-ScFvA β 1-42). A tal fine sono state inizialmente testate due differenti dosi di rAAV anti-A β O (1x10¹⁰ e 2.5x10¹¹ unità di trasduzione virale) in topi wt di 2-3 mesi di età, mediante iniezione intracerebroventricolare (icv). Queste dosi sono state scelte sulla base dei risultati ottenuti nell'anno precedente e dei dati riportati in letteratura mentre i topi sono stati iniettati a 2-3 mesi di età poiché nel modello murino di AD utilizzato si osservano deficit cognitivi e morte neuronale tra i 4 ed i 9 mesi. A 4-6 mesi post-iniezione, i topi sono stati quindi sacrificati, ed i cervelli sono stati analizzati mediante immunofluorescenza e western blot per valutare l'efficienza di trasduzione, la localizzazione subcellulare cerebrale ed i livelli proteici degli anticorpi intracellulari iniettati. Eventuali effetti citotossici associati all'espressione degli anticorpi anti-A β O sono stati analizzati attraverso colorazione con Cresyl violet mentre la presenza di risposte immunitarie avverse dovute all'infezione con queste dosi di rAAV (serotipo 1/2) sono state valutate mediante colorazione con anticorpi specifici anti-LN3 ed anti-GFAP. Le analisi effettuate hanno rivelato che, utilizzando queste dosi, ed in particolare 2.5x10¹¹ unità di trasduzione virale, l'efficienza di trasduzione (data come percentuale di neuroni infettati) di tali vettori è significativa. Si è inoltre osservato come i livelli proteici degli anticorpi intracellulari anti-A β O si mantengono elevati fino a 4-6 mesi dopo l'iniezione. Non sono stati osservati fenomeni di citotossicità né risposte immunitarie avverse.

Successivamente è stata effettuata una valutazione delle capacità sinaptoprotettive degli anticorpi intracellulari PostSyn-ScFvA β 1-42 analizzando i livelli proteici e la localizzazione cellulare di marcatori specifici sinaptici (e.g. PSD-95) in un modello murino di AD. I risultati ottenuti mediante immunofluorescenza e western blot su cervelli di topi AD di 4-9 mesi, iniettati con rAAV PostSyn-ScFvA β 1-42 (2.5x10¹¹ unità di trasduzione virale) a 2-3 mesi di età, hanno mostrato come l'espressione in vivo degli anticorpi intracellulari anti-A β O diretti verso il compartimento post-sinaptico sia in grado di contrastare gli effetti sinaptotossici tipici del modello murino di AD usato. Infatti, nei cervelli dei topi AD analizzati, si osserva un ripristino sostanziale sia dei livelli proteici che della tipica localizzazione subcellulare di marcatori sinaptici specifici quali PSD-95. L'iniezione di rAAV codificanti per anticorpi di controllo non ha invece mostrato significative variazioni. Questi risultati suggeriscono come gli anticorpi intracellulari anti-A β 1-42 oligomerica post-sinaptici rappresentino degli strumenti potenzialmente efficaci per contrastare gli effetti sinaptotossici associati agli oligomeri di A β 1-42.

Ci si attende di poter determinare in vivo gli effetti neuroprotettivi e sinaptoprotettivi degli anticorpi intracellulari anti-A β 1-42 oligomerica post-sinaptici.

Proteine coinvolte nella riparazione del DNA come potenziali biomarcatori della malattia di Alzheimer

Il corretto funzionamento dei sistemi di riparazione del DNA è un prerequisito essenziale per la sopravvivenza cellulare e l'alterazione di questi sistemi può contribuire allo sviluppo non soltanto di diverse forme tumorali ma anche di malattie neurodegenerative, come la malattia di Alzheimer (AD). I risultati recenti ottenuti in questa direzione suggeriscono come la presenza di deficit funzionali dei sistemi di riparazione delle rotture a doppio filamento del DNA (DSBs) svolgano un ruolo importante nei processi neurodegenerativi e nelle disfunzioni sinaptiche osservate nei pazienti AD. Pertanto, l'analisi dei fattori essenziali per il funzionamento di questi sistemi di riparazione, come potenziali nuovi target terapeutici e come eventuali biomarcatori periferici di patologia, potrebbe aprire una nuova prospettiva per la cura e la diagnosi dell'AD. Inoltre, è plausibile ipotizzare che mutazioni e/o polimorfismi in alcuni geni coinvolti nella riparazione dei DSBs possano rappresentare dei fattori di rischio per lo sviluppo dell'AD e dei deficit cognitivi ad essa associati. Tra questi, i geni codificanti il complesso della DNA-PK potrebbero avere una rilevanza significativa poiché questo complesso media l'attività della "non-homologous end joining (NHEJ)", il sistema principale di riparazione dei DSBs nei neuroni, e la sua funzionalità è significativamente ridotta nei pazienti AD. Inoltre, studi effettuati negli anni precedenti hanno evidenziato come topi mutanti per la DNA-PK (topi SCID) presentano una compromissione del potenziamento a lungo termine (LTP), correlato elettrofisiologico dei processi di apprendimento e memoria. Un altro dato interessante è che i topi BALB/c, un ceppo murino comunemente usato in laboratorio e con una scarsa capacità di apprendimento, presentano due polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) nel gene codificante la DNA-PK (Prkdc SNPs R2140C e M3844V), che sono associati ad una ridotta espressione ed attività della DNA-PK così come della capacità di riparazione del DNA.

In questo primo anno di progetto è stato analizzato l'impatto del polimorfismo R2140C, un sito incluso in una regione ben conservata del gene codificante la DNA-PK sui parametri comportamentali dei topi BALB/c confrontandoli con topi SCID che presentano una ridotta LTP. A tal fine n=8 animali per gruppo sperimentale sono stati sottoposti ad un test comportamentale per la memoria spaziale dipendente dall'ippocampo (Morris Water Maze, MWM) ed è stata quindi analizzata la presenza del polimorfismo mediante sequenziamento. I risultati ottenuti hanno mostrato come la presenza di questo polimorfismo sia associata significativamente ad una performance nel MWM confrontabile nei due gruppi sperimentali e pertanto supporta la possibilità che mutazioni/polimorfismi della DNA-PK, e conseguentemente una ridotta attività, possano avere un ruolo patologico nei deficit cognitivi e comportamentali associati all'AD e costituire eventuali biomarcatori di patologia.

Ci si attende di:

- identificare il complesso della DNA-PK ed eventuali SNPs come potenziali biomarcatori periferici dell'AD.
- identificare la disfunzione del sistema di riparazione dei DSBs, dipendente dalla DNA-PK, come nuovo meccanismo molecolare alla base della patogenesi dell'AD.
- identificare le proteine coinvolte nella riparazione dei DSBs, dipendente dalla DNA-PK, come potenziali bersagli terapeutici dell'AD e più in generale delle malattie neurodegenerative.
- definire la correlazione specifica tra disfunzione del sistema di riparazione dei DSBs dipendente dalla DNA-PK e deficit cognitivi.

LABORATORIO DI ELETTROFISIOLOGIA

Studio della trasmissione GABAergica nelle malformazioni pediatriche dello sviluppo cerebrale

Le malformazioni corticali sono la maggior causa di epilessia pediatrica spesso associate a disordini dello sviluppo intellettivo (Orlova KA, Crino PB, 2010; De Vries PJ, 2010). Tra queste, la displasia corticale focale (FCD) e la Tuberous sclerosis complex (TSC) rappresentano due delle forme più frequenti di malformazioni corticali che si riscontrano in pazienti pediatrici sottoposti a chirurgia dell'epilessia (Cepeda et al., 2006; Talos et al., 2012). E' noto che le crisi epilettiche in queste malformazioni siano il risultato di uno squilibrio tra la trasmissione eccitatoria e inibitoria e che farmaci di prima linea, che aumentano la funzionalità del recettore inibitorio GABA-A, spesso non siano efficaci suggerendo che un'alterata inibizione GABAergica possa contribuire alla generazione delle crisi e all'epilettogenesi.

I recettori GABA-A sono canali anionici formati dall'associazione di 5 subunità, per lo più permeabili al cloro. E' noto come il cloro rivesta un ruolo chiave nella trasmissione inibitoria: nei neuroni maturi, infatti, all'attivazione del recettore GABA, il cloro entra nella cellula, iperpolarizzandola. Al contrario, nei neuroni immaturi, la concentrazione di cloro è più elevata con conseguente fuoriuscita di cloro all'attivazione del recettore che rende la cellula più depolarizzata e quindi più facilmente eccitabile (Ben-Ari 2002).

Lo scopo del presente progetto è stato quello di voler indagare i meccanismi molecolari alla base delle crisi epilettiche nelle malformazioni pediatriche dello sviluppo. Essendo un aspetto molto invalidante nella vita dei pazienti, i ricercatori volevano capire cosa determinasse la presenza di crisi epilettiche in questo tipo di malformazioni corticali e se un'alterata omeostasi del cloro potesse influire o meno nell'insorgere delle crisi epilettiche in questi pazienti.

In particolare, il progetto ha i seguenti obiettivi:

(1) Caratterizzare attraverso la tecnica del microtrapianto di membrane in oociti di *Xenopus* le correnti GABAergiche in tessuti di pazienti di controllo di diversa età (da poche settimane pre-natali a età adolescenziale). In particolare, lo scopo è stato quello di definire il valore del potenziale di inversione EGABA (più o meno depolarizzato) in relazione alle diverse età dei pazienti al fine di individuare la natura eccitatoria o inibitoria del GABA e vedere se la variazione verso valori più iperpolarizzati seguisse l'aumento dell'età.

(2) Caratterizzare l'evoluzione del rapporto delle correnti del glutammato (tipo AMPA), e GABA-mediate al fine di studiare il risvolto funzionale delle variazioni delle subunità dei recettori AMPA e GABAA in relazione allo sviluppo cerebrale dei bambini.

(3) Confrontare i valori di EGABA ottenuti nei pazienti in età di sviluppo con tessuti pediatrici di pazienti affetti da FCD e TSC e valutare se questi avessero caratteristiche comuni tali da spiegare l'aumentata eccitabilità neuronale.

(4) Quantificare, qualora si fosse trovata una differenza nel valore del potenziale di equilibrio, se questa variazione fosse stata determinata da una differente espressione tra i due trasportatori del cloro NKCC1 e KCC2 sia in tessuti pediatrici a diverse età sia in tessuti di pazienti FCD e TSC. In dettaglio i metodi utilizzati sono stati i seguenti:

- Preparazione di membrane: le membrane sono state preparate come descritto precedentemente (Miledi et al., 2002) e usate direttamente oppure conservate a -80 °C fino all'uso.

- Animali: Rane femmine *Xenopus Laevis* sono state acquistate dal Centre d'Elevage de Xenopes CNRS-CRBM (Montpellier Cedex Francia) e stabularizzate presso il Dipartimento di Fisiologia e Farmacologia dell'Università di Roma.

- Iniezione negli oociti: Le cellule sono state iniettate nel citoplasma come precedentemente descritto (Miledi et al., 2002) con circa 50-100 nl di glicina 5 mM (10-12 mg proteina/ml) e mantenute a 16 °C fino alle registrazioni elettrofisiologiche

- Registrazioni in voltage-clamp: Dopo 12 ore dall'iniezione citoplasmatica di membrane sono state registrate negli oociti le correnti GABA con la tecnica del voltage-clamp intracellulare con due elettrodi come descritto precedentemente (Palma et al., 2002). Gli esperimenti riguardanti il calcolo dell'ampiezza, decadimento, EGABA sono stati effettuati come precedentemente descritto (Palma et al., 2002).

- RT-PCR quantitativa: Campioni di tessuto cerebrale (0,6-1µg) sono stati omogeneizzati e l'RNA totale estratto con il metodo del Trizol. L'integrità dell'RNA è stata valutata mediante elettroforesi su gel e la sua concentrazione misurata mediante spettrofotometria. La RT-PCR quantitativa è stata effettuata in collaborazione con la Dr. Aronica dell'Università di Amsterdam.

I ricercatori hanno caratterizzato, con questo progetto, il potenziale di inversione del GABA durante lo sviluppo cerebrale in tessuti di pazienti pediatrici di varia età. In particolare, avvalendosi della tecnica del microtrapianto, hanno iniettato in oociti di *Xenopus* tessuti di pazienti pediatrici in età prenatale e postnatale (da 15 settimane di gestazione ai 15 anni di età) e studiato il valore di EGABA nei singoli pazienti. Essi hanno osservato che, durante lo sviluppo del cervello, vi è un progressivo spostamento del potenziale d'inversione del GABA da valori più depolarizzati a quelli più iperpolarizzati, tipici di un EGABA riscontrabile in età adulta (da -16.4 mV nel paziente di 15 settimane di gestazione a -24 mV nel paziente di 15 anni). Inoltre, i ricercatori hanno confermato che in questi tessuti, il cambiamento del potenziale è associato ad una differenziale espressione dei cotrasportatori del cloro NKCC1 e KCC2, come precedentemente visto in modelli animali. Infine, hanno analizzato il rapporto tra le correnti eccitatorie AMPA e quelle inibitorie GABA nei due tipi di tessuti. I ricercatori hanno scoperto che il rapporto corrente AMPA/GABA è significativamente differente nei tessuti prenatali rispetto a quelli postnatali e che ciò è direttamente correlato con la modifica del rapporto di espressione delle due subunità AMPA GluR2 e GluR1 in questi tessuti.

Con il proseguo del progetto i ricercatori vogliono raggiungere i seguenti risultati:

- Confrontare i valori di EGABA ottenuti nei pazienti pediatrici di controllo pre- e post-natali con quelli che otterremo nei tessuti FCD e TSC di pazienti pediatrici e adulti al fine di ottenere una correlazione che possa aiutare a comprendere alcuni dei meccanismi alla base dell'insorgenza delle crisi epilettiche in pazienti affetti da queste patologie.

- Analizzare l'espressione dei trasportatori del cloro NKCC1 e KCC2 nei tessuti FCD e TSC e metterli in relazioni con i valori ottenuti nei pazienti pediatrici di controllo.

- Studiare le correnti GABA e AMPA in modo da individuare se nei tessuti di pazienti TSC e FCD si abbiano caratteristiche sovrapponibili a quelle riscontrate nei pazienti a diverse età di sviluppo cerebrale.

I tessuti di pazienti pediatrici da autopsie a diversi stadi di sviluppo sono stati forniti dal Dipartimento di Neuropatologia dell'Università di Amsterdam (Dr.ssa Eleonora Aronica).

In dettaglio i metodi utilizzati sono stati i seguenti:

- Preparazione di membrane: le membrane sono state preparate come descritto precedentemente (Miledi et al., 2002) e usate direttamente oppure conservate a -80 °C fino all'uso.
- Animali: Rane femmine *Xenopus Laevis* sono state acquistate dal Centre d'Elevage de Xenopes CNRS-CRBM (Montpellier Cedex Francia) e stabularizzate presso il Dipartimento di Fisiologia e Farmacologia dell'Università di Roma.
- Iniezione negli oociti: Le cellule sono state iniettate nel citoplasma come precedentemente descritto (Miledi et al., 2002) con circa 50-100 nl di glicina 5 mM (10-12 mg proteina/ml) e mantenute a 16 °C fino alle registrazioni elettrofisiologiche
- Registrazioni in voltage-clamp: Dopo 12 ore dall'iniezione citoplasmatica di membrane sono state registrate negli oociti le correnti GABA con la tecnica del voltage-clamp intracellulare con due elettrodi come descritto precedentemente (Palma et al., 2002). Gli esperimenti riguardanti il calcolo dell'ampiezza, decadimento, EGABA sono stati effettuati come precedentemente descritto (Palma et al., 2002).
- RT-PCR quantitativa: Campioni di tessuto cerebrale (0,6-1µg) sono stati omogeneizzati e l'RNA totale estratto con il metodo del Trizol. L'integrità dell'RNA è stata valutata mediante elettroforesi su gel e la sua concentrazione misurata mediante spettrofotometria. La RT-PCR quantitativa è stata effettuata in collaborazione con la Dr. Aronica dell'Università di Amsterdam.

I ricercatori hanno caratterizzato, con questo progetto, il potenziale di inversione del GABA durante lo sviluppo cerebrale in tessuti di pazienti pediatrici di varia età. In particolare, avvalendosi della tecnica del microtrapianto, hanno iniettato in oociti di *Xenopus* tessuti di pazienti pediatrici in età prenatale e postnatale (da 15 settimane di gestazione ai 15 anni di età) e studiato il valore di EGABA nei singoli pazienti. Essi hanno osservato che, durante lo sviluppo del cervello, vi è un progressivo spostamento del potenziale d'inversione del GABA da valori più depolarizzati a quelli più iperpolarizzati, tipici di un EGABA riscontrabile in età adulta (da -16.4 mV nel paziente di 15 settimane di gestazione a -24 mV nel paziente di 15 anni). Inoltre, i ricercatori hanno confermato che in questi tessuti, il cambiamento del potenziale è associato ad una differenziale espressione dei cotrasportatori del cloro NKCC1 e KCC2, come precedentemente visto in modelli animali. Infine, hanno analizzato il rapporto tra le correnti eccitatorie AMPA e quelle inibitorie GABA nei due tipi di tessuti. I ricercatori hanno scoperto che il rapporto corrente AMPA/GABA è significativamente differente nei tessuti prenatali rispetto a quelli postnatali e che ciò è direttamente correlato con la modifica del rapporto di espressione delle due subunità AMPA GluR2 e GluR1 in questi tessuti.

Con il proseguo del progetto i ricercatori vogliono raggiungere i seguenti risultati:

- Confrontare i valori di EGABA ottenuti nei pazienti pediatrici di controllo pre- e post-natali con quelli che otterremo nei tessuti FCD e TSC di pazienti pediatrici e adulti al fine di ottenere una correlazione che possa aiutare a comprendere alcuni dei meccanismi alla base dell'insorgenza delle crisi epilettiche in pazienti affetti da queste patologie.
- Analizzare l'espressione dei trasportatori del cloro NKCC1 E KCC2 nei tessuti FCD e TSC e metterli in relazioni con i valori ottenuti nei pazienti pediatrici di controllo
- Studiare le correnti GABA e AMPA in modo da individuare se nei tessuti di pazienti TSC e FCD si abbiano caratteristiche sovrapponibili a quelle riscontrate nei pazienti a diverse età di sviluppo cerebrale.

La neuro infiammazione nelle displasie pediatriche: ruolo dell'IL-1 β nella modulazione del recettore GABA-A

I processi infiammatori, inclusi l'induzione di citochine pro-infiammatorie come IL-1 beta, alla base di alcune patologie tra cui l'epilessia, sono stati ampiamente descritti nei tessuti umani di epilessie del lobo temporale (TLE) e displasie corticali focali (FCD) (Ravizza, Neurobiol Dis 2006, Zurolo, Brain 2011, Maroso, Nat Med 2010). Tuttavia, non ci sono informazioni sulla modulazione della neurotrasmissione GABAergica da parte di citochine infiammatorie sia nelle epilessie pediatriche che adulte, né sull'azione delle citochine sull'attività eccitatoria o inibitoria dei GABA-ARs nelle epilessie resistenti ai farmaci. L'obiettivo principale di questo progetto è stato quindi indagare gli effetti dell'IL-1 β nella modulazione dei recettori GABA in tessuti epilettici da pazienti di varia età affetti da TLE ed FCD ed in particolare si è voluto:

- 1) Caratterizzare, attraverso tecniche elettrofisiologiche, le correnti GABAergiche in pazienti epilettici di diversa età al fine di individuare la natura eccitatoria o inibitoria del GABA e confrontarli con tessuti di pazienti di controllo non epilettici.
- 2) Indagare gli effetti di IL-1 β sulle correnti GABA. Lo scopo è stato quello di verificare se questa citochina potesse alterare ampiezza, decadimento, desensibilizzazione ed affinità per il GABA.
- 3) Indagare una possibile correlazione tra gli effetti funzionali di IL-1 β e livelli di espressione alterati di IL-1R1 nei tessuti epilettici.
- 4) Studiare se ci fosse un aumento del signaling attivato dal legame dell'IL-1 β con il suo recettore IL-1R1. In particolare, attraverso colture di astrociti umani da tessuto di pazienti adulti e pediatrici si voleva indagare se vi fosse una over-espressione delle chinasi (IRAK1, IRAK2 e TRAF-6) che costituiscono il signaling a valle dell'attivazione recettoriale.

I tessuti di pazienti affetti da TLE ed FCD e i tessuti di controllo sono stati forniti dal Dipartimento di Neuropatologia dell'Università di Amsterdam (Dr.ssa Eleonora Aronica). L'uso di questi tessuti è stato autorizzato, oltre che dalle Commissioni Etiche del citato istituto, dalla Commissione Etica dell'Università Sapienza di Roma.

In dettaglio i metodi utilizzati sono stati i seguenti:

- Preparazione di membrane: Le membrane sono state preparate come descritto precedentemente (Miledi et al., 2002) e usate direttamente oppure conservate a -80 °C fino all'uso.
- Iniezione negli oociti: Le cellule sono state iniettate nel citoplasma come precedentemente descritto (Miledi et al., 2002) con circa 50-100 nl di glicina 5 mM (10-12 mg proteina/ml) e mantenute a 16 °C fino alle registrazioni elettrofisiologiche.
- Registrazioni in voltage-clamp: Dopo 12 ore dall'iniezione citoplasmatica di membrane, le correnti GABA saranno registrate negli oociti con la tecnica del voltage-clamp intracellulare con due elettrodi (3 M KCl) come descritto precedentemente (Palma et al., 2002). Gli esperimenti riguardanti il calcolo dell'ampiezza, decadimento, affinità per il neurotrasmettitore sono stati effettuati come precedentemente descritto (Palma et al., 2002).

L'analisi immunostochimica è stata effettuata in collaborazione con l'Istituto Mario Negri di Milano (Dr.ssa Annamaria Vezzani) e l'Università di Amsterdam (Dr.ssa Eleonora Aronica).

Grazie a questo progetto sono stati ottenuti i seguenti risultati:

- L'IL-1 β è in grado di ridurre l'ampiezza delle correnti GABAergiche di circa il 30% in tessuti corticali ed ippocampali di pazienti TLE e sembra essere mediato dalla PKC.
- Questo effetto è stato confermato anche su neuroni ippocampali di un modello animale di epilessia farmaco resistente.
- L'IL-1 β non influenza l'attività del recettore GABA in tessuti di controllo da autopsie e da lesioni cerebrali non epilettogene.
- Vi è un aumento dell'espressione del recettore IL-1R1 e del signaling attivato (IRAK1) non solo nell'ippocampo ma anche nella corteccia di pazienti epilettici. Inoltre l'aumento dell'espressione di IRAK1 è visibile sia in pazienti con sclerosi ippocampale che in pazienti che non la presentano suggerendo che la persistente attivazione del signaling della citochina possa essere

dovuta alla presenza di crisi ricorrenti piuttosto che a modificazioni patologiche tipiche del tessuto TLE.

– Dati preliminari hanno mostrato che una concentrazione relativamente bassa di IL-1 β (1-3 nM) ha indotto un aumento di circa il 30% delle correnti GABA in tessuti cerebrali di pazienti con epilessia pediatrica.

LABORATORIO DI BIOCHIMICA DELL' INVECCHIAMENTO

Identificazione di marcatori biologici di malattia o di risposta alle terapie in pazienti affetti da Parkinson

Il mitocondrio e lo stress ossidativo derivato da alterazioni della sua funzionalità sono implicati nell'eziopatogenesi del morbo di Parkinson (PD). Molte delle proteine coinvolte nel PD e agenti tossici che inducono patologie riconducibili al PD alterano, infatti, l'integrità del mitocondrio. La conseguente produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) insieme alle caratteristiche intrinseche dei neuroni dopaminergici e delle cellule muscolari sembrano determinare la selettiva perdita di funzionalità della substantia nigra e del muscolo scheletrico, anche se, a tutt'oggi, non è ancora chiaro se lo stress ossidativo rappresenti la causa o la conseguenza dello stato patologico (neurodegenerazione e affezione dell'apparato muscolo-scheletrico). I meccanismi molecolari responsabili dell'aumentata produzione di specie radicaliche e stress ossidativo durante l'invecchiamento "normale" sono attualmente non identificati. Tuttavia, da dati presenti in letteratura provenienti da studi su modelli animali e sull'uomo, è possibile tracciare alcuni aspetti collegati tra loro a formare un circolo vizioso di stress ossidativo. Il fenomeno che sicuramente si verifica in maniera generalizzata durante l'invecchiamento è il calo progressivo delle difese antiossidanti e, tra queste, il decremento dei livelli di glutatione (GSH) appare quello predominante e più importante poiché il GSH svolge un ruolo fondamentale nella difesa cellulare contro lo stress ossidativo e nitrosativo. Infatti, le alterazioni dei livelli di GSH sono state correlate a diverse patologie neurodegenerative, incluso il PD.

Diversi studi epidemiologici condotti negli ultimi anni hanno suggerito che l'obesità e il diabete mellito di tipo 2 sono patologie che aumentano notevolmente il rischio di sviluppare il PD. Infatti, meccanismi pato-fisiologici caratteristici del Diabete di tipo 2 o di alterazioni del metabolismo lipidico sembrano essere comuni anche al PD. In particolare l'infiammazione gioca un ruolo critico nella distruzione delle cellule beta del pancreas e dei neuroni dopaminergici nella substantia nigra. Inoltre, pazienti affetti da PD presentano una sostanziale riduzione della massa grassa (cachessia). Pertanto sta sempre più prendendo vigore l'ipotesi che il PD possa essere in realtà una patologia che colpisce non solo il metabolismo mitocondriale ma anche quello lipidico. Un importante regolatore del metabolismo lipidico di recente scoperta è la lipasi desnutrina (anche denominata ATGL, lipasi dei trigliceridi adipocitari) fortemente down-regolata in individui obesi o affetti da diabete mellito. ATGL è localizzata nel tessuto adiposo (bianco e bruno), nel muscolo, nel fegato, nei macrofagi. ATGL è insensibile alla stimolazione ormonale ed è l'enzima limitante per la degradazione dei trigliceridi. In particolare, ATGL è reclutato sulla superficie della goccia lipidica ed è responsabile dell'idrolisi del primo acido grasso. Il diacilglicerolo (DAG) così ottenuto è poi idrolizzato dalla lipasi ormone-sensibile (HSL). Recentemente è stato dimostrato che ATGL ha un ruolo chiave nell'attivare l'asse di segnalazione lipidica che sfocia nell'espressione di geni mitocondriali e nel mantenimento della sua funzione ossidativa. Infatti, l'acido grasso liberato da ATGL media l'aumento dell'espressione PPAR-alpha dipendente da PGC-1alpha, importante co-attivatore trascrizionale implicato nella biogenesi mitocondriale. In particolare, l'acido grasso liberato da ATGL funge da molecola segnale a livello nucleare per l'attivazione di PPARalpha a cui segue l'induzione dell'espressione di PGC-1alpha e della biogenesi mitocondriale.

E' noto che ATGL svolge un ruolo fondamentale nel mantenere la funzione mitocondriale attraverso la segnalazione lipidica. Inoltre, numerosi studi implicano un dismetabolismo lipidico nel

PD e la partecipazione di alcune proteine mutate nel PD (alpha-sinucleina e parkina) nella regolazione del metabolismo lipidico. ATGL è notoriamente espressa nel muscolo scheletrico e recentemente la sua espressione è stata riportata nel cervello. La sua ablazione porta a un sostanziale accumulo di trigliceridi nel cervello, indicando un ruolo di ATGL nel rifornire le cellule neuronali di acidi grassi. Dati preliminari nel laboratorio indicano la presenza di ATGL in cellule di origine neuronale (neuroblastoma) e nei neuroni dopaminergici. Tutte queste evidenze indicano che un calo di attività di ATGL nel PD possa concorrere all'instaurarsi o alla progressione della patologia. In particolare, la mancata attività di ATGL, potrebbe portare a livello neuronale all'alterazione della massa e della funzionalità mitocondriale e determinare un accumulo di trigliceridi intracellulare. Inoltre, potrebbe essere la causa dell'instaurarsi del processo infiammatorio. Questa situazione potrebbe verificarsi anche nel muscolo scheletrico con conseguente impatto negativo sull'attività motoria del paziente. Inoltre, è stato dimostrato come l'espressione di ATGL sia un meccanismo redox-mediato e dipendente dall'aumento della produzione di ROS a livello mitocondriale.

Dai risultati ottenuti emerge che ATGL e PGC-1alpha svolgono un ruolo sinergico nell'omeostasi bioenergetica; pertanto gli obiettivi che il programma di ricerca si propone di raggiungere sono:

1. Validare l'efficienza dei processi osservati nel PD. Si studierà l'asse ROS/ATGL/PGC-1alpha in modelli murini di PD. In particolare, si valuterà se i livelli di mRNA e proteici di ATGL e PGC-1alpha sono alterati nel tessuto muscolare e adiposo e in regioni del cervello, in modo da suggerire queste variazioni come marcatori predittivi o utilizzarli come fattori di rischio del PD.

2. Determinare il ruolo del glutatione nella modulazione di tale asse di segnalazione e/o nelle eventuali alterazioni osservate nel punto 1. In particolare, si valuterà se il calo di glutatione normalmente associato al PD possa alterare la segnalazione redox che sfocia nell'espressione di PGC-1alpha e ATGL.

3. Determinare il ruolo del processo infiammatorio indotto da carenza di ATGL. Si valuterà l'instaurarsi di processi infiammatori mediati dall'attivazione di NF-kB in seguito a modulazione di ATGL e/o al trattamento con neurotossine.

4. Suggestire approcci nutrizionali e farmacologici innovativi per la prevenzione ed il trattamento del PD. Si determineranno gli effetti di regimi nutrizionali (digiuno intermittente, dieta ad alto contenuto di grassi) in cellule neuronali, muscolari e adipociti allo scopo di identificare fattori cellulari specifici che possano favorire l'espressione di ATGL e PGC-1alpha.

Saranno utilizzate cellule dopaminergiche di neuroblastoma umano SH-SY5Y, preadipociti (3T3-L1) e mioblasti murini (C2C12). Le cellule saranno trattate con tossine mitocondriali ampiamente impiegate nei modelli sperimentali di PD (rotenone, MPTP, 6-OHDA). Per mimare il regime di restrizione calorica, sarà effettuata una deprivazione di nutrienti (starvation) coltivando le cellule anziché in un terreno standard in un mezzo contenente basso contenuto di glucosio e in assenza di siero. Per mimare condizioni di "overfeeding" le cellule saranno trattate con una miscela di acidi grassi (es. acido oleico e linolenico). Per modulare la concentrazione di glutatione sarà utilizzato l'inibitore della sua sintesi BSO.

Trasfezioni: Trasfezione con Nucleofector 4D® per la modulazione dell'espressione di ATGL e PGC-1alpha.

Modelli in vivo: Topi C57BL/6 WT, topi KO per PGC-1alpha e ATGL, topi transgenici alpha-synA53T.

Trattamenti: Rotenone (tossina PD), BSO (inibitore della sintesi di GSH), Dieta ad alto contenuto di grassi, digiuno intermittente.

Altre metodologie. Saggi biochimici: trigliceridi, glicerolo, enzimi della beta-ossidazione, ATP, consumo di ossigeno, citochine infiammatorie. Analisi delle proteine: BN-PAGE, co-IP, Western blot. Biologia molecolare: RT-qPCR Stell Array, ChIP. Metodi genetici: genotipizzazione (SNPs). Biologia cellulare: microscopia confocale, citofluorimetria. Analisi istologiche.

I risultati attesi sono suddivisi di seguito in base agli obiettivi che il progetto si propone di raggiungere:

1. Validazione dell'efficienza dei processi osservati nel PD. Si studierà l'asse ROS/ATGL/PGC-1alpha in modelli murini di PD. E' atteso che in vari distretti (muscoli, cervello,

tessuto adiposo) possa esserci un calo dei livelli di ATGL e di PGC-1alpha sia in termini di mRNA sia di proteina. Accanto a questo fenomeno è atteso che vi possa essere un accumulo dei trigliceridi intracellulari e un'attività difettiva del fattore di trascrizione PPARalpha responsabile dell'espressione di PGC-1alpha.

2. Determinare il ruolo del glutatione nella modulazione di tale asse di segnalazione e/o nelle eventuali alterazioni osservate nel punto 1. E' atteso che ATGL possa essere espressa anche nei neuroni e che la deplezione di GSH possa portare ad un incremento dei suoi livelli e questo concorrere ad aumentare l'espressione di PGC-1alpha. Infatti, è ipotizzabile che il modesto aumento di ROS/NO conseguente al calo di GSH possa fungere da secondo messaggero e favorire l'up-regolazione dell'asse di segnalazione ATGL-PGC1alpha mediante attivazione del fattore di trascrizione FoxO1. Pertanto, come altri nostri studi precedenti suggeriscono, il calo di GSH potrebbe potenziare la risposta adattativa a condizioni estreme di stress (come quelle riscontrate nel PD) e favorire non solo la biogenesi mitocondriale ma anche l'induzione dell'espressione di enzimi antiossidanti (es. SOD2).

3. Trovare una relazione tra calo di ATGL e induzione del processo infiammatorio. E' atteso che la carenza di ATGL nelle cellule neuronali induca, analogamente a quanto accade negli adipociti, l'attivazione di NF-kB con conseguente rilascio di citochine pro-infiammatorie quali TNFalpha, IL-6 e IL-1beta. Questo fenomeno potrebbe essere alla base dell'infiltrazione di cellule immunitarie e dell'infiammazione notoriamente riscontrata nel tessuto cerebrale dei pazienti PD.

4. Suggestire approcci nutrizionali e farmacologici innovativi per la prevenzione ed il trattamento del PD. La variazione della disponibilità di nutrienti (starvation o overfeeding) potrebbe portare ad un'alterazione della produzione di ROS e questo scatenare una via di segnalazione a valle che impatta sull'espressione dei geni correlati al corredo antiossidante e alla biogenesi mitocondriale. In particolare, nel caso della restrizione calorica, è atteso che si possa determinare un aumento della massa mitocondriale e degli enzimi antiossidanti secondo l'asse di segnalazione ROS/ATGL/PGC-1alpha. Questo evento determinerebbe una maggiore resistenza alla morte cellulare mediata dalle tossine PD.

LABORATORIO DI PATOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE

Sirtuine mitocondriali mantenimento e recupero dell'integrità mitocondriale e sopravvivenza cellulare in presenza di stress

Le sirtuine mitocondriali SIRT3, SIRT4 e SIRT5 deacilano diverse proteine mitocondriali controllando numerose funzioni come fosforilazione ossidativa, metabolismo della glutammina, ciclo di Krebs, ecc. A loro volta i mitocondri hanno un ruolo fondamentale nel regolare lo stato energetico cellulare mantenendo la vitalità cellulare. Questo è particolarmente importante in cellule post-mitotiche come neuroni e cardiomiociti in cui l'assenza di replicazione richiede il prolungato mantenimento dell'integrità strutturale e funzionale della cellula. Disfunzioni mitocondriali sono presenti nell'invecchiamento, nelle malattie neurodegenerative e nei tumori.

Lo studio si prefigge di indagare:

- Il ruolo delle sirtuine mitocondriali nella regolazione del metabolismo cellulare.
- Il ruolo delle sirtuine mitocondriali nel mantenere l'integrità, funzionalità e vitalità cellulare.

Sono state usate linee cellulari MDA-MB-231, NG108-15 e C2C12. Queste sono state trasfettate o silenziate per le varie sirtuine mitocondriali tramite vettori plasmidici. Le linee parentali o trasfettate sono state sottoposte a trattamento con apoptogeni. I livelli delle sirtuine mitocondriali (SIRT3 e SIRT5) sono stati misurati tramite western blot nelle frazioni mitocondriali. Sempre nelle frazioni mitocondriali è stata misurata l'attività deacetilasi delle sirtuine tramite l'utilizzo di un substrato fluorescente e misurazione della fluorescenza emessa in un fluorimetro.

L'autofagia è stata misurata usando diverse metodiche tra loro complementari. In particolare, è stata visualizzata la presenza degli autofagosomi attraverso la microscopia elettronica e l'immunofluorescenza. Inoltre è stato visualizzato l'incremento di marcatori autofagici come le proteine LC3, GATE16 e la diminuzione di p62.

La vitalità cellulare è stata misurata usando un saggio MTT e la conta al trypan blue. Il metabolismo cellulare è stato misurato attraverso saggi biochimici. In particolare il metabolismo della glutammina è stato misurato utilizzando la produzione di ammoniaca, glutammato e alfa-ketoglutarato. Sono stati usati anche inibitori dei vari enzimi coinvolti nel metabolismo come glutaminasi e glutammato deidrogenasi. Infine il metabolismo della glutammina è stato bloccato utilizzando una forma solubile di α -ketoglutarato.

Gli esperimenti eseguiti nel Laboratorio dimostrano che le sirtuine hanno un ruolo fondamentale nel controllare e mantenere la funzionalità dei mitocondri. Infatti, le cellule overesprimenti SIRT3 hanno una maggiore resistenza allo stress ipossico e al trattamento con apoptogeni. Tale resistenza è dovuta alla capacità della SIRT3 di deacetilare e attivare diversi enzimi mitocondriali che hanno un ruolo chiave nella funzionalità di tale organello. Uno di questi è la anidasi carbonica Vb la cui attività, come è stato dimostrato, è aumentata nelle cellule overesprimenti SIRT3 con conseguente tamponamento dell'acidificazione intracellulare. Infine, controllando il pH intracellulare, la SIRT3 consente di regolare meglio l'induzione dei processi apoptotici e necrotici.

Un altro aspetto che è stato studiato è il controllo da parte delle sirtuine del metabolismo della glutammina. In questo caso è stato dimostrato che SIRT5 desuccinila e inibisce l'enzima chiave e cioè la glutaminasi con conseguente diminuzione del metabolismo.

Ci si propone di studiare:

- Il coinvolgimento delle sirtuine nucleari e in particolare SIRT1 e SIRT6 nel regolare l'espressione di quelle mitocondriali al fine di dimostrare la presenza di una risposta coordinata dei vari membri di questa famiglia genica allo stress.
- Il ruolo delle sirtuine mitocondriali nella regolazione di altri pathways metabolici.

Recupero di funzione nelle miocarditi e nelle cardiomiopatie: ruolo delle sirtuine

Lo scompenso cardiaco rappresenta nei paesi occidentali una importante causa di morbidità e mortalità (20% all'anno e fino al 50% a 4 anni). Le cause di scompenso cardiaco non ischemico sono rappresentate principalmente dalla cardiomiopatia dilatativa idiopatica e dalle miocarditi. A tutt'oggi il trattamento di tali entità è supportivo e, tranne rari casi, non esiste una terapia specifica in grado di interferire con la storia naturale della malattia, interrompendo i meccanismi di danno dei cardiomiociti e stimolando la proliferazione e la riparazione cellulare. Il raggiungimento di tali obiettivi è ottenibile solo studiando il tessuto cardiaco di pazienti affetti da scompenso cardiaco, dove è possibile valutare i livelli di morte e proliferazione cellulare, il grado di miofibrillosi, il livello di alterazione del metabolismo energetico cellulare, ed i pathways intracellulari che mediano l'instaurarsi ed il perpetuarsi del danno, come ad esempio l'espressione di geni e di proteine implicate nella necrosi, e nella apoptosi (Bcl2, caspasi 3) e nello stress ossidativo. Sul tessuto miocardico è inoltre possibile valutare i meccanismi di risposta al danno, in termini di attivazione di geni implicati nella riparazione cellulare e nella attivazione delle cellule staminali cardiache. Infine, è possibile valutare le alterazioni della struttura e della funzione mitocondriale e il ruolo delle sirtuine, una famiglia di deacetilasi coinvolte in molteplici processi cellulari incluso il metabolismo energetico, la riparazione cellulare e la proliferazione attraverso l'attivazione delle cellule staminali.

Lo studio si prefigge di:

- Studiare i meccanismi di danno irreversibile e reversibile e l'attivazione dei processi di riparazione e rigenerazione cellulare dei cardiomiociti di pazienti affetti da cardiomiopatia dilatativa e miocardite.
- Studiare la struttura e la funzione mitocondriale e il grado di stress ossidativo miocardico in tali pazienti.
- Studiare il ruolo delle sirtuine nel processo di danno e di recupero cellulare dopo opportuna terapia.

Il progetto si propone di reclutare pazienti con le seguenti caratteristiche:

1. Dilatazione e disfunzione del ventricolo sinistro (EF<40%) di età compresa tra i 18 e gli 80 anni.
2. Assenza di malattia coronaria o valvolare che possa giustificare la severità della disfunzione cardiaca.
3. Scompenso cardiaco cronico (da più di 6 mesi) refrattario alla terapia antiscompenso standard. I criteri di esclusione includono: scompenso cardiaco recente (meno di 6 mesi), cause note di insufficienza cardiaca (come ipertensione arteriosa, malattiacoronaria significativa, malattia valvolare significativa, malattie endocrine, malattie renali significative, abuso di alcool o di farmaci). I pazienti vengono reclutati in ambulatorio o nei reparti clinici di degenza o di terapia subintensiva.

I pazienti vengono sottoposti ad esami cardiologici invasivi (ECG, ecocardiogramma color Doppler con TDI) e, previo consenso informato, ad esami cardiologici invasivi, incluso il cateterismo cardiaco, la coronarografia, la ventricolografia bi ventricolare e la biopsia endomiocardica bi ventricolare.

Alcuni frammenti bioptici vengono utilizzati per l'esame istologico con colorazioni di routine per identificare il processo patologico alla base della disfunzione cardiaca. Alcuni frammenti conge-

lati vengono utilizzati per valutare la presenza di virus cardiotropi miocardici, in grado di causare una cardiomiopatia dilatativa virale. In pazienti affetti da miocardite virus-negativa viene intrapreso un trattamento specifico immunosoppressore e vengono eseguite biopsie di controllo dopo sei mesi di trattamento per valutare il grado di recupero cellulare.

Le biopsie endomiocardiche di base e di controllo vengono analizzate per:

- a) istologia, con valutazione morfometrica;
- b) immunoistochimica per caratterizzare e quantizzare gli infiltrati infiammatori e per analizzare l'attivazione del sistema immunitario (HLA-ABC, HLA-DR);
- c) valutazione della morte e della proliferazione cellulare e delle cellule staminali cardiache;
- d) microscopia elettronica con morfometria per valutare il contenuto miofibrillare e il numero e la struttura dei mitocondri;
- e) profili di espressione genica di actina; alpha-MHC, beta-MHC, miR-133 per analizzare i meccanismi di riparazione miocardica e livelli di sirtuine);
- f) attività degli enzimi della catena respiratoria mitocondriale e dei fosfati ad alta energia (ATP, ADP, fosfocreatina).

Dai pazienti viene anche prelevato del sangue periferico da cui si ottiene un anello linfomonocitario. Estratti proteici e di mRNA sono ottenuti dalle cellule presenti nell'anello linfomonocitario per analisi di real time-PCR, di western blotting e di saggi enzimatici. In particolare l'espressione e l'attività delle sirtuine viene messa in relazione alla patologia e al recupero funzionale dopo terapia nel paziente.

Nel 2015 l'attività è consistita nel valutare pazienti con miocardite, con cardiomiopatia dilatativa idiopatica e secondaria (i.e tossica, da deficit nutrizionali), e con cardiopatie a fenotipo ipertrofico (i.e. cardiomiopatia ipertrofica, malattia di Fabry, cardiopatia ipertensiva). È stato osservato, a seguito di biopsie endomiocardiche del ventricolo sinistro, condotte su pazienti ipertesi con scompenso cardiaco a coronarie e valvole integre ed in assenza di patologie sistemiche, che la miocardite, spesso virale, è una causa dominante dello scompenso. La miocardite è stata, infatti, documentata in oltre il 60% dei 45 pazienti studiati suggerendo una particolare suscettibilità alle infezioni virali del cuore con cardiopatia ipertensiva. Nei soggetti con miocardite virus-negativa, la terapia immunosoppressiva è stata seguita da recupero funzionale e strutturale del ventricolo sinistro in oltre l'80% dei pazienti trattati. È stata inoltre descritta una cardiomiopatia reversibile da deficit di Selenio e Zinco indotta da malassorbimento intestinale cronico. Sono stati riconosciuti i meccanismi operativi caratterizzati da un declino della riserva anti-ossidante cardiaca facente capo alla glutatione perossidasi ed alla superossido-dismutasi rispettivamente selenio e zinco-dipendenti, un danno ossidativo della membrane dei miociti con aumentata autofagia cellulare. È stata identificata e quantificata in termini di incidenza la associazione malformativa fra cardiomiopatia ipertrofica e teleangiectasia coronarica ed i risvolti che questa può assumere in termini di ischemia miocardica ed instabilità elettrica, richiedente impianto di defibrillatore al fine di prevenirne la complicanza più temibile, la morte cardiaca improvvisa. È stato riportato, attraverso un'ampia casistica biptica, che in pazienti con fenotipo clinico di cardiomiopatia ipertrofica, la biopsia endomiocardica del ventricolo sinistro è in grado di identificare patologie infiltrative o da accumulo nel 18% dei 155 pazienti studiati. Tale studio ha sottolineato il limite degli strumenti non-invasivi nella diagnostica dei pazienti con ipertrofia idiopatica del ventricolo sinistro e come il riconoscimento tramite indagine biptica della malattia di base possa cambiare il trattamento e la prognosi. Per la prima volta è stato descritto un diretto coinvolgimento muscolare in pazienti con malattia di Fabry. In rapporto all'interessamento cardiaco, il danno muscolare è più lieve e più tardivo. La causa più verosimile di tale divergenza è la differenza nella attività dei due organi con diverso consumo dell' α -galactosidase A residua. Infine, è stata documentata una cardiomiopatia ipertrofico-ipocinetica clinicamente sovrapponibile alla malattia di Fabry dovuta a tossicità da Idrossiclorochina. Attraverso una analisi istologica, ultrastrutturale e della attività degli enzimi lisosomiali su biopsie endomiocardiche eseguite prima e dopo risoluzione della malattia, è stato evidenziato un deficit farmaco-mediato dell'alfa-galattosidasi A che porta ad un accumulo intracellulare di Gb3 simile a quello che occorre per difetto genetico nella malattia di Fabry.

L'osservazione implica che in casi di tossicità cardiaca da idrossiclorochina può essere adottata l'infusione di agalsidasi, per ottenere un completo recupero del danno. A che porta ad un accumulo intracellulare di Gb3 simile a quello che occorre per difetto genetico nella malattia di Fabry. L'osservazione implica che in casi di tossicità cardiaca da idrossiclorochina può essere adottata l'infusione di agalsidasi, per ottenere un completo recupero del danno.

Studio dei meccanismi di riparo cellulare in cellule postmitotiche: ruolo delle proteine CRP e delle sirtuine

Le sirtuine sono una classe di deacilasi coinvolte nella risposta a diversi tipi di stress e associate all'allungamento della vita. Il ruolo delle sirtuine nella sopravvivenza cellulare dei tessuti neuro-nali e muscolari è ormai assodato, ma è necessario approfondire lo studio dei meccanismi che regolano la funzione delle sirtuine nella risposta allo stress nel tessuto neuronale e muscolare. Nei mammiferi esistono sette sirtuine che regolano molti aspetti del metabolismo energetico e modulano la trascrivibilità della cromatina.

Le Cysteine-rich proteins (CRP1, CRP2, CRP3/MLP and TLP) sono caratterizzate da due domini LIM che mediano le interazioni specifiche tra proteine. Esse hanno importante ruolo nell'organizzazione del citoscheletro, nella miogenesi e nella trasduzione del segnale generato da meccanoce-ttori. CRP1 e 2 sono espresse per lo più nella muscolatura liscia e scheletrica, MLP è espresso per lo più nel muscolo cardiaco e scheletrico.

Lo studio si prefigge di:

– Indagare il ruolo dell'interazione tra sirtuine e delle CRP nei meccanismi di morte e di riparo cellulare.

– Studiare l'impatto sulla morte cellulare e sul riparo molecolare nei miociti e nei cardiomiociti delle CRP valutando la risposta al danno della cellula indotto da infarto (MI). In particolare, valutare se l'infarto miocardico regola l'espressione delle CRP e le sirtuine e la loro interazione.

– Studiare il ruolo delle sirtuine nel mediare gli effetti benefici dell'esercizio fisico. In particolare, studiare l'espressione e la regolazione delle sirtuine in tessuti neuronali, muscolari e cardiaci in topi sottoposti ad esercizio fisico.

Le linee cellulari di mioblasti murini C2C12 sono state differenziate in vitro mediante semina in terreno contenente il 2% di siero di cavallo. Cloni di tali cellule overesprimenti e silenziati per CRP3/MLP sono stati ottenuti. Il danno cellulare è stato indotto tramite trattamento con etoposide o in assenza di gravità. Lo studio dei meccanismi indotti dai trattamenti sopra indicati e del ruolo delle sirtuine e delle CRP è stato effettuato mediante Real Time-PCR, Western blotting e immunoprecipitazione su cellule proliferanti e differenziate. Mediante immunoprecipitazione è stata studiata l'interazione tra queste proteine, fattori trascrizionali coinvolti nella sopravvivenza e markers di apoptosi. Per il recupero funzionale è stata analizzata la morfologia tramite microscopia elettronica e delle proteine sarcomeriche per le cellule muscolari. Per lo studio del ruolo delle sirtuine e delle CRP nell'infarto sono stati utilizzati modelli in vivo costituiti da topi in cui è stato indotto un infarto. L'espressione proteica, l'interazione proteica e la localizzazione cellulare è stata valutata mediante western blotting, immunoprecipitazione e immunofluorescenza.

Gli esperimenti svolti dal Laboratorio dimostrano che nei miociti differenziati e nei cardiomiociti le sirtuine e le CRP si associano. Questa associazione avviene tra la SIRT6 e CRP3 e tra SIRT2 e CRP2. Inoltre, in presenza di un danno come l'infarto tale associazione si perde nella zona infartuata ma è aumentata nella zona immediatamente vicina l'infarto. Ultimamente, è stato anche overespresso o silenziato CRP3 nei miociti osservando le variazioni della morfologia al microscopio ottico ed elettronico. Questi stessi cloni hanno mostrato una maggiore resistenza alla morte cellulare dopo overespressione della CRP3 attraverso l'attivazione della autofagia che consente il riparo del danno e la riorganizzazione cellulare durante il differenziamento.

Ci si aspetta che le sirtuine e le CRP intervengano nella regolazione di pathway di morte e sopravvivenza, ad esempio che interagiscano e regolino il pathway apoptotico mitocondriale. Lo studio della morte cellulare e del riparo molecolare nei miociti e nei cardiomiociti fornirà informazioni sull'eventuale ruolo che giocano CRP e sirtuine.

L'attività motoria regola l'espressione delle sirtuine. Ci si aspetta che l'attività fisica sia caratterizzata da aumentati livelli delle sirtuine e/o CRP. Inoltre, ci si aspetta che l'attività fisica attivi un'interazione tra CRP e sirtuine. E' già noto da studi preliminari che l'esercizio fisico altera

l'espressione dei messaggeri di diverse sirtuine. Ci si aspetta che anche le CRP siano alterate. A tal fine si utilizzeranno modelli murini e cellulari in assenza di gravità e modelli umani sottoposti ad esercizio fisico.

Riabilitazione cardiaca: medicina riparativa nello scompenso cardiaco

Nel laboratorio è già stato dimostrato che il trattamento con clasterina (CLU) in topi subito dopo infarto del miocardio (MI) determina una migliorata funzionalità cardiaca. Quali sono i meccanismi coinvolti?

Sicuramente uno dei meccanismi è rappresentato dalla capacità della CLU di indurre EMT nelle cellule epicardiche ckit dopo infarto e sua somministrazione nel sacco pericardico di cuori murini. Questo processo, infatti, determina un aumento del pool di precursori cardiaci in grado di partecipare al riparo cardiaco. È noto però che la CLU aumenta anche la sopravvivenza dei cardiomiociti in vitro tramite un'azione antiapoptotica e la sua somministrazione dopo infarto del miocardio nei ratti determina una riduzione delle dimensioni dell'infarto. Inoltre, studi in vitro hanno evidenziato che l'over-espressione della CLU in cellule tumorali epiteliali dell'ovaio determina un aumento dell'angiogenesi.

Lo studio si prefigge di:

1. Valutare gli effetti della somministrazione della CLU sulla morte cellulare cardiomiocitaria in un modello murino di infarto del miocardio.

2. Valutare gli effetti della somministrazione della CLU sull'angiogenesi in un modello murino di infarto del miocardio.

Per gli esperimenti in vivo sono stati utilizzati topi C57/Bl6 femmine di 8 settimane di età. L'infarto del miocardio mediante legatura della coronaria discendente sinistra è stato indotto in due gruppi di topi. In entrambi i gruppi, l'infarto è stato indotto mantenendo il sacco pericardico chiuso. Immediatamente dopo la legatura, in un gruppo è stata effettuata un'iniezione intrapericardica di CLU ricombinante murina (gruppo trattato) e nell'altro un'iniezione intrapericardica di PBS (gruppo di controllo). Gli animali sono stati sacrificati a tre giorni dal danno per gli studi sull'apoptosi e a sette giorni dall'infarto per gli studi di angiogenesi.

In entrambi i casi i cuori sono stati arrestati in diastole e fissati in formalina per poi essere inclusi in paraffina e tagliati per effettuare analisi di immunofluorescenza.

Per quanto riguarda l'apoptosi, nella zona peri-infartuale, ovvero adiacente l'infarto, è stato trovato un numero di cardiomiocitiapoptotici significativamente inferiori nei cuori trattati con CLU rispetto ai cuori di controllo con una riduzione di circa il 50% dei livelli apoptotici.

Per quanto riguarda l'angiogenesi, dopo aver effettuato una immunofluorescenza utilizzando un marcatore per le cellule endoteliali lisce (ovvero la smoothmuscleactin), si è andati ad identificare e quantificare la densità arteriolare nella zona infartuata e in quella adiacente l'infarto. I risultati hanno dimostrato la presenza di una maggiore densità di arteriole in entrambe le zone analizzate nei topi trattati rispetto a quelli di controllo. Inoltre, si è anche voluto vedere se esiste una variazione nell'espressione di fattori angiogenici dapprima in presenza di fluido pericardico (PF) e poi in presenza di trattamento con CLU. Per quanto riguarda l'influenza del PF, sono stati preparati due gruppi di topi in cui si è indotto infarto del miocardio. In un gruppo, la cavità pericardica è stata aperta poco prima della legatura (e quindi l'infarto è stato eseguito in assenza del fluido pericardico) mentre nell'altro gruppo la cavità è stata mantenuta chiusa (e quindi l'infarto è stato effettuato in presenza del fluido pericardico). Tutti gli animali sono stati sacrificati a tre giorni dal danno e le cellule epicardiche sono state isolate per effettuare uno studio di espressione genica successivamente convalidato mediante real time PCR. I risultati ottenuti mediante analisi bioinformatica dei dati affymetrix hanno dimostrato l'attivazione mediata dal PF del pathway del VEGFa. In particolare, sono stati trovati modulati 21 su 32 geni di questo pathway importante per l'angiogenesi.

Per quanto riguarda l'azione della CLU sulla formazione di nuovi vasi in vivo, sono stati preparati due gruppi di topi, entrambi infartuati, di cui uno trattato (con iniezione intrapericardica) con CLU ricombinante murina e uno con PBS. Gli animali sono stati sacrificati a tre giorni dal danno e il tessuto cardiaco (ovvero la zona infartuata e quella adiacente l'infarto) è stato processato per effettuare delle real time PCR. I risultati hanno evidenziato livelli di espressione sia di VEGFa che del suo recettore VEGFR2 significativamente maggiori nei cuori trattati rispetto a quelli di controllo. I risultati ottenuti dallo studio sulla sopravvivenza dei cardiomiociti in cuori murini dopo infarto acuto del miocardio hanno permesso di dimostrare che, in queste condizioni sperimentali, la somministrazione nel sacco pericardico della CLU subito dopo danno determina una riduzione dall'apoptosi dei cardiomiociti nella zona peri-infartuale di circa il 50% rispetto ai controlli ovvero topi infartuati e trattati con PBS.

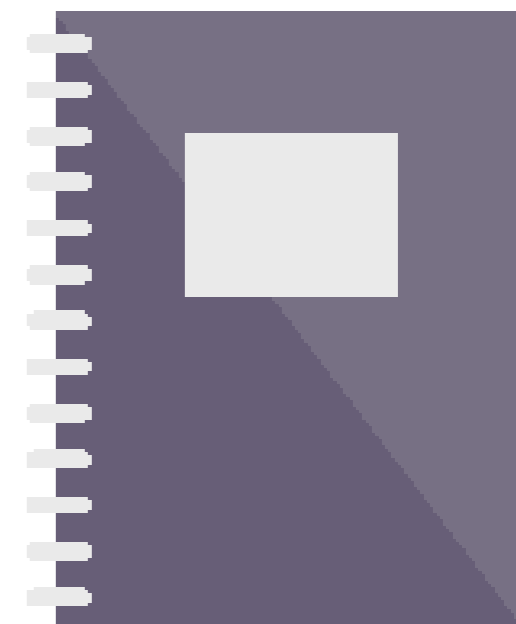
Studi effettuati per valutare un potenziale effetto della CLU sui vasi, hanno permesso di evidenziare che il trattamento con CLU di cuori murini immediatamente dopo infarto determina un aumento significativo della densità arteriolare. Inoltre, la presenza di liquido pericardico in cuori murini sottoposti ad infarto acuto del miocardio determina una maggiore attivazione del pathway del VEGFa nelle cellule epicardiche rispetto al resto del cuore mentre il trattamento con CLU di cuori murini infartuati determina una maggiore espressione di VEGFa e del suo recettore VEGFR2.

I risultati ottenuti hanno permesso di evidenziare che il trattamento con CLU di cuori murini infartuati determina un miglioramento della funzionalità cardiaca rispetto a cuori di controllo attraverso tre meccanismi: 1) induzione dell'EMT delle cellule epicardiche 2) riduzione dell'apoptosi dei cardiomiociti 3) aumento della densità arteriolare. Sulla base di ciò, ci si propone di effettuare esperimenti in vitro su cellule epicardiche per approfondire alcuni di questi meccanismi.

In particolare ci si propone di effettuare esperimenti per studiare il coinvolgimento dei miRNAs nell'EMT mediato dalla CLU. A tal fine, si utilizzeranno colture di cellule epicardiche murine embrionali in cui verrà indotto l'EMT mediante trattamento con CLU e l'analisi dei miRNAs coinvolti in questo processo verrà effettuata sia mediante real time PCR e sia tramite immunofluorescenza. Inoltre ci si propone di verificare se le cellule epicardiche dopo trattamento con CLU siano in grado di partecipare attivamente alla formazione di nuovi vasi e non solo mediante effetto paracrino ovvero aumentando i livelli di espressione di fattori angiogenici.



PUBBLICAZIONI



Franceschini M, Colombo R, Posteraro F, Sale P. A proposal for an Italian Minimum Data Set Assessment Protocol for robot-assisted rehabilitation: a Delphi study. *Eur J Phys Rehabil Med.* 2015 Dec; 51(6):745-753.

At present there is no agreement on a common evaluation protocol to assess improvement in stroke patients after robotic therapy.

The aim of this study was to identify a Minimum Data Set Assessment Protocol, using an agreement-based survey.

It's a Delphi survey.

This study was conceived by the Italian Robotic Neurorehabilitation Research Group (IRNRG), an Italian group involved in the clinical application of robot-assisted rehabilitation devices

The population is stroke subjects.

A 3-round Delphi survey was carried out through the electronic submission of questionnaires to a panel of experts identified in fourteen rehabilitation centers. For each generated item, experts were asked to rate questions on a 5 point Likert Scale.

After the 1st round the questionnaire was filled out by 43 (84.3%) out of 51 experts invited to participate in the study. In the 2nd and 3rd rounds we explored the specific evaluation tools for each of the ICF domains identified in the 1st round. The experts identified the following assessment tools for the upper limb: the Ashworth Scale, the Fugl-Meyer assessment scale, the Frenchay Arm Test, the Medical Research Council scale, the Motricity Index, Frenchay Activities Index and Modified Barthel Index; and for the lower limb: the Ashworth Scale, the Motricity Index, the 10 meter walking Test, the 6 minutes walking Test, the Functional Ambulatory Classification, the Timed Up and Go Test, the Walking Handicap Scale, the Borg Rating of Perceived Exertion, the Heart Rate, the Medical Research Council Scale, the Tinetti Balance Scale and the Modified Barthel Index.

The Delphi survey presented in this study allows the identification of a shared assessment protocol to be applied in clinical practice and research for the evaluation of the real improvement related to robot-assisted rehabilitation of the upper and lower limb in patients after stroke.

Clinicians and researchers could use the results of this study to obtain a common language in robotic rehabilitation assessments.

Gison A, Rizza F, Bonassi S, Donati V, Giaquinto S.

Effects of dispositional optimism on quality of life, emotional distress and disability in Parkinson's disease outpatients under rehabilitation.

Funct Neurol. 2015 Apr-Jun;30(2):105-111.

This study was performed with the aim of assessing dispositional optimism (DO) in a sample of Parkinson's disease (PD) patients, in order to evaluate its association with clinical outcomes and its impact on rehabilitation. Before entering an outpatient rehabilitation program, 58 participants suffering from idiopathic PD completed the Life Orientation Test-Revised (LOT-R) to evaluate their level of DO, the WHO-5 scale to evaluate their health-related quality of life (HR-QoL), the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) to identify emotional distress, and the Barthel Index to evaluate their level of disability. All the measures were repeated four months later, at their discharge from the program. Disease stage and severity measures (Unified Parkinson's Disease Rating Scale) were also taken into consideration. Correlations and multivariate regression analyses compared DO with the health-related variables. On admission a high level of DO was found to be associated with less severe disease, a better quality of life (QoL) and lower emotional distress, but not with level of disability (Barthel Index). Consistent results were found at discharge. The level of DO did not change after rehabilitation, while anxiety was significantly reduced, especially in subjects with low LOT-R and high HADS scores. The Barthel Index values significantly improved. At discharge, participants with high DO showed the best improvements in disability and in QoL. Effects of

dispositional optimism on quality of life, emotional distress and disability in Parkinson's disease outpatients under rehabilitation. In conclusion, a high level of DO was associated with QoL, HADS and UPDRS both on admission and at discharge. The level of DO remained stable after rehabilitation, while disability and anxiety were reduced. Participants with high DO generally had better QoL, and better clinical and psychological performances.

Kleiner A, Galli M, Gaglione M, Hildebrand D, Sale P, Albertini G, Stocchi F, De Pandis MF. The Parkinsonian Gait Spatiotemporal Parameters Quantified by a Single Inertial Sensor before and after Automated Mechanical Peripheral Stimulation Treatment. *Parkinsons Dis.* 2015;2015:390512. Epub 2015 Oct 1

This study aims to evaluate the change in gait spatiotemporal parameters in subjects with Parkinson's disease (PD) before and after Automated Mechanical Peripheral Stimulation (AMPS) treatment. Thirty-five subjects with PD and 35 healthy age-matched subjects took part in this study. A dedicated medical device (Gondola) was used to administer the AMPS. All patients with PD were treated in off levodopa phase and their gait performances were evaluated by an inertial measurement system before and after the intervention. The one-way ANOVA for repeated measures was performed to assess the differences between pre- and post-AMPS and the one-way ANOVA to assess the differences between PD patients and the control group. Spearman's correlations assessed the associations between patients with PD clinical status (H&Y) and the percentage of improvement of the gait variables after AMPS (< 0.05 for all tests). The PD group had an improvement of 14.85% in the stride length; 14.77% in the gait velocity; and 29.91% in the gait propulsion. The correlation results showed that the higher the H&Y classification, the higher the stride length percentage of improvement. The treatment based on AMPS intervention seems to induce a better performance in the gait pattern of PD patients, mainly in intermediate and advanced stages of the condition.

Lenzi D., Trentini C., Tambelli R, Pantano P.

Neural basis of attachment-caregiving systems interaction: insights from neuroimaging studies. *Front Psychol.* 2015 Aug 24;6:1241. eCollection 2015

The attachment and the caregiving system are complementary systems which are active simultaneously in infant and mother interactions. This ensures the infant survival and optimal social, emotional, and cognitive development. In this brief review we first define the characteristics of these two behavioral systems and the theory that links them, according to what Bowlby called the "attachment-caregiving social bond" (Bowlby, 1969). We then follow with those neuroimaging studies that have focused on this particular issue, i.e., those which have studied the activation of the caregiving system in women (using infant stimuli) and have explored how the individual attachment model (through the Adult Attachment Interview) modulates its activity. Studies report altered activation in limbic and prefrontal areas and in basal ganglia and hypothalamus/pituitary regions. These altered activations are thought to be the neural substrate of the attachment-caregiving systems interaction.

Nasr N, Leon B, Mountain G, Nijenhuis SM, Prange G, Sale P, Amirabdollahian F.

The experience of living with stroke and using technology: opportunities to engage and co-design with end users.

Disabil Rehabil Assist Technol. 2015 Apr 16:1-8. [Epub ahead of print].

We drew on an interdisciplinary research design to examine stroke survivors' experiences of living with stroke and with technology in order to provide technology developers with insight into values, thoughts and feelings of the potential users of a to-be-designed robotic technology for

home-based rehabilitation of the hand and wrist.

Ten stroke survivors and their family carers were purposefully selected. On the first home visit, they were introduced to cultural probe. On the second visit, the content of the probe packs were used as prompt to conduct one-to-one interviews with them. The data generated was analysed using thematic analysis. A third home visit was conducted to evaluate the early prototype.

User requirements were categorised into their network of relationships, their attitude towards technology, their skills, their goals and motivations. The user requirements were used to envision the requirements of the system including providing feedback on performance, motivational aspects and usability of the system. Participants' views on the system requirements were obtained during a participatory evaluation.

This study showed that prior to the development of technology, it is important to engage with potential users to identify user requirements and subsequently envision system requirements based on users' views. Implications for Rehabilitation An understanding of how stroke survivors make sense of their experiences of living with stroke is needed to design home-based rehabilitation technologies. Linking stroke survivors' goals, motivations, behaviour, feelings and attitude to user requirements prior to technology development has a significant impact on improving the design.

Nijenhuis SM, Prange GB, Amirabdollahian F, Sale P, Infarinato F, Nasr N, Mountain G, Hermens HJ, Stienen AH, Buurke JH, Rietman JS.

Feasibility study into self-administered training at home using an arm and hand device with motivational gaming environment in chronic stroke.

J Neuroeng Rehabil. 2015 Oct 9;12:89.

Assistive and robotic training devices are increasingly used for rehabilitation of the hemiparetic arm after stroke, although applications for the wrist and hand are trailing behind. Furthermore, applying a training device in domestic settings may enable an increased training dose of functional arm and hand training. The objective of this study was to assess the feasibility and potential clinical changes associated with a technology-supported arm and hand training system at home for patients with chronic stroke.

A dynamic wrist and hand orthosis was combined with a remotely monitored user interface with motivational gaming environment for self-administered training at home. Twenty-four chronic stroke patients with impaired arm/hand function were recruited to use the training system at home for six weeks. Evaluation of feasibility involved training duration, usability and motivation. Clinical outcomes on arm/hand function, activity and participation were assessed before and after six weeks of training and at two-month follow-up.

Mean System Usability Scale score was 69 % (SD 17 %), mean Intrinsic Motivation Inventory score was 5.2 (SD 0.9) points, and mean training duration per week was 105 (SD 66) minutes. Median Fugl-Meyer score improved from 37 (IQR 30) pre-training to 41 (IQR 32) post-training and was sustained at two-month follow-up (40 (IQR 32)). The Stroke Impact Scale improved from 56.3 (SD 13.2) pre-training to 60.0 (SD 13.9) post-training, with a trend at follow-up (59.8 (SD 15.2)). No significant improvements were found on the Action Research Arm Test and Motor Activity Log.

Remotely monitored post-stroke training at home applying gaming exercises while physically supporting the wrist and hand showed to be feasible: participants were able and motivated to use the training system independently at home. Usability shows potential, although several usability issues need further attention. Upper extremity function and quality of life improved after training, although dexterity did not. These findings indicate that home-based arm and hand training with physical support from a dynamic orthosis is a feasible tool to enable self-administered practice at home. Such an approach enables practice without dependence on therapist availability, allowing an increase in training dose with respect to treatment in supervised settings.

This study has been registered at the Netherlands Trial Registry (NTR): NTR3669 .

Pistoia F, Carolei A, Sacco S, Conson M, Pistarini C, Cazzulani B, Stewart EJ, Franceschini M, Sarà M

Contribution of interoceptive information to emotional processing: evidence from individuals with spinal cord injury.

J Neurotrauma. 2015 Dec 15;32(24):1981-1986.

There is much evidence to suggest that recognizing and sharing emotions with others require a first-hand experience of those emotions in our own body which, in turn, depends on the adequate perception of our own internal state (interoception) through preserved sensory pathways. Here we explored the contribution of interoception to first-hand emotional experiences and to the recognition of others' emotions. For this aim, 10 individuals with sensory deafferentation as a consequence of high spinal cord injury (SCI; five males and five females; mean age, 48 ± 14.8 years) and 20 healthy subjects matched for age, sex, and education were included in the study. Recognition of facial expressions and judgment of emotionally evocative scenes were investigated in both groups using the Ekman and Friesen set of Pictures of Facial Affect and the International Affective Picture System. A two-way mixed analysis of variance and post hoc comparisons were used to test differences among emotions and groups. Compared with healthy subjects, individuals with SCI, when asked to judge emotionally evocative scenes, had difficulties in judging their own emotional response to complex scenes eliciting fear and anger, while they were able to recognize the same emotions when conveyed by facial expressions. Our findings endorse a simulative view of emotional processing according to which the proper perception of our own internal state (interoception), through preserved sensory pathways, is crucial for first-hand experiences of the more primordial emotions, such as fear and anger.

Pistoia F, Sacco S, Sarà M, Franceschini M, Carolei A.

Intrathecal Baclofen: Effects on Spasticity, Pain, and Consciousness in Disorders of Consciousness and Locked-in Syndrome.

Curr Pain Headache Rep. 2015 Jan;19(1):466.

Disorders of consciousness (DOCs) include coma, vegetative state (VS), and minimally conscious state (MCS). Coma is characterized by impaired wakefulness and consciousness, while VS and MCS are defined by lacking or discontinuous consciousness despite recovered wakefulness. Conversely, locked-in syndrome (LIS) is characterized by quadriplegia and lower cranial nerve paralysis with preserved consciousness. Intrathecal baclofen (ITB) is a useful treatment to improve spasticity both in patients with DOCs and LIS. Moreover, it supports the recovery of consciousness in some patients with VS or MCS. The precise mechanism underlying this recovery has not yet been elucidated. It has been hypothesized that ITB may act by reducing the overload of dysfunctional sensory stimuli reaching the injured brain or by stabilizing the imbalanced circadian rhythms. Although the current indication of ITB is the management of severe spasticity, its potential use in speeding the recovery of consciousness merits further investigation.

Postacchini R, Paoloni M, Carbone S, Fini M, Santilli V, Postacchini F, Mangone M.

Kinematic analysis of reaching movements of the upper limb after total or reverse shoulder arthroplasty.

J Biomech. 2015 Sep 18;48(12):3192-3198.

Studies have analyzed three-dimensional complex motion of the shoulder in healthy subjects or patients undergoing total shoulder arthroplasty (TSA) or reverse shoulder arthroplasty (RSA). No study to date has assessed the reaching movements in patients with TSA or RSA. Twelve patients with TSA (Group A) and 12 with RSA (Group B) underwent kinematic analysis of reaching movements directed at four targets. The results were compared to those of 12 healthy subjects (Group C). The assessed parameters were hand-to-target distance, target-approaching velocity, humeral-elevation angular velocity, normalized jerk (indicating motion fluidity), elbow extension and humeral elevation angles. Mean Constant score increased by 38 points in Group A and 47 in

Group B after surgery. In three of the tasks, there were no significant differences between healthy subjects and patients in the study groups. Mean target-approaching velocity and humeral-elevation angular velocity were significantly greater in the control group than in study groups and, overall, greater in Group A than Group B. Movement fluidity was significantly greater in the controls, with patients in Group B showing greater fluidity than those in Group A. Reaching movements in the study groups were comparable, in three of the tasks, to those in the control group. However, the latter performed significantly better with regard to target-approaching velocity, humeral-elevation angular velocity and movement fluidity, which are the most representative characteristics of reaching motion. These differences, that may be related to deterioration of shoulder proprioception after prosthetic implant, might possibly be decreased with appropriate rehabilitation.

Rizza F, Gison A, Bonassi S, Dall'Armi V, Tonto F, Giaquinto S.
'Locus of control', health-related quality of life, emotional distress and disability in Parkinson's disease.
J Health Psychol. 2015 Nov 26 pii: 1359105315616471 [Epub ahead of print]

This cross-sectional study evaluated locus of control and its subscales in Parkinson's disease. A total of 50 consecutive Parkinson's disease participants and 50 healthy volunteers (control group) were enrolled. External locus of control was significantly higher in Parkinson's disease participants, whereas internal locus of control had no significant differences. External locus of control and internal locus of control were correlated in control group, but not in Parkinson's disease. In Parkinson's disease participants, external locus of control was negatively associated with health-related quality of life as well as positively associated with emotional distress and disease severity (but not with disability). After adjusting to confound variables, the associations remained. On the other hand, internal locus of control was negatively associated with depression.

Sale P, Castiglioni D, De Pandis MF, Torti M, Dall'Armi V, Radicati FG, Stocchi F.
The Lee Silverman Voice Treatment (LSVT®) speech therapy in progressive supranuclear palsy.
Eur J Phys Rehabil Med. 2015 Oct;51(5):569-574.

The Lee Silverman Voice Treatment (LSVT®) was specifically created and tested to comply with the needs of individuals with Parkinson's disease (PD) and other neurological problems. This is a high effort intensive treatment that aims at increasing vocal intensity through the increase of subglottal air pressure, i.e. respiratory effort, for a better cordal adduction and vibration, following the motto "think loud".

The main goal of this longitudinal study is to inspect the efficacy of LSVT® treatment in progressive supranuclear palsy (PSP) patients.
study.

Setting: rehabilitative inpatient unit.

Sixteen patients with PSP and 23 patients with idiopathic PD as control were enrolled in the study. All patients underwent a training consisting in 16 sessions of speech therapy following the LSVT® protocol. Initially the two groups of patients had similar voice problems, i.e. low volume and bad articulation of speech.

A statistically significant improvement was found among the data collected before and after treatment in the PSP and Parkinson groups. Increase in maximum phonation duration and volume of voice in reading were similar in the two groups. Improvement in quality of voice and articulation were more significant in the PD group as compared to the PSP group.

These results, along with previous findings, add further support to the generalized therapeutic impact of intensive voice treatment on respiratory and laryngeal functions in individuals with PSP. The positive results, the absence of dropout and collateral effect following this clinical treatments with LSVT technique encouraged to use this technique in PSP patients.

Sale P, Infarinato F, Del Percio C, Lizio R, Babiloni C, Foti C, Franceschini M.
Electroencephalographic markers of robot-aided therapy in stroke patients for the evaluation of upper limb rehabilitation.
Int J Rehabil Res. 2015 Dec; 38(4):294-305.

Stroke is the leading cause of permanent disability in developed countries; its effects may include sensory, motor, and cognitive impairment as well as a reduced ability to perform self-care and participate in social and community activities. A number of studies have shown that the use of robotic systems in upper limb motor rehabilitation programs provides safe and intensive treatment to patients with motor impairments because of a neurological injury. Furthermore, robot-aided therapy was shown to be well accepted and tolerated by all patients; however, it is not known whether a specific robot-aided rehabilitation can induce beneficial cortical plasticity in stroke patients. Here, we present a procedure to study neural underpinning of robot-aided upper limb rehabilitation in stroke patients. Neurophysiological recordings use the following: (a) 10-20 system electroencephalographic (EEG) electrode montage; (b) bipolar vertical and horizontal electrooculographies; and (c) bipolar electromyography from the operating upper limb. Behavior monitoring includes the following: (a) clinical data and (b) kinematic and dynamic of the operant upper limb movements. Experimental conditions include the following: (a) resting state eyes closed and eyes open, and (b) robotic rehabilitation task (maximum 80s each block to reach 4-min EEG data; interblock pause of 1 min). The data collection is performed before and after a program of 30 daily rehabilitation sessions. EEG markers include the following: (a) EEG power density in the eyes-closed condition; (b) reactivity of EEG power density to eyes opening; and (c) reactivity of EEG power density to robotic rehabilitation task. The above procedure was tested on a subacute patient (29 poststroke days) and on a chronic patient (21 poststroke months). After the rehabilitation program, we observed (a) improved clinical condition; (b) improved performance during the robotic task; (c) reduced delta rhythms (1-4 Hz) and increased alpha rhythms (8-12 Hz) during the resting state eyes-closed condition; (d) increased alpha desynchronization to eyes opening; and (e) decreased alpha desynchronization during the robotic rehabilitation task. We conclude that the present procedure is suitable for evaluation of the neural underpinning of robot-aided upper limb rehabilitation.

Amboni M, Stocchi F, Abbruzzese G, Morgante L, Onofri M, Ruggieri S, Tinazzi M, Zappia M, Attar M, Colombo D, Simoni L, Ori A, Barone P, Antonini A; DEEP Study Group.
Prevalence and associated features of self-reported freezing of gait in Parkinson disease: The DEEP FOG study.
Parkinsonism Relat Disord. 2015 Jun;21(6):644-649.

Freezing of Gait (FOG) is a common and disabling symptom in patients with Parkinson disease (PD). The relationship between FOG and dopaminergic medication is complex. The aim of the present study was to estimate the prevalence of self-reported FOG, its associated clinical features, and its relationship with wearing-off in a wide PD population. This is an observational multicenter study of 634 consecutive non-demented PD patients. Patients were identified either as freezers or non-freezers based on item-3 of the Freezing of Gait-Questionnaire. FOG was then classified as on, off and onoff freezing based on its relationship with wearing-off. Patients were assessed with Unified Parkinson's Disease Rating Scale, Hoehn and Yahr scale, 8-item Parkinson's disease Questionnaire, Mini-Mental State Examination. Data from 593 patients were analyzed, 325 (54.3%) were freezers of whom 200 (61.6%) experienced FOG only during off state (off-freezers), 6 (1.8%) only during on state and 119 (36.6%) either in on and off states or independently of dopaminergic response-related symptoms (onoff-freezers). Overall, freezers vs non-freezers had longer disease duration, more advanced disease and greater disability. Moreover, freezers more frequently reported wearing-off and experienced worse quality of life. Onoff-freezers vs off-freezers were older, more severely disabled, less likely to experience wearing-off, treated with lower

levodopa equivalent daily dose and with poorer cognitive performance. Self-reported FOG is mainly recognizable in advanced PD and is associated with more disability and worse quality of life. Onoff-FOG may represent the result of under-treatment or rather interpretable as a distinct clinical entity.

Bloem BR, Stocchi F.
Move for Change Part III: a European survey evaluating the impact of the EPDA Charter for People with Parkinson's Disease.
Eur J Neurol. 22(1):133-41; 2015.

Move for Change is an online pan-European patient survey based on the European Parkinson's Disease Association (EPDA) Charter for People with Parkinson's Disease (PD), which states that all PD patients have the right to: be referred to a doctor with a specialist interest in PD; receive an accurate diagnosis; have access to support services; receive continuous care; and take part in managing their illness.

This part of the survey focuses on the final two elements of the Charter. It was administered online through the EPDA website and through affiliated patient associations' websites. A total of 1591 questionnaires were received and 1546 were analysed (97.2%).

Approximately half of the patients (53.0%) consulted a neurologist regularly (every 4-6 months). Consultations were usually arranged as part of a follow-up process (65.5%) and lasted for 15-30 min (63.2%), with 16.1% lasting <10 min and 17.9% lasting >30 min. Patients were largely satisfied with the attention they received (63.2%) but just 11.6% of patients were involved in treatment decisions, and 39.1% prepared a list of symptom changes for discussion. Two hundred caregivers also took part in the survey, and 71.4% felt included in the treatment plan by the doctor.

These results highlight that PD disease-management is driven by the clinician; he/she arranges consultations and makes the majority of management decisions, rather than patients being included in the process. This survey can be used to raise awareness for PD patients, encouraging greater involvement in the management of PD.

Chaudhuri KR, Sauerbier A, Rojo JM, Sethi K, Schapira AHV, Brown R, Antonini A, Stocchi F, Odin P, Bhattacharya K, Tsuboi Y, Abe K, Rizos A, Rodriguez-Blazquez C, Martinez-Martin P.
The burden of non motor symptoms in Parkinson's disease using a self-completed non motor questionnaire: A simple grading system.
Parkinsonism Relat Disord. 2015 Mar; 21(3):287-291.

Non-motor symptoms (NMS) of Parkinson's disease (PD) affect virtually every patient, yet they are under-recognized and under-treated. The NMS Questionnaire (NMSQuest) is a validated 30-item self-assessment instrument useful for NMS screening in clinic.

Objective of the study is the development of a straight forward grading classification of the burden of non-motor symptoms in PD based on the number of NMS as assessed by the NMS Questionnaire.

In an observational, cross-sectional, international study of 383 consecutive patients distribution of the declared NMS as per NMSQuest was analyzed according to previously published levels based on the Non-Motor Symptoms Scale and also the median and interquartile range (IR, percentiles 25 and 75) of the total NMSQuest scores. After post hoc checking, these values were proposed as cut-off points for estimating NMS burden based only on the accumulation of symptoms. Burden and number of NMS correlate closely ($r \geq 0.80$). On the basis of this finding, five levels (0 = No NMS to 4 = Very severe) of NMSQuest grading were proposed after identification of their cut-offs by ordinal logistic regression and median and interquartile range distribution. These values coincided almost completely with those obtained by median and interquartile range in an independent sample. Concordance between this classification and HY staging was weak (weighted kappa = 0.30), but was substantial (weighted kappa = 0.68) with the Non-Motor Symptoms Scale

grading.

Completion of NMSQuest and subsequent grading of the burden could allow the health care professional to approach the severity of NMS burden using the self completed NMSQuest in a primary care setting.

Hauser RA, Stocchi F, Rascol O, Huyck SB, Capece R, Ho TW, Sklar P, Lines C, Michelson D, Hewitt D.
Preladenant as an Adjunctive Therapy With Levodopa in Parkinson Disease: Two Randomized Clinical Trials and Lessons Learned.
JAMA Neurol. 2015 Dec;72(12):1491-1500.

Preladenant is an adenosine 2A receptor antagonist that reduced "off" time in a placebo-controlled phase 2b trial in patients with Parkinson disease (PD). We sought to confirm its efficacy in phase 3 trials.

The aim of the study is to evaluate preladenant as an adjunct to levodopa in patients with PD and motor fluctuations.

Two 12-week, phase 3, randomized, placebo-controlled, double-blind trials performed from July 15, 2010, to April 16, 2013. The setting included neurology clinics, clinical research centers, and hospitals in the Americas, the European Union, Eastern Europe, India, and South Africa. Participants included patients with moderate to severe PD taking levodopa who were experiencing motor fluctuations.

In trial 1, a total of 778 eligible patients were randomized to the addition of preladenant (2 mg, 5 mg, or 10 mg twice daily), placebo, or rasagiline mesylate (1 mg/d) in a 1:1:1:1 ratio. In trial 2, a total of 476 eligible patients were randomized to the addition of preladenant (2 mg or 5 mg twice daily) or placebo in a 1:1:1 ratio.

The primary outcome measure was change in off time from baseline to week 12.

In trial 1, neither preladenant nor rasagiline was superior to placebo in reducing off time from baseline to week 12. The differences vs placebo were -0.10 hour (95% CI, -0.69 to 0.46 hour) for preladenant 2 mg twice daily, -0.20 hour (95% CI, -0.75 to 0.41 hour) for preladenant 5 mg twice daily, -0.00 hour (95% CI, -0.62 to 0.53 hour) for preladenant 10 mg twice daily, and -0.30 hour (95% CI, -0.90 to 0.26 hour) for rasagiline mesylate 1 mg/d. In trial 2, preladenant was not superior to placebo in reducing off time from baseline to week 12. The differences vs placebo were -0.20 hour (95% CI, -0.72 to 0.35 hour) for preladenant 2 mg twice daily and -0.30 hour (95% CI, -0.86 to 0.21 hour) for preladenant 5 mg twice daily. Preladenant was well tolerated, with the most common adverse event that showed an increase over placebo in both trials being constipation (6%-8% for preladenant vs 1%-3% for placebo).

In these phase 3 trials, preladenant did not significantly reduce off time compared with placebo. That the active control rasagiline also failed to demonstrate a significant reduction in off time suggests that issues of study design or conduct may have affected these trials.

Italiano D, Bianchini E, Ilardi M, Cilia R, Pezzoli G, Zanettini R, Vacca L, Stocchi F, Bramanti P, Ciurleo R, Di Lorenzo G, Polimeni G, de Luise C, Ross D, Rijnbeek P, Sturkenboom M, Trifirò G.
Effectiveness of risk minimization measures for cabergoline-induced cardiac valve fibrosis in clinical practice in Italy.
J Neural Transm (Vienna). 2015 Jun;122(6):799-808.

On June 2008, the European Medicines Agency (EMA) introduced changes to the Summary of Product Characteristics (SPC) for cabergoline and pergolide, to reduce the risk of cardiac valvulopathy in users of these drugs. To assess the effectiveness of EMA recommendations in Italian clinical practice, we retrospectively reviewed medical charts of patients with degenerative Parkinsonism treated with cabergoline in three large Italian clinics between January 2006 and June 2012. The prevalence and the severity of cardiac valve regurgitation were assessed in patients who

stopped cabergoline therapy prior to June 2008 or continued therapy after that date. In addition, the proportion of patients undergoing echocardiographic examination in each cohort was evaluated. A total of 61 patients were available for evaluation. The proportion of patients who underwent a baseline echocardiographic examination increased from 64 % in the period before the 2008 SPC changes to 71 % among those who continued treatment after that date. However, only 18 and 29 % of patients underwent at least two echocardiographic examinations during the pre-SPC and cross-SPC change period, respectively. No severe cardiac valve regurgitation was documented in any of the study patients using cabergoline either prior or after 26th June 2008. Our findings show that the 2008 changes to the SPC resulted in an increase in physicians' awareness of cabergoline-induced valvulopathy risk in Italy. However, only a small percentage of patients underwent serial echocardiography. Further efforts are needed to achieve better compliance with the prescribing guidelines for cabergoline treated patients in clinical practice.

Kleiner A, Galli M, Gaglione M, Hildebrand D, Sale P, Albertini G, Stocchi F, De Pandis MF. The Parkinsonian Gait Spatiotemporal Parameters Quantified by a Single Inertial Sensor before and after Automated Mechanical Peripheral Stimulation Treatment. *Parkinsons Dis.* 2015;2015:390512. Epub 2015 Oct 1.

This study aims to evaluate the change in gait spatiotemporal parameters in subjects with Parkinson's disease (PD) before and after Automated Mechanical Peripheral Stimulation (AMPS) treatment. Thirty-five subjects with PD and 35 healthy age-matched subjects took part in this study. A dedicated medical device (Gondola) was used to administer the AMPS. All patients with PD were treated in off levodopa phase and their gait performances were evaluated by an inertial measurement system before and after the intervention. The one-way ANOVA for repeated measures was performed to assess the differences between pre- and post-AMPS and the one-way ANOVA to assess the differences between PD patients and the control group. Spearman's correlations assessed the associations between patients with PD clinical status (H&Y) and the percentage of improvement of the gait variables after AMPS ($\alpha < 0.05$ for all tests). The PD group had an improvement of 14.85% in the stride length; 14.77% in the gait velocity; and 29.91% in the gait propulsion. The correlation results showed that the higher the H&Y classification, the higher the stride length percentage of improvement. The treatment based on AMPS intervention seems to induce a better performance in the gait pattern of PD patients, mainly in intermediate and advanced stages of the condition.

Mariani S, Ventriglia M, Simonelli I, Bucossi S, Siotto M, Donno S, Vernieri F, Squitti R. Association between sex, systemic iron variation and probability of Parkinson's Disease. *Int J Neurosci.* 2016;126(4):354-360.

Iron homeostasis appears altered in Parkinson's disease (PD). Recent genetic studies and meta-analyses have produced heterogeneous and inconclusive results. In order to verify the possible role of iron status in PD, we have screened some of the main metal gene variants, evaluated their effects on iron systemic status, and checked for possible interactions with PD.

In 92 PD patients and 112 healthy controls, we screened the D544E and R793H variants of the ceruloplasmin gene (CP), the P589S variant of the transferrin gene (TF), and the H63D and C282Y variants of the HFE gene, encoding for homologous proteins, respectively. Furthermore, we analyzed serum concentrations of iron, copper and their related proteins.

The genetic investigation revealed no significant differences in allelic and genotype distributions between patients and controls. Two different multivariable forward stepwise logistic models showed that, when the effect of sex is considered, an increase of the probability of having PD is associated with low iron concentration and Tf-saturation.

This study provides new evidence of the involvement of iron metabolism in PD pathogenesis and reveals a biological effect of sex.

Poewe W, Seppi K, Fitzner-Attas CJ, Wenning GK, Gilman S, Low PA, Giladi N, Barone P, Sampaio C, Eyal E, Rascol O; Rasagiline-for-MSA investigators.

Efficacy of rasagiline in patients with the parkinsonian variant of multiple system atrophy: a randomised, placebo-controlled trial.

Lancet Neurol. 2015 Feb;14(2):145-152.

Multiple system atrophy is a complex neurodegenerative disorder for which no effective treatment exists. We aimed to assess the effect of rasagiline on symptoms and progression of the parkinsonian variant of multiple system atrophy.

We did this randomised, double-blind, placebo-controlled trial between Dec 15, 2009, and Oct 20, 2011, at 40 academic sites specialised in the care of patients with multiple system atrophy across 12 countries. Eligible participants aged 30 years or older with possible or probable parkinsonian variant multiple system atrophy were randomly assigned (1:1), via computer-generated block randomisation (block size of four), to receive either rasagiline 1 mg per day or placebo. Randomisation was stratified by study centre. The investigators, study funder, and personnel involved in patient assessment, monitoring, analysis and data management were masked to group assignment. The primary endpoint was change from baseline to study end in total Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS) score (parts I and II). Analysis was by modified intention to treat. The trial is registered with ClinicalTrials.gov, number NCT00977665.

We randomly assigned 174 participants to the rasagiline group (n=84) or the placebo group (n=90); 21 (25%) patients in the rasagiline group and 15 (17%) in the placebo group withdrew from the study early. At week 48, patients in the rasagiline group had progressed by an adjusted mean of 7.2 (SE 1.2) total UMSARS units versus 7.8 (1.1) units in those in the placebo group. This treatment difference of -0.60 (95% CI -3.68 to 2.47; p=0.70) was not significant. 68 (81%) patients in the rasagiline group and 67 (74%) patients in the placebo group reported adverse events, and we recorded serious adverse events in 29 (35%) versus 23 (26%) patients. The most common adverse events in the rasagiline group were dizziness (n=10 [12%]), peripheral oedema (n=9 [11%]), urinary tract infections (n=9 [11%]), and orthostatic hypotension (n=8 [10%]).

In this population of patients with the parkinsonian variant of multiple system atrophy, treatment with rasagiline 1 mg per day did not show a significant benefit as assessed by UMSARS. The study confirms the sensitivity of clinical outcomes for multiple system atrophy to detect clinically significant decline, even in individuals with early disease.

Quattrocchi CC, de Pandis MF, Piervincenzi C, Galli M, Melgari JM, Salomone G, Sale P, Mallio CA, Carducci F, Stocchi F.

Acute Modulation of Brain Connectivity in Parkinson Disease after Automatic Mechanical Peripheral Stimulation: A Pilot Study.

PLoS One. 2015 Oct 15;10(10):e0137977. eCollection 2015.

The present study shows the results of a double-blind sham-controlled pilot trial to test whether measurable stimulus-specific functional connectivity changes exist after Automatic Mechanical Peripheral Stimulation (AMPS) in patients with idiopathic Parkinson Disease.

Eleven patients (6 women and 5 men) with idiopathic Parkinson Disease underwent brain fMRI immediately before and after sham or effective AMPS. Resting state Functional Connectivity (RSFC) was assessed using the seed-ROI based analysis. Seed ROIs were positioned on basal ganglia, on primary sensory-motor cortices, on the supplementary motor areas and on the cerebellum.

Individual differences for pre- and post-effective AMPS and pre- and post-sham condition were obtained and first entered in respective one-sample t-test analyses, to evaluate the mean effect of condition. Effective AMPS, but not sham stimulation, induced increase of RSFC of the sensory motor cortex, nucleus striatum and cerebellum. Secondly, individual differences for both conditions were entered into paired group t-test analysis to rule out sub-threshold effects of sham stimulation, which showed stronger connectivity of the striatum nucleus with the right lateral

occipital cortex and the cuneal cortex (max Z score 3.12) and with the right anterior temporal lobe (max Z score 3.42) and of the cerebellum with the right lateral occipital cortex and the right cerebellar cortex (max Z score 3.79).

Our results suggest that effective AMPS acutely increases RSFC of brain regions involved in visuo-spatial and sensory-motor integration.

This study provides Class II evidence that automatic mechanical peripheral stimulation is effective in modulating brain functional connectivity of patients with Parkinson Disease at rest.

Smith KM, Eyal E, Weintraub D; ADAGIO Investigators.

Combined rasagiline and antidepressant use in Parkinson disease in the ADAGIO study: effects on nonmotor symptoms and tolerability.

JAMA Neurol. 2015 Jan;72(1):88-95.

Depression, cognitive impairment, and other nonmotor symptoms (NMSs) are common early in Parkinson disease (PD) and may be in part due to disease-related dopamine deficiency. Many patients with PD are treated with antidepressants for NMSs, and the effect of the combination of PD medications that enhance dopamine neurotransmission and antidepressants on NMSs has not been studied. We report the effects of the addition of a monoamine oxidase B inhibitor, rasagiline, to antidepressant treatment in PD.

The aim of the study is to evaluate the effect of rasagiline on depression, cognition, and other PD NMSs in patients taking an antidepressant in the Attenuation of Disease Progression With Azilect Given Once Daily (ADAGIO) study.

The ADAGIO study was a double-blind, placebo-controlled, delayed-start trial of rasagiline in de novo PD. In this exploratory post hoc analysis, we analyzed patients taking an antidepressant during the 36-week phase 1 period, in which patients were randomized to rasagiline (1 or 2 mg/d) or placebo.

We evaluated the change in NMSs in patients taking an antidepressant and rasagiline compared with those taking placebo. The NMSs were assessed by Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale Nonmotor Experiences of Daily Living, the original Unified Parkinson's Disease Rating Scale, and the Parkinson Fatigue Scale.

A total of 191 of the 1174 patients (16.3%) were treated with antidepressants during phase 1 and provided efficacy data. Depression and cognition scores revealed significantly less worsening in the rasagiline group compared with the placebo group (differences in Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale item-adjusted means [SEs], -0.19 [0.10], $P = .048$, and -0.20 [0.05], $P < .001$, respectively). Parkinson Fatigue Scale (mean [SE] difference, -0.42 [0.09], $P < .001$) and daytime sleepiness (mean [SE] difference, -0.24 [0.09], $P = .006$) scores also revealed significantly less worsening in the rasagiline group compared with placebo. There was a nonsignificant trend toward less worsening in apathy and no significant between-group differences in anxiety or sleep. The effect on depression remained significant after controlling for improvement in motor symptoms (mean [SE] difference, -0.23 [0.09], $P = .009$). There were no serious adverse events in the combined rasagiline-antidepressant group suggestive of serotonin syndrome.

The combination of rasagiline and antidepressants in patients with de novo PD is associated with reduced worsening of a range of NMSs in preliminary analyses. Adverse effects appear uncommon with this combination. These findings suggest a role for dopamine-enhancing therapies in NMSs in early PD and encourage further study and confirmation.

Stocchi F.

Neuroprotection in Parkinson's disease: a difficult challenge.

Lancet Neurol. 2015 Aug;14(8):780-781.

Stocchi F, Fossati C, Torti M.

Rasagiline for the treatment of Parkinson's disease: an update.

Expert Opin Pharmacother. 2015 Oct;16(14): 2231-2241.

Rasagiline is a potent, selective, irreversible Monoamine Oxidase-B (MAO-B) inhibitor, developed to prolong the action of dopamine in the brain. It has been demonstrated that rasagiline can improve motor and some non-motor symptoms (NMS) in both early and advanced Parkinson's disease (PD) patients, and it also exhibits neuroprotective and antiapoptotic properties. The objective of this review, performed by a Medline search on the most recent papers investigating the therapeutic effects of rasagiline, is to describe the role of rasagiline in the schedule of treatment of early and advanced PD patients. It will then focus on its role in treating NMS, fatigue, early morning off and cognitive decline, which heavily affect quality of life for PD patients.

Rasagiline is an efficacious, well-tolerated, easy to use drug. The drug has been extensively studied and has proven its efficacy in monotherapy and in combination with any other antiparkinsonian therapy. It proved to be efficacious in reducing 'off' time and in improving early morning 'off' but also some NMS, thus enhancing the therapeutic approach to PD.

Stocchi F, Sale P, Kleiner AF, Casali M, Cimolin V, de Pandis F, Albertini G, Galli M.

Long-term effects of automated mechanical peripheral stimulation on gait patterns of patients with Parkinson's disease.

Int J Rehabil Res. 2015 Sep;38(3):238-245.

New treatments based on peripheral stimulation of the sensory-motor system have been inspiring new rehabilitation approaches in Parkinson's disease (PD), especially to reduce gait impairment, levodopa washout effects, and the incidence of falls. The aim of this study was to evaluate the change in gait and the clinical status of PD patients after six sessions of a treatment based on automated mechanical peripheral stimulation (AMPS). Eighteen patients with PD and 15 age-matched healthy individuals (control group) participated in this study. A dedicated medical device delivered the AMPS. PD patients were treated with AMPS six times once every 4 days. All PD patients were treated in the off-levodopa phase and were evaluated with gait analysis before and after the first intervention (acute phase), after the sixth intervention, 48h after the sixth intervention, and 10 days after the end of the treatment. To compare the differences among the AMPS interventions (pre, 6 AMPS, and 10 days) in terms of clinical scales, a t-test was used ($\alpha \leq 0.05$). In addition, to compare the differences among the AMPS interventions (pre, post, 6 AMPS, 48h and 10 days), the gait spatiotemporal parameters were analyzed using the Friedman test and the Bonferroni post-hoc test ($\alpha \leq 0.05$). Also, for comparisons between the PD group and the control group, the gait spatiotemporal parameters were analyzed using the Mann-Whitney test and the Bonferroni post-hoc test ($\alpha \leq 0.05$). The results of the study indicate that the AMPS treatment has a positive effect on bradykinesia because it improves walking velocity, has a positive effect on the step and stride length, and has a positive effect on walking stability, measured by the increase in stride length. These results are consistent with the improvements measured with clinical scales. These findings indicate that AMPS treatment seems to generate a more stable walking pattern in PD patients, reducing the well-known gait impairment that is typical of PD; regular repetition every 4 days of AMPS treatment appears to be able to improve gait parameters, to restore rhythmicity, and to reduce the risk of falls, with benefits maintained up to 10 days after the last treatment.

Stocchi F, Vacca L, Grassini P, Pawsey S, Whale H, Marconi S, Torti M.

L-Dopa Pharmacokinetic Profile with Effervescent Melevodopa/Carbidopa versus Standard-Release Levodopa/Carbidopa Tablets in Parkinson's Disease: A Randomised Study.

Parkinsons Dis. 2015;2015:369465. Epub 2015 Jun 10.

The aim of the study is to characterize the pharmacokinetic profile of levodopa (L-dopa) and

carbidopa after repeated doses of the effervescent tablet of melevodopa/carbidopa (V1512; Si-rio) compared with standard-release L-dopa/carbidopa in patients with fluctuating Parkinson's disease. Few studies assessed the pharmacokinetics of carbidopa to date. Methods. This was a single-centre, randomized, double-blind, double-dummy, two-period crossover study. Patients received V1512 (melevodopa 100 mg/carbidopa 25mg) or L-dopa 100mg/carbidopa 25mg, 7 doses over 24 hours (Cohort 1), 4 doses over 12 hours (Cohort 2), or 2 doses over 12 hours in combination with entacapone 200mg (Cohort 3). Pharmacokinetic parameters included area under the plasma-concentration time curve (AUC), maximum plasma concentration (C max), and time to C max (t max). Results. Twenty-five patients received at least one dose of study medication. L-dopa absorption tended to be quicker and pharmacokinetic parameters less variable after V1512 versus L-dopa/carbidopa, both over time and between patients. Accumulation of L-dopa in plasma was less noticeable with V1512. Carbidopa exposure and interpatient variability was lower when V1512 or L-dopa/carbidopa was given in combination with entacapone. Both treatments were well tolerated. Conclusions. V1512 provides a more reliable L-dopa pharmacokinetic profile versus standard-release L-dopa/carbidopa, with less drug accumulation and less variability.

Allais G, Bussone G, Tullo V, Cortelli P, Valguarnera F, Barbanti P, Sette G, Frediani F, D'Arrigo G, d'Onofrio F, Comi G, Curone M, Colombo B, Omboni S, Benedetto C.
Early (≤ 1 -h) vs. late (> 1 -h) administration of frovatriptan plus dexketoprofen combination vs. frovatriptan monotherapy in the acute treatment of migraine attacks with or without aura: a post hoc analysis of a double-blind, randomized, parallel group study.
Neurol Sci. 2015 May;36 Suppl 1:161-7.

The aim of the study is to characterize the pharmacokinetic profile of levodopa (L-dopa) and carbidopa after repeated doses of the effervescent tablet of melevodopa/carbidopa (V1512; Si-rio) compared with standard-release L-dopa/carbidopa in patients with fluctuating Parkinson's disease. Few studies assessed the pharmacokinetics of carbidopa to date. Methods. This was a single-centre, randomized, double-blind, double-dummy, two-period crossover study. Patients received V1512 (melevodopa 100 mg/carbidopa 25 mg) or L-dopa 100mg/carbidopa 25mg, 7 doses over 24 hours (Cohort 1), 4 doses over 12 hours (Cohort 2), or 2 doses over 12 hours in combination with entacapone 200mg (Cohort 3). Pharmacokinetic parameters included area under the plasma-concentration time curve (AUC), maximum plasma concentration (C max), and time to C max (t max). Results. Twenty-five patients received at least one dose of study medication. L-dopa absorption tended to be quicker and pharmacokinetic parameters less variable after V1512 versus L-dopa/carbidopa, both over time and between patients. Accumulation of L-dopa in plasma was less noticeable with V1512. Carbidopa exposure and interpatient variability was lower when V1512 or L-dopa/carbidopa was given in combination with entacapone. Both treatments were well tolerated. Conclusions. V1512 provides a more reliable L-dopa pharmacokinetic profile versus standard-release L-dopa/carbidopa, with less drug accumulation and less variability.

Barbanti P, Egeo G.
Pharmacological trials in migraine: it's time to reappraise where the headache is and what the pain is like.
Headache. 2015 Mar;55(3):439-441.

Most pharmacological trials deal with migraine as if it were a clinically homogeneous disease, and when detailing its characteristics, they usually report only the presence, or absence, of aura and attack frequency but provide no information on pain location, a non-trivial clinical detail. The past decade has witnessed growing emerging evidence suggesting that individuals with unilateral pain, especially those with associated unilateral cranial autonomic symptoms, are more responsive than others to trigeminal-targeted symptomatic and preventive therapy with drugs such as triptans or botulinum toxin. A simple way for migraine research treatment to take a step forward

Rasagiline for the treatment of Parkinson's disease: an update.
Expert Opin Pharmacother. 2015 Oct;16(14): 2231-2241.

Rasagiline is a potent, selective, irreversible Monoamine Oxidase-B (MAO-B) inhibitor, developed to prolong the action of dopamine in the brain. It has been demonstrated that rasagiline can improve motor and some non-motor symptoms (NMS) in both early and advanced Parkinson's disease (PD) patients, and it also exhibits neuroprotective and antiapoptotic properties. The objective of this review, performed by a Medline search on the most recent papers investigating the therapeutic effects of rasagiline, is to describe the role of rasagiline in the schedule of treatment of early and advanced PD patients. It will then focus on its role in treating NMS, fatigue, early morning off and cognitive decline, which heavily affect quality of life for PD patients. Rasagiline is an efficacious, well-tolerated, easy to use drug. The drug has been extensively studied and has proven its efficacy in monotherapy and in combination with any other antiparkinsonian therapy. It proved to be efficacious in reducing 'off' time and in improving early morning 'off' but also some NMS, thus enhancing the therapeutic approach to PD.

Stocchi F, Sale P, Kleiner AF, Casali M, Cimolin V, de Pandis F, Albertini G, Galli M.
Long-term effects of automated mechanical peripheral stimulation on gait patterns of patients with Parkinson's disease.
Int J Rehabil Res. 2015 Sep;38(3):238-245.

New treatments based on peripheral stimulation of the sensory-motor system have been inspiring new rehabilitation approaches in Parkinson's disease (PD), especially to reduce gait impairment, levodopa washout effects, and the incidence of falls. The aim of this study was to evaluate the change in gait and the clinical status of PD patients after six sessions of a treatment based on automated mechanical peripheral stimulation (AMPS). Eighteen patients with PD and 15 age-matched healthy individuals (control group) participated in this study. A dedicated medical device delivered the AMPS. PD patients were treated with AMPS six times once every 4 days. All PD patients were treated in the off-levodopa phase and were evaluated with gait analysis before and after the first intervention (acute phase), after the sixth intervention, 48h after the sixth intervention, and 10 days after the end of the treatment. To compare the differences among the AMPS interventions (pre, 6 AMPS, and 10 days) in terms of clinical scales, a t-test was used ($\alpha \leq 0.05$). In addition, to compare the differences among the AMPS interventions (pre, post, 6 AMPS, 48h and 10 days), the gait spatiotemporal parameters were analyzed using the Friedman test and the Bonferroni post-hoc test ($\alpha \leq 0.05$). Also, for comparisons between the PD group and the control group, the gait spatiotemporal parameters were analyzed using the Mann-Whitney test and the Bonferroni post-hoc test ($\alpha \leq 0.05$). The results of the study indicate that the AMPS treatment has a positive effect on bradykinesia because it improves walking velocity, has a positive effect on the step and stride length, and has a positive effect on walking stability, measured by the increase in stride length. These results are consistent with the improvements measured with clinical scales. These findings indicate that AMPS treatment seems to generate a more stable walking pattern in PD patients, reducing the well-known gait impairment that is typical of PD; regular repetition every 4 days of AMPS treatment appears to be able to improve gait parameters, to restore rhythmicity, and to reduce the risk of falls, with benefits maintained up to 10 days after the last treatment.

Stocchi F, Vacca L, Grassini P, Pawsey S, Whale H, Marconi S, Torti M.
L-Dopa Pharmacokinetic Profile with Effervescent Melevodopa/Carbidopa versus Standard-Release Levodopa/Carbidopa Tablets in Parkinson's Disease: A Randomised Study.
Parkinsons Dis. 2015;2015:369465. Epub 2015 Jun 10.

The aim of the study is to characterize the pharmacokinetic profile of levodopa (L-dopa) and

carbidopa after repeated doses of the effervescent tablet of melevodopa/carbidopa (V1512; Sirio) compared with standard-release L-dopa/carbidopa in patients with fluctuating Parkinson's disease. Few studies assessed the pharmacokinetics of carbidopa to date. Methods. This was a single-centre, randomized, double-blind, double-dummy, two-period crossover study. Patients received V1512 (melevodopa 100 mg/carbidopa 25mg) or L-dopa 100mg/carbidopa 25mg, 7 doses over 24 hours (Cohort 1), 4 doses over 12 hours (Cohort 2), or 2 doses over 12 hours in combination with entacapone 200mg (Cohort 3). Pharmacokinetic parameters included area under the plasma-concentration time curve (AUC), maximum plasma concentration (C max), and time to C max (t max). Results. Twenty-five patients received at least one dose of study medication. L-dopa absorption tended to be quicker and pharmacokinetic parameters less variable after V1512 versus L-dopa/carbidopa, both over time and between patients. Accumulation of L-dopa in plasma was less noticeable with V1512. Carbidopa exposure and interpatient variability was lower when V1512 or L-dopa/carbidopa was given in combination with entacapone. Both treatments were well tolerated. Conclusions. V1512 provides a more reliable L-dopa pharmacokinetic profile versus standard-release L-dopa/carbidopa, with less drug accumulation and less variability.

Allais G, Bussone G, Tullo V, Cortelli P, Valguarnera F, Barbanti P, Sette G, Frediani F, D'Arrigo G, d'Onofrio F, Comi G, Curone M, Colombo B, Omboni S, Benedetto C.
Early (≤ 1 -h) vs. late (> 1 -h) administration of frovatriptan plus dexketoprofen combination vs. frovatriptan monotherapy in the acute treatment of migraine attacks with or without aura: a post hoc analysis of a double-blind, randomized, parallel group study.
Neurol Sci. 2015 May;36 Suppl 1:161-7.

The aim of the study is to characterize the pharmacokinetic profile of levodopa (L-dopa) and carbidopa after repeated doses of the effervescent tablet of melevodopa/carbidopa (V1512; Sirio) compared with standard-release L-dopa/carbidopa in patients with fluctuating Parkinson's disease. Few studies assessed the pharmacokinetics of carbidopa to date. Methods. This was a single-centre, randomized, double-blind, double-dummy, two-period crossover study. Patients received V1512 (melevodopa 100 mg/carbidopa 25 mg) or L-dopa 100mg/carbidopa 25mg, 7 doses over 24 hours (Cohort 1), 4 doses over 12 hours (Cohort 2), or 2 doses over 12 hours in combination with entacapone 200mg (Cohort 3). Pharmacokinetic parameters included area under the plasma-concentration time curve (AUC), maximum plasma concentration (C max), and time to C max (t max). Results. Twenty-five patients received at least one dose of study medication. L-dopa absorption tended to be quicker and pharmacokinetic parameters less variable after V1512 versus L-dopa/carbidopa, both over time and between patients. Accumulation of L-dopa in plasma was less noticeable with V1512. Carbidopa exposure and interpatient variability was lower when V1512 or L-dopa/carbidopa was given in combination with entacapone. Both treatments were well tolerated. Conclusions. V1512 provides a more reliable L-dopa pharmacokinetic profile versus standard-release L-dopa/carbidopa, with less drug accumulation and less variability.

Barbanti P, Egeo G.
Pharmacological trials in migraine: it's time to reappraise where the headache is and what the pain is like.
Headache. 2015 Mar;55(3):439-441.

Most pharmacological trials deal with migraine as if it were a clinically homogeneous disease, and when detailing its characteristics, they usually report only the presence, or absence, of aura and attack frequency but provide no information on pain location, a non-trivial clinical detail. The past decade has witnessed growing emerging evidence suggesting that individuals with unilateral pain, especially those with associated unilateral cranial autonomic symptoms, are more responsive than others to trigeminal-targeted symptomatic and preventive therapy with drugs such as triptans or botulinum toxin. A simple way for migraine research treatment to take a step forward

might be to step back, reappraise, and critically evaluate easily obtainable patient-reported clinical findings along with current knowledge on pain features.

Barbanti P, Egeo G, Fofi L, Aurilia C, Piroso S.
Rationale for use of onabotulinum toxin A (BOTOX) in chronic migraine.
Neurol Sci. 2015 May;36 Suppl 1:29-32. PubMed PMID: 26017507.

Chronic migraine is a severely disabling headache evolving from episodic migraine as a result of different transforming factors and characterized by atypical pain modulation and peripheral and central sensitization. Discovered by serendipity, onabotulinum toxin A (BoNT-A) represents the only drug specifically approved for CM prophylaxis. According to the dominant opinion, BoNT-A acts peripherally, impairing the exocytosis of neuropeptide and neurotransmitter and the delivery of receptors and ion channels on the cell surface of peripheral trigeminal endings, thereby indirectly reducing central sensitization. However, it is not excluded that BoNT-A has also a central antinociceptive action, probably associated with an enhanced opioidergic and GABA-ergic transmission. This review discusses the rationale for use of BoNT-A in CM including its mechanisms of action and molecular targets and provides suggestions for a more tailored BoNT-A prophylaxis in patients with CM.

Barbanti P, Grazi L, Egeo G, Padovan AM, Liebler E, Bussone G.
Non-invasive vagus nerve stimulation for acute treatment of high-frequency and chronic migraine: an open-label study.
J Headache Pain. 2015 Dec; 16:61. Epub 2015 Jun 30.

The treatment of migraine headache is challenging given the lack of a standardized approach to care, unsatisfactory response rates, and medication overuse. Neuromodulation therapy has gained interest as an alternative to pharmacologic therapy for primary headache disorders. This study investigated the effects of non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS) in patients with high-frequency episodic migraine (HFEM) and chronic migraine (CM). In this open-label, single-arm, multicenter study, patients with HFEM or CM self-treated up to 3 consecutive mild or moderate migraine attacks that occurred during a 2-week period by delivering two 120-s doses of nVNS at 3-min intervals to the right cervical branch of the vagus nerve. Of the 50 migraineurs enrolled (CM/HFEM: 36/14), 48 treated 131 attacks. The proportion of patients reporting pain relief, defined as a $\geq 50\%$ reduction in visual analog scale (VAS) score, was 56.3% at 1 h and 64.6% at 2 h. Of these patients, 35.4% and 39.6% achieved pain-free status (VAS=0) at 1 and 2 h, respectively. When all attacks (N=131) were considered, the pain-relief rate was 38.2% at 1 h and 51.1% at 2 h, whereas the pain-free rate was 17.6% at 1 h and 22.9% at 2 h. Treatment with nVNS was safe and well tolerated. Non-invasive vagus nerve stimulation may be effective as acute treatment for HFEM or CM and may help to reduce medication overuse and medication-associated adverse events.

De Marchis ML, Barbanti P, Palmirota R, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Piroso S, Ialongo C, Della-Morte D, D'Andrea G, Ferroni P.
Look beyond Catechol-O-Methyltransferase genotype for catecholamines derangement in migraine: the BioBIM rs4818 and rs4680 polymorphisms study.
J Headache Pain. 2015 Dec;16(1):520. Epub 2015 Apr 30.

The study of COMT gene polymorphisms in migraine could be of particular interest since impaired catecholaminergic neurotransmission, namely chronic dopaminergic and noradrenergic hypofunction, is a peculiar migraine trait. In this study, for the first time, we focused on the role of COMT rs4818 genetic variant, the polymorphism most strongly affecting COMT activity, in migraine. This study was conducted in a cohort of carefully clinical characterized Caucasian migraineurs

recruited in a specifically dedicated migraine biobank, providing also a replication study on rs4680 polymorphism.

Genotyping of rs4680 and rs4818 Catechol-O-Methyltransferase gene polymorphisms was performed on 380 unrelated migraine patients, and 132 healthy subjects matched for age, gender and race-ethnicity, with no clinical evidence or family history of migraine or other neurological diseases. The rs4680 and rs4818 genotypic frequencies did not deviate from those expected for a population in Hardy-Weinberg equilibrium and did not correlate with demographics or clinical migraine features, even when considering migraine subtypes such as dopaminergic migraine, menstrual migraine, and menstrually related migraine.

COMT genotype does not influence migraine susceptibility or phenotype, even considering rs4818 polymorphism and peculiar clinical subtypes. This finding prompts to go over COMT to explain catecholamine derangement in migraine, exploring enzymes involved in catecholamines synthesis and catabolism, such as monoamine-oxidase, dopamine beta-hydroxylase, tyrosine-hydroxylase or tyrosine-decarboxylase, among others.

Grazzi L, Padovan A, Barbanti P.
Role of neurostimulation in migraine.
Neurol Sci. 2015 May;36 Suppl 1:121-123.

Chronic forms of headache characterized by daily or almost daily headache, affect almost 3 % of general population. They represent the most disabling forms of headache inducing high degree of disability, poor quality of life for patients. During the last decades, several neuromodulatory surgical techniques have been developed for the management of headaches that are unresponsive to medical treatment. Invasive and non invasive central and/or peripheral neurostimulation techniques have been developed by different research groups with encouraging results for different type of headaches. In this report, the acute effect of non invasive vagus nerve stimulation (nVNS) (gamma-core) was evaluated to treat migraine attacks in a population of patients affected by high-frequency episodic migraine or chronic migraine. The aim of this study was to verify the efficacy of nVNS to treat migraine attacks in this specific category of patients.

Neri M, Frustaci A, Milic M, Valdiglesias V, Fini M, Bonassi S, Barbanti P.
A meta-analysis of biomarkers related to oxidative stress and nitric oxide pathway in migraine.
Cephalalgia. 2015 Sep;35(10):931-937.

Oxidative and nitrosative stress are considered key events in the still unclear pathophysiology of migraine.

Studies comparing the level of biomarkers related to nitric oxide (NO) pathway/oxidative stress in the blood/urine of migraineurs vs. unaffected controls were extracted from the PubMed database. Summary estimates of mean ratios (MR) were carried out whenever a minimum of three papers were available. Nineteen studies were included in the meta-analyses, accounting for more than 1000 patients and controls, and compared with existing literature.

Most studies measuring superoxide dismutase (SOD) showed lower activity in cases, although the meta-analysis in erythrocytes gave null results. On the contrary, plasma levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), an aspecific biomarker of oxidative damage, showed a meta-MR of 2.20 (95% CI: 1.65-2.93). As for NOs, no significant results were found in plasma, serum and urine. However, higher levels were shown during attacks, in patients with aura, and an effect of diet was found. The analysis of glutathione precursor homocysteine and asymmetric dimethylarginine (ADMA), an NO synthase inhibitor, gave inconclusive results.

The role of the oxidative pathway in migraine is still uncertain. Interesting evidence emerged for TBARS and SOD, and concerning the possible role of diet in the control of NOx levels.

Palmirotta R, Barbanti P, Ialongo C, De Marchis ML, Alessandrini J, Egeo G, Aurilia C, Fofi L,

Valente MG, Ferroni P, Della-Morte D, Guadagni F.
Progesterone receptor gene (PROGINS) polymorphism correlates with late onset of migraine.
DNA Cell Biol. 2015 Mar;34(3):208-212.

Progesterone influences central neuronal excitability, a key event in migraine pathophysiology. Progesterone receptor gene (PGR) rs1042838 (G/T - Val660Leu) variant is indicative of PROGINS haplotype and associated to a reduced PGR activity. With the aim of investigating whether any type of association existed between this genetic variant and migraine pathophysiology, genotyping was performed in 380 consecutive migraine patients and 185 age-, sex-, and race-ethnicity-matched healthy controls from Interinstitutional Multidisciplinary BioBank (BioBIM) of IRCCS San Raffaele Pisana, Rome, Italy. rs1042838 genotypes did not correlate with demographics or clinical migraine features. However, TT (Leu) genotype was significantly associated with a later age of migraine onset: Patients affected by migraine with aura showed a linear relationship between copy number of the T allele carried by the individual and the age of migraine onset. Our data suggest that the PROGINS PGR polymorphism does not directly predispose to migraine but significantly delays migraine onset probably via a reduction in brain neuronal excitability.

Paolucci S, Iosa M, Toni D, Barbanti P, Bovi P, Cavallini A, Candeloro E, Mancini A, Mancuso M, Monaco S, Pieroni A, Recchia S, Sessa M, Strambo D, Tinazzi M, Cruccu G, Truini A.
Prevalence and time course of post-stroke pain: A multicenter prospective hospital-based study.
Pain Med. 2016 May;17(5):924-930.

Objective: Pain prevalence data for patients at various stages after stroke. Design: repeated cross-sectional, observational epidemiological study. Setting: Hospital-based multicenter study. Subjects: four hundred forty-three prospectively enrolled stroke survivors.

All patients underwent bedside clinical examination. The different types of post-stroke pain (central post-stroke pain, musculoskeletal pains, shoulder pain, spasticity-related pain, and headache) were diagnosed with widely accepted criteria during the acute, subacute, and chronic stroke stages. Differences among the three stages were analyzed with χ^2 -tests.

The mean overall prevalence of pain was 29.56% (14.06% in the acute, 42.73% in the subacute, and 31.90% in the chronic post-stroke stage). Time course differed significantly according to the various pain types ($P < 0.001$). The prevalence of musculoskeletal and shoulder pain was higher in the subacute and chronic than in the acute stages after stroke; the prevalence of spasticity-related pain peaked in the chronic stage. Conversely, headache manifested in the acute post-stroke stage. The prevalence of central post-stroke pain was higher in the subacute and chronic than in the acute post-stroke stage. Fewer than 25% of the patients with central post-stroke pain received drug treatment.

Pain after stroke is more frequent in the subacute and chronic phase than in the acute phase, but it is still largely undertreated.

Cardinale A, Filesi I, Singh PB, Biocca S.
Intrabody-mediated diverting of HP1 β to the cytoplasm induces co-aggregation of H3-H4 histones and lamin-B receptor.
Exp Cell Res. 2015 Oct 15;338(1):70-81.

Diverting a protein from its intracellular location is a unique property of intrabodies. To interfere with the intracellular traffic of heterochromatin protein 1 β (HP1 β) in living cells, we have generated a cytoplasmic targeted anti-HP1 β intrabody, specifically directed against the C-terminal portion of the molecule. HP1 β is a conserved component of mouse and human constitutive heterochromatin involved in diverse nuclear functions including gene silencing, DNA repair and nuclear membrane assembly. We found that the anti-HP1 β intrabody sequesters HP1 β into cytoplasmic aggregates, inhibiting its traffic to the nucleus. Lamin B receptor (LBR) and a subset of core

histones (H3/H4) are also specifically co-sequestered in the cytoplasm of anti-HP1 β intrabody-expressing cells. Methylated histone H3 at K9 (Me9H3), a marker of constitutive heterochromatin, is not affected by the anti-HP1 β intrabody expression. Hyper-acetylating conditions completely dislodge H3 from HP1 β :LBR containing aggregates. The expression of anti-HP1 β scFv fragments induces apoptosis, associated with an alteration of nuclear morphology. Both these phenotypes are specifically rescued either by overexpression of recombinant full length HP1 β or by HP1 β mutant containing the chromoshadow domain, but not by recombinant LBR protein. The HP1 β -chromodomain mutant, on the other hand, does not rescue the phenotypes, but does compete with LBR for binding to HP1 β . These findings provide new insights into the mode of action of cytoplasmic-targeted intrabodies and the interaction between HP1 β and its binding partners involved in peripheral heterochromatin organisation.

D'Arcangelo G, Grossi D, Racaniello M, Cardinale A, Zaratti A, Rufini S, Cutarelli A, Tancredi V, Merlo D, Frank C.

Miglustat Reverts the Impairment of Synaptic Plasticity in a Mouse Model of NPC Disease. *Neural Plasticity*. 2015.

Niemann-Pick type C disease is an autosomal recessive storage disorder, characterized by abnormal sequestration of unesterified cholesterol within the late endolysosomal compartment of cells and accumulation of gangliosides and other sphingolipids. Progressive neurological deterioration and insurgence of symptoms like ataxia, seizure, and cognitive decline until severe dementia are pathognomonic features of the disease. Here, we studied synaptic plasticity phenomena and evaluated ERKs activation in the hippocampus of BALB/c NPC1 $^{-/-}$ mice, a well described animal model of the disease. Our results demonstrated an impairment of both induction and maintenance of long term synaptic potentiation in NPC1 $^{-/-}$ mouse slices, associated with the lack of ERKs phosphorylation. We then investigated the effects of Miglustat, a recent approved drug for the treatment of NPCD. We found that in vivo Miglustat administration in NPC1 $^{-/-}$ mice was able to rescue synaptic plasticity deficits, to restore ERKs activation and to counteract hyperexcitability. Overall, these data indicate that Miglustat may be effective for treating the neurological deficits associated with NPCD, such as seizures and dementia.

Merlo D, Mollinari C, Racaniello M, Garaci E, Cardinale A.

"DNA double strand breaks: a common theme in neurodegenerative diseases".

Curr Alzheimer Res. 2016 Apr 1 [Epub ahead of print]

Accumulation of DNA damage and impairment of DNA repair systems are involved in the pathogenesis of different neurodegenerative diseases. Whenever DNA damage is too extensive, the DNA damage response pathway provides for triggering cellular senescence and/or apoptosis. However, whether the increased level of DNA damage in neurodegenerative disorders is a cause rather than the consequence of neurodegenerative events remains to be established. Among possible DNA lesions, DNA double strand breaks (DSBs) are rare events, nevertheless they are the most lethal form of DNA damage. In neurons, DSBs are particularly deleterious because of their reduced DNA repair capability as compared to proliferating cells. Here, we provide a description of DSB repair systems and describe human studies showing the presence of several types of DNA lesions in three major neurodegenerative diseases including Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD) and Huntington's disease (HD). Then, we analyze the role of DSB accumulation and deficiency of DSB repair systems in neurodegeneration by examining studies on animal models of neurodegenerative diseases.

Mollinari C, Racaniello M, Berry A, Pieri M, de Stefano MC, Cardinale A, Zona C, Cirulli F, Garaci E, Merlo D.

miR-34a regulates cell proliferation, morphology and function of newborn neurons resulting in improved behavioural outcomes.

Cell Death Dis. 2015 Jan 29;6:e1622. doi: 10.1038/cddis.2014.589.

miR-34a is involved in the regulation of the fate of different cell types. However, the mechanism by which it controls the differentiation programme of neural cells remains largely unknown. Here, we investigated the role of miR-34a in neurogenesis and maturation of developing neurons and identified Doublecortin as a new miR-34a target. We found that the overexpression of miR-34a in vitro significantly increases precursor proliferation and influences morphology and function of developing neurons.

Indeed, miR-34a overexpressing neurons showed a decreased expression of several synaptic proteins and receptor subunits, a decrement of NMDA-evoked current density and, interestingly, a more efficient response to synaptic stimulus. In vivo, miR-34a overexpression showed stage-specific effects. In neural progenitors, miR-34a overexpression promoted cell proliferation, in migratory neuroblasts reduced the migration and in differentiating newborn neurons modulated process outgrowth and complexity. Importantly, we found that rats overexpressing miR-34a in the brain have better learning abilities and reduced emotionality.

Narciso L, Parlanti E, Racaniello M, Simonelli V, Cardinale A, Merlo D, Dogliotti E.

The response to oxidative DNA damage in neurons: Mechanisms and disease.

Neural plasticity. 2015; Accepted 24 December 2015

There is a growing body of evidence indicating that the mechanisms that control genome stability are of key importance in the development and function of the nervous system. The major threat for neurons is oxidative DNA damage, which is repaired by the base excision repair (BER) pathway. Functional mutations of enzymes that are involved in the processing of single-strand breaks (SSB) that are generated during BER have been causally associated with syndromes that present important neurological alterations and cognitive decline. In this review, the plasticity of BER during neurogenesis and the importance of an efficient BER for correct brain function will be specifically addressed paying particular attention to the brain region and neuron-selectivity in SSB repair-associated neurological syndromes and age-related neurodegenerative diseases.

Roseti C, van Vliet EA, Cifelli P, Ruffolo G, Baayen JC, Di Castro MA, Bertollini C, Limatola C, Aro-nica E, Vezzani A, Palma E.

GABA(A) currents are decreased by IL-1 β in epileptogenic tissue of patients with temporal lobe epilepsy: implications for ictogenesis.

Neurobiol Dis. 2015;82:311-320.

Temporal lobe epilepsy (TLE) is the most prevalent form of adult focal onset epilepsy often associated with drug-resistant seizures. Numerous studies suggest that neuroinflammatory processes are pathologic hallmarks of both experimental and human epilepsy. In particular, the interleukin (IL)-1 β /IL-1 receptor type 1 (R1) axis is activated in epileptogenic tissue, where it contributes significantly to the generation and recurrence of seizures in animal models. In this study, we investigated whether IL-1 β affects the GABA-evoked currents (I(GABA)) in TLE tissue from humans. Given the limited availability of fresh human brain specimens, we used the "microtransplantation" method of injecting *Xenopus* oocytes with membranes from surgically resected hippocampal and cortical tissue from 21 patients with TLE and hippocampal sclerosis (HS), hippocampal tissue from five patients with TLE without HS, and autaptic and surgical brain specimens from 15 controls without epilepsy. We report the novel finding that pathophysiological concentrations of IL-1 β decreased the I(GABA) amplitude by up to 30% in specimens from patients with TLE with or without HS, but not in control tissues. This effect was reproduced by patch-clamp recordings on neurons in entorhinal cortex slices from rats with chronic epilepsy, and was not observed in control slices. In TLE specimens from humans, the IL-1 β effect was mediated by IL-1R1 and PKC. We also showed that IL-1R1 and IRAK1, the proximal kinase mediating the IL-1R1 signaling, are

in the TLE compared with control specimens, thus supporting the idea that the IL-1 β /IL-R1 axis is activated in human epilepsy. Our findings suggest a novel mechanism possibly underlying the ictogenic action of IL-1 β , thus suggesting that this cytokine contributes to seizure generation in human TLE by reducing GABA-mediated neurotransmission.

Soukupova M, Binaschi A, Falcicchia C, Palma E, Roncon P, Zucchini S, Simonato M. Increased extracellular levels of glutamate in the hippocampus of chronically epileptic rats. *Neuroscience*. 2015 Jun 11;301:246-253.

Temporal lobe epilepsy (TLE) is the most prevalent form of adult focal onset epilepsy often associated with drug-resistant seizures. Numerous studies suggest that neuroinflammatory processes are pathologic hallmarks of both experimental and human epilepsy. In particular, the interleukin (IL)-1 β /IL-1 receptor type 1 (R1) axis is activated in epileptogenic tissue, where it contributes significantly to the generation and recurrence of seizures in animal models. In this study, we investigated whether IL-1 β affects the GABA-evoked currents (I(GABA)) in TLE tissue from humans. Given the limited availability of fresh human brain specimens, we used the "microtransplantation" method of injecting *Xenopus* oocytes with membranes from surgically resected hippocampal and cortical tissue from 21 patients with TLE and hippocampal sclerosis (HS), hippocampal tissue from five patients with TLE without HS, and autaptic and surgical brain specimens from 15 controls without epilepsy. We report the novel finding that pathophysiological concentrations of IL-1 β decreased the I(GABA) amplitude by up to 30% in specimens from patients with TLE with or without HS, but not in control tissues. This effect was reproduced by patch-clamp recordings on neurons in entorhinal cortex slices from rats with chronic epilepsy, and was not observed in control slices. In TLE specimens from humans, the IL-1 β effect was mediated by IL-1R1 and PKC. We also showed that IL-1R1 and IRAK1, the proximal kinase mediating the IL-1R1 signaling, are both up-regulated in the TLE compared with control specimens, thus supporting the idea that the IL-1 β /IL-R1 axis is activated in human epilepsy. Our findings suggest a novel mechanism possibly underlying the ictogenic action of IL-1 β , thus suggesting that this cytokine contributes to seizure generation in human TLE by reducing GABA-mediated neurotransmission.

Desideri E, Vegliante R, Ciriolo MR. Mitochondrial dysfunctions in cancer: genetic defects and oncogenic signaling impinging on TCA cycle activity. *Cancer Lett*. 2015 Jan 28;356(2 Pt A):217-223.

The tricarboxylic acid (TCA) cycle is a central route for oxidative metabolism. Besides being responsible for the production of NADH and FADH₂, which fuel the mitochondrial electron transport chain to generate ATP, the TCA cycle is also a robust source of metabolic intermediates required for anabolic reactions. This is particularly important for highly proliferating cells, like tumour cells, which require a continuous supply of precursors for the synthesis of lipids, proteins and nucleic acids. A number of mutations among the TCA cycle enzymes have been discovered and their association with some tumour types has been established. In this review we summarise the current knowledge regarding alterations of the TCA cycle in tumours, with particular attention to the three germline mutations of the enzymes succinate dehydrogenase, fumarate hydratase and isocitrate dehydrogenase, which are involved in the pathogenesis of tumours, and to the aberrant regulation of TCA cycle components that are under the control of oncogenes and tumour suppressors.

Lettieri Barbato D, Tatulli G, Aquilano K, Ciriolo MR. Mitochondrial Hormesis links nutrient restriction to improved metabolism in fat cell. *Aging (Albany NY)*. 2015 Oct;7(10):869-881.

Fasting promotes longevity by reprogramming metabolic and stress resistance pathways. However, although the impact on adipose tissue physiology through hormonal inputs is well established, the direct role of fasting on adipose cells is poorly understood. Herein we show that white and beige adipocytes, as well as mouse epididymal and subcutaneous adipose depots, respond to nutrient scarcity by acquiring a brown-like phenotype. Indeed, they improve oxidative metabolism through modulating the expression of mitochondrial- and nuclear-encoded oxidative phosphorylation genes as well as mitochondrial stress defensive proteins (UCP1, SOD2). Such adaptation is placed in a canonical mitohormetic response that proceeds via mitochondrial reactive oxygen species ((mt)ROS) production and redistribution of FoxO1 transcription factor into nucleus. Nuclear FoxO1 ((n)FoxO1) mediates retrograde communication by inducing the expression of mitochondrial oxidative and stress defensive genes. Collectively, our findings describe an unusual white/beige fat cell response to nutrient availability highlighting another health-promoting mechanism of fasting.

Lettieri Barbato D, Tatulli G, Cannata SM, Bernardini S, Aquilano K, Ciriolo MR. Glutathione Decrement Drives Thermogenic Program In Adipose Cells. *Sci Rep*. 2015 Aug 11;5:13091. doi: 10.1038/srep13091.

Adipose tissue metabolically adapts to external stimuli. We demonstrate that the induction of the thermogenic program in white adipocytes, through cold exposure in mice or in vitro adrenergic stimulation, is accompanied by a decrease in the intracellular content of glutathione (GSH). Moreover, the treatment with a GSH depleting agent, buthionine sulfoximine (BSO), recapitulates the effect of cold exposure resulting in the induction of thermogenic program. In particular, BSO treatment leads to enhanced uncoupling respiration as demonstrated by increased expression of thermogenic genes (e.g. *Ucp1*, *Ppargc1a*), augmented oxygen consumption and decreased mitochondrial transmembrane potential. Buffering GSH decrement by pre-treatment with GSH ester prevents the up-regulation of typical markers of uncoupling respiration. We demonstrate that FoxO1 activation is responsible for the conversion of white adipocytes into a brown phenotype as the "browning" effects of BSO are completely abrogated in cells down-regulating FoxO1. In mice, the BSO-mediated up-regulation of uncoupling genes results in weight loss that is at least in part ascribed to adipose tissue mass reduction. The induction of thermogenic program has been largely proposed to counteract obesity-related diseases. Based on these findings, we propose GSH as a novel therapeutic target to increase energy expenditure in adipocytes.

Lettieri Barbato D, Tatulli G, Vegliante R, Cannata SM, Bernardini S, Ciriolo MR, Aquilano K. Dietary fat overload reprograms brown fat mitochondria. *Front Physiol*. 2015 Sep 29;6:272. eCollection 2015.

Chronic nutrient overload accelerates the onset of several aging-related diseases reducing life expectancy. Although the mechanisms by which overnutrition affects metabolic processes in many tissues are known, its role on BAT physiology is still unclear. Herein, we investigated the mitochondrial responses in BAT of female mice exposed to high fat diet (HFD) at different steps of life. Although adult mice showed an unchanged mitochondrial amount, both respiration and OxPHOS subunits were strongly affected. Differently, offspring pups exposed to HFD during pregnancy and lactation displayed reduced mitochondrial mass but high oxidative efficiency that, however, resulted in increased bioenergetics state of BAT rather than augmented uncoupling respiration. Interestingly, the metabolic responses triggered by HFD were accompanied by changes in mitochondrial dynamics characterized by decreased content of the fragmentation marker *Drp1* both in mothers and offspring pups. HFD-induced inactivation of the FoxO1 transcription factor seemed to be the up-stream modulator of *Drp1* levels in brown fat cells. Furthermore, HFD offspring pups weaned with normal diet only partially reverted the mitochondrial dysfunctions caused by HFD. Finally these mice failed in activating the thermogenic program upon cold

exposure. Collectively our findings suggest that maternal dietary fat overload irreversibly commits BAT unresponsiveness to physiological stimuli such as cool temperature and this dysfunction in the early stage of life might negatively modulate health and lifespan.

Babiloni C, Del Percio C, Capotosto P, Noce G, Infarinato F, Muratori C, Marcotulli C, Bellagamba G, Righi E, Soricelli A, Onorati P, Lupattelli T.

Cortical sources of resting state electroencephalographic rhythms differ in relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis.

Clinical Neurophysiology 2015 [Epub ahead of print]

Resting state electroencephalographic (EEG) rhythms are abnormal in multiple sclerosis (MS) patients, but it is unclear if they can reflect different neurophysiologic abnormalities in MS sub-types (phenotypes) such as relapsing-remitting (RR) and secondary progressive (SP).

We tested whether cortical sources of resting state EEG rhythms are abnormal in MS patients and differ between MS phenotypes. Resting state eyes-closed EEG activity was recorded in 36 RR, 23 SP, and 41 matched healthy subjects. EEG bands of interest were individually identified based on Transition frequency (TF), Individual alpha frequency (IAF), and Individual beta frequency (IBF). LORETA freeware estimated cortical EEG sources.

Widespread TF -4Hz (delta) and IAF (alpha) cortical sources were abnormal in the MS sub-groups compared to the control group. Furthermore, TF -4Hz sources in central, parietal, and limbic regions were higher in amplitude in the SP compared to the RR sub-group.

Cortical sources of resting state EEG rhythms are abnormal in MS patients at group level and differ between RR and SP sub-groups.

Future studies should test the utility of these EEG markers in the diagnosis and management of MS clinical phenotypes and in the therapy evaluation.

Babiloni C, Del Percio C, Vecchio F, Sebastiano F, Di Gennaro G, Quarato PP, Morace R, Pavone L, Soricelli A, Noce G, Esposito V, Rossini PM*, Gallese V, Mirabella G.

Alpha, beta and gamma electrocorticographic rhythms in somatosensory, motor, premotor and prefrontal cortical areas differ in movement execution and observation in humans.

Clinical Neurophysiology 2015 [Epub ahead of print]

In the present study, we tested the hypothesis that both movement execution and observation induce parallel modulations of alpha, beta, and gamma electrocorticographic (ECoG) rhythms in primary somatosensory (Brodmann area 1-2, BA1-2), primary motor (BA4), ventral premotor (BA6), and prefrontal (BA44 and BA45, part of putative human mirror neuron system underlying the understanding of actions of other people) areas.

ECoG activity was recorded in drug-resistant epileptic patients during the execution of actions to reach and grasp common objects according to their affordances, as well as during the observation of the same actions performed by an experimenter

Both action execution and observation induced a desynchronization of alpha and beta rhythms in BA1-2, BA4, BA6, BA44 and BA45, which was generally higher in amplitude during the former than the latter condition. Action execution also induced a major synchronization of gamma rhythms in BA4 and BA6, again more during the execution of an action than during its observation.

Human primary sensorimotor, premotor, and prefrontal areas do generate alpha, beta, and gamma rhythms and differently modulate them during action execution and observation. Gamma rhythms of motor areas are especially involved in action execution.

Oscillatory activity of neural populations in sensorimotor, premotor and prefrontal (part of human mirror neuron system) areas represents and distinguishes own actions from those of other people. This methodological approach might be used for a neurophysiological diagnostic imaging of social cognition in epileptic patients.

Babiloni C, Lizio R, Marzano N, Capotosto P, Soricelli A, Triggiani AI, Cordone S, Gesualdo L, Del Percio C.

Brain neural synchronization and functional coupling in Alzheimer's disease as revealed by resting state EEG rhythms.

Int J Psychophysiol. 2015 Feb 7. [Epub ahead of print]

Alzheimer's disease (AD) is the most common type of neurodegenerative disorder, typically causing dementia along aging. AD is mainly characterized by a pathological extracellular accumulation of amyloid-beta peptides that affects excitatory and inhibitory synaptic transmission, inducing aberrant patterns in neuronal circuits. Growing evidence shows that AD targets cortical neuronal networks related to cognitive functions including episodic memory and visuospatial attention. This is partially reflected by the abnormal mechanisms of cortical neural synchronization and coupling that generate resting state electroencephalographic (EEG) rhythms. The cortical neural synchronization is typically indexed by EEG power density. The EEG coupling between electrode pairs probes functional (inter-relatedness of EEG signals) and effective (casual effect from one over the other electrode) connectivity. The former is typically indexed by synchronization likelihood (linear and nonlinear) or spectral coherence (linear), the latter by granger causality or information theory indexes. Here we reviewed literature concerning EEG studies in condition of resting state in AD and mild cognitive impairment (MCI) subjects as a window on abnormalities of the cortical neural synchronization and functional and effective connectivity. Results showed abnormalities of the EEG power density at specific frequency bands (<12Hz) in the MCI and AD populations, associated with an altered functional and effective EEG connectivity among long range cortical networks (i.e. fronto-parietal and fronto-temporal). These results suggest that resting state EEG rhythms reflect the abnormal cortical neural synchronization and coupling in the brain of prodromal and overt AD subjects, possibly reflecting dysfunctional neuroplasticity of the neural transmission in long range cortical networks.

Babiloni C, Pennica A, Del Percio C, Noce G, Cordone S, Muratori C, Ferracuti S, Donato N, Di Campi F, Gianserra L, Teti E, Aceti A, Soricelli A, Viscione M, Limatola C, Andreoni M, Onorati P.

Abnormal cortical sources of resting state electroencephalographic rhythms in single treatment-naïve HIV individuals: A statistical z-score index.

Clinical Neurophysiology. 2015;19 December [Epub ahead of print]

This study tested a simple statistical procedure to recognize single treatment-naïve HIV individuals having abnormal cortical sources of resting state delta (<4 Hz) and alpha (8-13 Hz) electroencephalographic (EEG) rhythms with reference to a control group of sex-, age-, and education-matched healthy individuals. Compared to the HIV individuals with a statistically normal EEG marker, those with abnormal values were expected to show worse cognitive status.

Resting state eyes-closed EEG data were recorded in 82 treatment-naïve HIV (39.8 ys.±1.2 standard error mean, SE) and 59 age-matched cognitively healthy subjects (39 ys.±2.2 SE). Low-resolution brain electromagnetic tomography (LORETA) estimated delta and alpha sources in frontal, central, temporal, parietal, and occipital cortical regions.

Ratio of the activity of parietal delta and high-frequency alpha sources (EEG marker) showed the maximum difference between the healthy and the treatment-naïve HIV group. Z-score of the EEG marker was statistically abnormal in 47.6% of treatment-naïve HIV individuals with reference to the healthy group (p<0.05). Compared to the HIV individuals with a statistically normal EEG marker, those with abnormal values exhibited lower mini mental state evaluation (MMSE) score, higher CD4 count, and lower viral load (p<0.05).

This statistical procedure permitted for the first time to identify single treatment-naïve HIV individuals having abnormal EEG activity.

This procedure might enrich the detection and monitoring of effects of HIV on brain function in

single treatment-naïve HIV individuals.

Bianco A, Gambaro G, Rossini PM, Mirabella M.
Acyclovir-related kidney injury during alemtuzumab infusion.
J Neurol. 2015 Jul;262(7):1772-1774.

Bianco A, Patanella AK, Nociti V, Marti A, Frisullo G, Plantone D, De Fino C, Fetta A, Batocchi A, Rossini PM, Mirabella M.
Second-line therapy with fingolimod for relapsing-remitting multiple sclerosis in clinical practice: The effect of previous exposure to natalizumab.
Eur Neurol. 2015;73(1-2):57-65.

Background: To evaluate efficacy and safety of fingolimod for relapsing-remitting multiple sclerosis, particularly in patients previously exposed to natalizumab.
It's a prospective observational single-centre second-line cohort study.
Among 71 patients treated with fingolimod 0.5 mg/day for a mean duration of 21.75 ± 12.60 months, the annualized relapse rate was 0.66 (C.I. 95% 0.27-1.05) with a significant difference between 26 patients with prior natalizumab exposure (1.15; C.I. 95% 0.12-2.17) and 45 not exposed (0.38; C.I. 95% 0.18-0.57; $p = 0.002$). In a multivariate negative regression model, only previous exposure to natalizumab ($p = 0.049$) and duration of fingolimod treatment ($p < 0.001$) significantly correlated with the annualized relapse rate. Previous exposure to natalizumab ($p = 0.028$) and duration of treatment with fingolimod ($p < 0.001$) were confirmed by restricting the analysis to the first 12 months of treatment with fingolimod, but were no longer statistically significant by analysing only patients ($n = 51$) with at least 12 months of treatment with fingolimod (0.32; C.I. 95% 0.08-0.55 vs. 0.22; C.I. 95% 0.11-0.32; $p = \text{NS}$). No differences were observed in neuroradiological outcomes and disability progression in patients exposed to natalizumab and not exposed. The rate of discontinuation due to adverse events was 11.3%, with no differences between the two groups.
Our study confirms efficacy and side effects of fingolimod in a second-line clinical practice cohort. Prior natalizumab exposure and duration of treatment with fingolimod are independent predictors of annualized relapse rate during the first 12 months of treatment with fingolimod, but not in the long-term, and may be influenced by the 3 months washout period between the two drugs.

Brunetti M, Sepede G, Ferretti A, Mingoia G, Romani GL, Babiloni C.
Response inhibition failure to visual stimuli paired with a "single-type" stressor in PTSD patients: An fMRI pilot study.
Brain Res Bull. 2015 Mar 16;114:20-30.

Patients with post-traumatic stress disorder (PTSD) tend to misinterpret innocuous stimuli as potential threats, possibly due to a conditioning provoked by traumatic episodes. Previous neuroimaging evidence has shown an abnormal activation of the amygdala and prefrontal cortex in PTSD patients during fear conditioning and extinction. Nevertheless, the effects of a single-type adverse stressor on that circuit remain poorly explored. We tested the hypothesis that a single-type adverse episode is able to affect the prefrontal cortex and amygdala response to conditioned stimuli. To test this hypothesis, fMRI recordings were performed in PTSD patients and trauma-exposed controls during the observation of neutral and negative paired or non-paired pictures with an adverse stimulus by means of a single association. Results showed that left amygdala activation during negative reinforced stimuli was correlated with the score of PTSD clinical scale across all subjects. Furthermore, in the traumatized non-PTSD group, the activation of the dorso-medial prefrontal cortex and bilateral amygdala was lower during the observation of the reinforced (CS(+)) versus non-reinforced pictures (CS(-)) in response to emotionally negative stimuli. This was not the case in the PTSD patients. These results suggest that in PTSD patients, a single-episode conditioning unveils the failure of an inhibitory mechanism moderating

activity of the prefrontal cortex and amygdala in response to adverse and neutral stimuli.

Caliandro P, Serrao M, Padua L, Silvestri G, Iacovelli C, Simbolotti C, Mari S, Reale G, Casali C, Rossini PM.
Prefrontal cortex as a compensatory network in ataxic gait: A correlation study between cortical activity and gait parameters.
Restor Neurol Neurosci. 2015;33(2):177-187.

To investigate whether prefrontal cortex (PFC) functioning during ataxic gait is linked to compensatory mechanisms or to the typical intra-subject variability of the ataxic gait.
Nineteen patients with chronic ataxia and fifteen healthy subjects were evaluated. The subjects were requested to walk along a straight distance of 10 meters while PFC oxygenation and gait parameters were assessed. PFC activity was evaluated by NIRO-200 while gait analysis was performed by the SMART-D500. To investigate the intra-subject variability of gait, we calculated the coefficient of multiple correlation (CMC) of the hip, knee and ankle kinematic waveforms furthermore, we evaluated the step width.
We observed a positive correlation between PFC bilateral oxygenation changes and the step width ($r = 0.54$; $p = 0.02$ for the right PFC, and $r = 0.50$; $p = 0.03$ for the left PFC). No correlation was found between PFC activity and CMC of the hip, knee and ankle waveforms.
Our results suggest that PFC activity is linked to gait compensatory mechanisms more than to the variability of the joint kinematic parameters caused by a defective cerebellar control.

Cancelli A, Cottone C, Di Giorgio M, Carducci F, Tecchio F.
Personalizing the electrode to neuromodulate an extended cortical region.
Brain Stimul. 2015 May-Jun;8(3):555-560.

Among transcranial electric stimulation (tES) parameters, personalizing the electrode geometry might help overcome the individual variability of the induced effects.
To test the need for electrode personalization, instead of a universal electrode for everyone, to induce neuromodulation effects on the bilateral primary motor cortex (M1) devoted to upper and lower limb representation.
By an ad-hoc neuronavigation procedure, we shaped the personalized electrode and positioned it matching the projection on the scalp of the individual central sulcus by a 2 cm strip, with total area of 35 cm². The non-personalized electrode, i.e., equal for all subjects, was a 2 cm wide strip size-matched with the personalized electrode but shaped on a standard model fitting the curve passing through C3-CZ-C4 sites of the electroencephalographic (EEG) 10-20 International System. To test neuromodulation electrode-dependent efficacy, we induced a 20 Hz sinusoidal modulated current (transcranial alternating current stimulation, tACS) because it produces online effects. We simultaneously collected left and right hand and leg motor potentials (MEP) that were evoked by a rounded transcranial magnetic stimulation (TMS) coil. Through each electrode we delivered both real and sham stimulations.
While cortical excitability during tACS increased during both the non-personalized and the personalized electrodes for the leg, the hand representation excitability enhancement was induced selectively when using the personalized electrode. The results were consistent bilaterally.
We documented that by using a personalized electrode it is possible to induce the neuromodulation of a predetermined extended cortical target, which did not occur with a non-personalized electrode. Our findings can help in building neuromodulation methods that might compensate for individual alterations across specific brain networks.

Cancelli A, Cottone C, Zito G, Di Giorgio M, Pasqualetti P, Tecchio F.
Cortical inhibition and excitation by bilateral transcranial alternating current stimulation.
Restor Neurol Neurosci. 2015;33(2):105-114.

Transcranial electric stimulations (tES) with amplitude-modulated currents are promising tools to enhance neuromodulation effects. It is essential to select the correct cortical targets and inhibitory/excitatory protocols to reverse changes in specific networks. We aimed at assessing the dependence of cortical excitability changes on the current amplitude of 20 Hz transcranial alternating current stimulation (tACS) over the bilateral primary motor cortex.

We chose two amplitude ranges of the stimulations, around 25 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ and 63 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ from peak to peak, with three values (at steps of about 2.5%) around each, to generate, respectively, inhibitory and excitatory effects of the primary motor cortex. We checked such changes online through transcranial magnetic stimulation (TMS)-induced motor evoked potentials (MEPs).

Cortical excitability changes depended upon current density ($p = 0.001$). Low current densities decreased MEP amplitudes (inhibition) while high current densities increased them (excitation).

tACS targeting bilateral homologous cortical areas can induce online inhibition or excitation as a function of the current density.

Ferreri F, Guerra A, Rossini PM.

Neurophysiological markers of plastic brain reorganization following central and peripheral lesions.

Arch Ital Biol. 2014 Dec;152(4):216-238.

There is increasing evidence supporting the concept that adult brain has the remarkable ability to plastically reorganize itself. Brain plasticity involves distinct functional and structural components and plays a crucial role in reorganizing central nervous system's networks after central and peripheral lesions in order to partly or totally restore lost and/or compromised functions. This plastic rearrangement occurs in fact not only after a central nervous system injury but also following a peripheral lesion. Interestingly, the existence of a certain type of maladaptive plasticity was clearly recognized in the last decade, which gives reason for example to poor outcome performances or aberrant phenomena. In this review we analyze stroke and amputees studies, as illustrative conditions of central and peripheral nervous system damage, and discuss the adaptive as well maladaptive plastic brain changes following these lesions. The emerging possibility, through neuro-imaging and neurophysiological advanced techniques, to clarify some crucial issues underlying brain plasticity will give the chance to modulate these mechanisms in a highly personalized therapy. This approach may have a tremendous impact in a variety of neuropsychiatric disorders opening a new era of restorative medicine.

Foik AT, Kublik E, Sergeeva EG, Tatlisumak T, Sabel BA, Rossini PM, Waleszczyk WJ.

Retinal origin of electrically evoked potentials in response to transcorneal alternating current stimulation in the rat.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015 Feb 3;56(3):1711-1718.

Little is known about the physiological mechanisms underlying the reported therapeutic effects of transorbital alternating current stimulation (ACS) in vision restoration, or the origin of the recorded electrically evoked potentials (EEPs) during such stimulation. We examined the issue of EEP origin and electrode configuration for transorbital ACS and characterized the physiological responses to CS in different structures of the visual system.

We recorded visually evoked potentials (VEPs) and EEPs from the rat retina, visual thalamus, tectum, and visual cortex. The VEPs were evoked by light flashes and EEPs were evoked by electric stimuli delivered by two electrodes placed either together on the same eye or on the eyeball and in the neck. Electrically evoked potentials and VEPs were recorded before and after bilateral

intraorbital injections of tetrodotoxin that blocked retinal ganglion cell activity.

Tetrodotoxin abolished VEPs at all levels in the visual pathway, confirming successful blockage of ganglion cell activity. Tetrodotoxin also abolished EEPs and this effect was independent of the stimulating electrode configurations.

Transorbital electrically evoked responses in the visual pathway, irrespective of reference electrode placement, are initiated by activation of the retina and not by passive conductance and direct activation of neurons in other visual structures. Thus, placement of stimulating electrodes exclusively around the eyeball may be sufficient to achieve therapeutic effects.

Gall C, Silvennoinen K, Granata G, de Rossi F, Vecchio F, Brösel D, Bola M, Sailer M, Waleszczyk WJ, Rossini PM, Tatlisumak T, Sabel BA.

Non-invasive electric current stimulation for restoration of vision after unilateral occipital stroke.
Contemp Clin Trials. 2015 Jul;43:231-236.

Occipital stroke often leads to visual field loss, for which no effective treatment exists. Little is known about the potential of non-invasive electric current stimulation to ameliorate visual functions in patients suffering from unilateral occipital stroke. One reason is the traditional thinking that visual field loss after brain lesions is permanent. Since evidence is available documenting vision restoration by means of vision training or non-invasive electric current stimulation future studies should also consider investigating recovery processes after visual cortical strokes. Here, protocols of repetitive transorbital alternating current stimulation (rtACS) and transcranial direct current stimulation (tDCS) are presented and the European consortium for restoration of vision (REVIS) is introduced. Within the consortium different stimulation approaches will be applied to patients with unilateral occipital strokes resulting in homonymous hemianopic visual field defects. The aim of the study is to evaluate effects of current stimulation of the brain on vision parameters, vision-related quality of life, and physiological parameters that allow concluding about the mechanisms of vision restoration. These include EEG-spectra and coherence measures, and visual evoked potentials. The design of stimulation protocols involves an appropriate sham-stimulation condition and sufficient follow-up periods to test whether the effects are stable. This is the first application of non-invasive current stimulation for vision rehabilitation in stroke-related visual field deficits. Positive results of the trials could have far-reaching implications for clinical practice. The ability of non-invasive electrical current brain stimulation to modulate the activity of neuronal networks may have implications for stroke rehabilitation also in the visual domain.

Galletta EE, Cancelli A, Cottone C, Simonelli I, Tecchio F, Bikson M, Marangolo P.

Use of Computational Modeling to Inform tDCS Electrode Montages for the Promotion of Language Recovery in Post-stroke Aphasia.

Brain Stimul. 2015 Jul 2. [Epub ahead of print]

Although pilot trials of transcranial direct current stimulation (tDCS) in aphasia are encouraging, protocol optimization is needed. Notably, it has not yet been clarified which of the varied electrode montages investigated is the most effective in enhancing language recovery.

To consider and contrast the predicted brain current flow patterns (electric field distribution) produced by varied 1x1 tDCS (1 anode, 1 cathode, 5 x 7 cm pad electrodes) montages used in aphasia clinical trials.

A finite element model of the head of a single left frontal stroke patient was developed in order to study the pattern of the cortical EF magnitude and inward/outward radial EF under five different electrode montages: Anodal-tDCS (A-tDCS) over the left Wernicke's area (Montage A) and over the left Broca's area (Montage B); Cathodal tDCS (C-tDCS) over the right homologue of Wernicke's area (Montage C), and of Broca's area (Montage D), where for all montages A-D the "return" electrode was placed over the supraorbital contralateral forehead; bilateral stimulation with A-t-

DCS over the left Broca's and CtDCS over the right Broca's homologue (Montage E). In all cases, the "return" electrode over the contralesional supraorbital forehead was not inert and influenced the current path through the entire brain. Montage B, although similar to montage D in focusing the current in the perilesional area, exerted the greatest effect over the left perilesional cortex, which was even stronger in montage E. The position and influence of both electrodes must be considered in the design and interpretation of tDCS clinical trials for aphasia.

Iorio A, Polimanti R, Calandro M, Graziano ME, Piacentini S, Bucossi S, Squitti R, Lazzarin N, Scano G, Limbruno GM, Manfellotto D, Fuciarelli M. Explorative genetic association study of GSTT2B copy number variant in complex disease risks. *Ann Hum Biol.* 2016 May;43(3): 279-284.

Glutathione S-transferases (GSTs) are the main phase II enzymes involved in cellular detoxification. Through phase I and phase II detoxification reactions, the cell is able to detoxify endogenous and exogenous toxic compounds. This study focused attention on the GSTT2B copy number variant (CNV) in order to explore its involvement in the genetic pre-disposition to asthma, Alzheimer's disease (AD), allergic rhinitis (AR), essential hypertension (EH), hypothyroidism and recurrent miscarriage (RM).

The study population consists of 1225 individuals divided into six case-control groups. The genotyping of the GSTT2B CNV was performed by using a duplex-PCR. Odds Ratios (ORs) were calculated, adjusting for the confounding variables, to estimate the association between GSTT2B CNV and the disease status. The χ^2 -test and ORs did not show any association between this genetic marker and pathological phenotypes. The data highlights that GSTT2B CNV is not associated with the investigated complex diseases in Italian patients. However, further investigations are necessary to replicate these findings in larger sample sizes and to explore other health-related phenotypes.

Infarinato F, Rahman A, Del Percio C, Lamberty Y, Bordet R, Richardson JC, Forloni G, Drinkenburg W, Lopez S, Aujard F, Babiloni C, Pifferi F; IMI project "PharmaCog" Consortium. On-Going Frontal Alpha Rhythms Are Dominant in Passive State and Desynchronize in Active State in Adult Gray Mouse Lemurs. *PLoS One.* 2015 Nov 30;10(11):e0143719. eCollection 2015.

The gray mouse lemur (*Microcebus murinus*) is considered a useful primate model for translational research. In the framework of IMI PharmaCog project (Grant Agreement n°115009, www.pharmacog.org), we tested the hypothesis that spectral electroencephalographic (EEG) markers of motor and locomotor activity in gray mouse lemurs reflect typical movement-related desynchronization of alpha rhythms (about 8-12 Hz) in humans. To this aim, EEG (bipolar electrodes in frontal cortex) and electromyographic (EMG; bipolar electrodes sutured in neck muscles) data were recorded in 13 male adult (about 3 years) lemurs. Artifact-free EEG segments during active state (gross movements, exploratory movements or locomotor activity) and awake passive state (no sleep) were selected on the basis of instrumental measures of animal behavior, and were used as an input for EEG power density analysis. Results showed a clear peak of EEG power density at alpha range (7-9 Hz) during passive state. During active state, there was a reduction in alpha power density (8-12 Hz) and an increase of power density at slow frequencies (1-4 Hz). Relative EMG activity was related to EEG power density at 2-4 Hz (positive correlation) and at 8-12 Hz (negative correlation). These results suggest for the first time that the primate gray mouse lemurs and humans may share basic neurophysiologic mechanisms of synchronization of frontal alpha rhythms in awake passive state and their desynchronization during motor and locomotor activity. These EEG markers may be an ideal experimental model for translational basic (motor science) and applied (pharmacolo-

gical and non-pharmacological interventions) research in Neurophysiology.

Jovicich J, Minati L, Marizzoni M, Marchitelli R, Sala-Llonch R, Bartrés-Faz D, Arnold J, Benninghoff J, Fiedler U, Roccatagliata L, Picco A, Nobili F, Blin O, Bombois S, Lopes R, Bordet R, Sein J, Ranjeva JP, Didic M, Gros-Dagnac H, Payoux P, Zoccatelli G, Alessandrini F, Beltramello A, Bargaló N, Ferretti A, Caulo M, Aiello M, Cavaliere C, Soricelli A, Parnetti L, Tarducci R, Floridi P, Tsolaki M, Constantinidis M, Drevelegas A, Rossini PM*, Marra C, Schönknecht P, Hensch T, Hoffmann KT, Kuijter JP, Visser PJ, Scheltens P, Frisoni GB; PharmaCog Consortium. Longitudinal reproducibility of default-mode network connectivity in healthy elderly participants: A multicentric resting-state fMRI study. *Neuroimage.* 2015 Jul 9. pii: S1053-8119(15)00619-9.

To date, limited data are available regarding the inter-site consistency of test-retest reproducibility of functional connectivity measurements, in particular with regard to integrity of the Default Mode Network (DMN) in elderly participants. We implemented a harmonized resting-state fMRI protocol on 13 clinical scanners at 3.0T using vendor-provided sequences. Each site scanned a group of 5 healthy elderly participants twice, at least a week apart. We evaluated inter-site differences and test-retest reproducibility of both temporal signal-to-noise ratio (tSNR) and functional connectivity measurements derived from: i) seed-based analysis (SBA) with seed in the posterior cingulate cortex (PCC), ii) group independent component analysis (ICA) separately for each site (site ICA), and iii) consortium ICA, with group ICA across the whole consortium. Despite protocol harmonization, significant and quantitatively important inter-site differences remained in the tSNR of resting-state fMRI data; these were plausibly driven by hardware and pulse sequence differences across scanners which could not be harmonized. Nevertheless, the tSNR test-retest reproducibility in the consortium was high (ICC=0.81). The DMN was consistently extracted across all sites and analysis methods. While significant inter-site differences in connectivity scores were found, there were no differences in the associated test-retest error. Overall, ICA measurements were more reliable than PCC-SBA, with site ICA showing higher reproducibility than consortium ICA. Across the DMN nodes, the PCC yielded the most reliable measurements ($\approx 4\%$ test-retest error, ICC=0.85), the medial frontal cortex the least reliable ($\approx 12\%$, ICC=0.82) and the lateral parietal cortices were in between (site ICA). Altogether these findings support usage of harmonized multisite studies of resting-state functional connectivity to characterize longitudinal effects in studies that assess disease progression and treatment response.

Leroy C, Bourriez J, Dujardin K, Molaei-Ardekani B, Babiloni C, Deplanque D, Ponchel A, Hennion S, Plomhause L, Devanne H, Deguil J, Payoux P, Blin O, Mèlignè D, Micallef J, Chauveau N, Lanteaume L, Vervueren C, Guimont F, Thalamas C, Cassé-Perrot C, Rouby F, Bordet R, Derambure P. A 15-day course of donepezil modulates spectral EEG dynamics related to target auditory stimuli in young, healthy adult volunteers. *Clinical Neurophysiology* 2015 [Epub ahead of print]

The aim of the study is to identify possible electroencephalographic (EEG) markers of donepezil's effect on cortical activity in young, healthy adult volunteers at the group level. Thirty subjects were administered a daily dose of either 5mg donepezil or placebo for 15 days in a double-blind, randomized, cross-over trial. The electroencephalogram during an auditory oddball paradigm was recorded from 58 scalp electrodes. Current source density (CSD) transformations were applied to EEG epochs. The event-related potential (ERP), inter-trial coherence (ITC: the phase consistency of the EEG spectrum) and event-related spectral perturbation (ERSP: the EEG power spectrum relative to the baseline) were calculated for the target (oddball) stimuli. The donepezil and placebo conditions differed in terms of the changes in delta/theta/alpha/beta ITC and ERSP in various regions of the scalp (especially the frontal electrodes) but not in terms of

latency and amplitude of the P300-ERP component.

Our results suggest that ITC and ERSP analyses can provide EEG markers of donepezil's effects in young, healthy, adult volunteers at a group level.

Novel EEG markers could be useful to assess the therapeutic potential of drug candidates in Alzheimer's disease in healthy volunteers prior to the initiation of Phase II/III clinical studies in patients.

Lizio R, Del Percio C, Marzano N, Soricelli A, Yener GG, Başar E, Mundi C, De Rosa S, Triggiani AI, Ferri R, Arnaldi D, Nobili FM, Cordone S, Lopez S, Carducci F, Santi G, Gesualdo L, Rossini PM, Cavedo E, Mauri M, Frisoni GB, Babiloni C.

Neurophysiological Assessment of Alzheimer's Disease Individuals by a Single Electroencephalographic Marker.

J Alzheimers Dis. 2015;49(1):159-177

Here we presented a single electroencephalographic (EEG) marker for a neurophysiological assessment of Alzheimer's disease (AD) patients already diagnosed by current guidelines. The ability of the EEG marker to classify 127 AD individuals and 121 matched cognitively intact normal elderly (Nold) individuals was tested. Furthermore, its relationship to AD patients' cognitive status and structural brain integrity was examined. Low-resolution brain electromagnetic tomography (LORETA) freeware estimated cortical sources of resting state eyes-closed EEG rhythms. The EEG marker was defined as the ratio between the activity of parieto-occipital cortical sources of delta (2-4Hz) and low-frequency alpha (8-10.5Hz) rhythms. Results showed 77.2% of sensitivity in the recognition of the AD individuals; 65% of specificity in the recognition of the Nold individuals; and 0.75 of area under the receiver-operating characteristic curve. Compared to the AD subgroup with the EEG maker within one standard deviation of the Nold mean (EEG-), the AD subgroup with EEG+ showed lower global cognitive status, as revealed by Mini-Mental State Evaluation score, and more abnormal values of white-matter and cerebrospinal fluid normalized volumes, as revealed by structural magnetic resonance imaging. We posit that cognitive and functional status being equal, AD patients with EEG+ should receive special clinical attention due to a neurophysiological "frailty". EEG+ label can be also used in clinical trials (i) to form homogeneous groups of AD patients diagnosed by current guidelines and (ii) as end-point to evaluate intervention effects.

Luigetti M, Servidei S, Modoni A, Rossini PM, Sabatelli M, Lo Monaco M.

Admission neurophysiological abnormalities in Guillain-Barré syndrome: A single-center experience.

Clin Neurol Neurosurg. 2015 8;135(0):6-10.

Although patients with Guillain-Barré syndrome (GBS) are often hospitalized few days after symptoms onset, nerve conduction studies (NCS) abnormalities in early phases of the disease are not well characterized. Our aim was to report early neurophysiological abnormalities from a cohort of GBS patients.

In this single-center study, we retrospectively reviewed the NCS data of 71 consecutive GBS patients in whom neurophysiology was performed within two weeks after disease onset. We further divided our cohort in three subgroups according to the interval between disease onset and NCS (≤ 4 days; 5-7 days; 8-14 days).

A great proportion of patients (37%) with an early NCS (≤ 4 days) showed normal neurophysiological results. The most altered parameters were F waves and their proportion increases in correspondence to number of days after onset. Conduction blocks were observed preferentially in upper limbs, in about a third of cases.

This study confirms that NCS may be normal in the early phases of GBS syndrome and suggests to perform an extensive neurophysiological evaluation in these patients.

Our results may help the clinicians in the interpretation of NCS in early-onset GBS.

Marano M, Vespasiani Gentilucci U, Altamura C, Siotto M, Squitti R, Bucossi S, Quintiliani L, Migliore S, Greco F, Scarciolla L, Quattrocchi CC, Picardi A, Vernieri F.

Altered metal metabolism in patients with HCV-related cirrhosis and hepatic encephalopathy. Metab Brain Dis. 2015 Dec;30(6):1445-1452.

Dysfunctional metal homeostasis contributes to oxidative stress and neuronal damage. These have been implicated in hepatic encephalopathy pathogenesis. To investigate whether altered metal metabolism is associated with hepatic encephalopathy.

Twenty-one controls and 34 HCV-cirrhotic patients (ENC/NEC patients according to presence/absence of previous overt episodes of hepatic encephalopathy) and a control group were studied. Serum iron, copper, ceruloplasmin, ceruloplasmin activity, transferrin, and ceruloplasmin/transferrin ratio were determined.

Neuropsychological tests were performed by the repeatable battery of neuropsychological status. Magnetic resonance assessed basal ganglia volumes and metal deposition (pallidal index and T2*). Cirrhotic patients performed worse than controls at cognitive tests, especially ENC patients.

At biochemical analysis copper concentrations, ceruloplasmin activity and transferrin levels were lower in ENC than in NEC patients and controls ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively).

Ceruloplasmin/transferrin ratio was higher in ENC compared to NEC patients ($p < 0.05$), and controls ($p < 0.01$). By brain magnetic resonance, ENC patients showed reduced caudate and globus pallidus volumes compared to controls ($p < 0.05$), and ENC and NEC patients an increased pallidal index compared to controls ($p < 0.01$). In ENC patients, ceruloplasmin activity correlated with caudate volume and pallidal index ($\rho = 0.773$ and $\rho = -0.683$, $p < 0.05$). Altered metal metabolism likely contributes to cirrhotic hepatic encephalopathy.

Mariani S, Ventriglia M, Simonelli I, Bucossi S, Siotto M, Donno S, Vernieri F, Squitti R.

Association between sex, systemic iron variation and probability of Parkinson's Disease.

Int J Neurosci. 2015 May 22:1-20. [Epub ahead of print]

Iron homeostasis appears altered in Parkinson's disease (PD). Recent genetic studies and meta-analyses have produced heterogeneous and inconclusive results. In order to verify the possible role of iron status in PD, we have screened some of the main metal gene variants, evaluated their effects on iron systemic status, and checked for possible interactions with PD.

In 92 PD patients and 112 healthy controls, we screened the D544E and R793H variants of the ceruloplasmin gene (CP), the P589S variant of the transferrin gene (TF), and the H63D and C282Y variants of the HFE gene, encoding for homologous proteins, respectively. Furthermore, we analyzed serum concentrations of iron, copper and their related proteins.

The genetic investigation revealed no significant differences in allelic and genotype distributions between patients and controls. Two different multivariable forward stepwise logistic models showed that, when the effect of sex is considered, an increase of the probability of having PD is associated with low iron concentration and Tf-saturation.

This study provides new evidence of the involvement of iron metabolism in PD pathogenesis and reveals a biological effect of sex.

Marizzoni M, Antelmi L, Bosch B, Bartrés-Faz D, Müller BW Wiltfang J, Fiedler U, Roccatagliata L, Picco A, Nobili F, Blin O, Bombois S, Lopes R, Sein J, Ranjeva JP, Didic M, Gros-Dagnac H, Payoux P, Zoccatelli G, Alessandrini F, Beltramello A, Bargalló N, Ferretti A, Caulo M, Aiello M, Cavaliere C, Soricelli A, Salvadori N, Parnetti L, Tarducci R, Floridi P, Tzolaki M, Constantinidis M, Drevelegas A, Rossini PM, Marra C, Hoffmann KT, Hensch T, Schönknecht P, Kuijjer JP, Visser PJ, Barkhof F,

Bordet R, Frisoni GB, Jovicich J; PharmaCog Consortium. Longitudinal reproducibility of automatically segmented hippocampal subfields: A multisite European 3T study on healthy elderly. *Hum Brain Mapp.* 2015 Sep;36(9):3516-3527.

Recently, there has been an increased interest in the use of automatically segmented subfields of the human hippocampal formation derived from magnetic resonance imaging (MRI). However, little is known about the test-retest reproducibility of such measures, particularly in the context of multisite studies. Here, we report the reproducibility of automated Freesurfer hippocampal subfields segmentations in 65 healthy elderly enrolled in a consortium of 13 3T MRI sites (five subjects per site). Participants were scanned in two sessions (test and retest) at least one week apart. Each session included two anatomical 3D T1 MRI acquisitions harmonized in the consortium. We evaluated the test-retest reproducibility of subfields segmentation (i) to assess the effects of averaging two within-session T1 images and (ii) to compare subfields with whole hippocampus volume and spatial reliability. We found that within-session averaging of two T1 images significantly improved the reproducibility of all hippocampal subfields but not that of the whole hippocampus. Volumetric and spatial reproducibility across MRI sites were very good for the whole hippocampus, CA2-3, CA4-dentate gyrus (DG), subiculum (reproducibility error ~2% and DICE > 0.90), good for CA1 and presubiculum (reproducibility error ~ 5% and DICE ~ 0.90), and poorer for fimbria and hippocampal fissure (reproducibility error ~ 15% and DICE < 0.80). Spearman's correlations confirmed that test-retest reproducibility improved with volume size. Despite considerable differences of MRI scanner configurations, we found consistent hippocampal subfields volumes estimation. CA2-3, CA4-DG, and sub-CA1 (subiculum, presubiculum, and CA1 pooled together) gave test-retest reproducibility similar to the whole hippocampus. Our findings suggest that the larger hippocampal subfields volume may be reliable longitudinal markers in multisite studies.

Miraglia F, Vecchio F, Bramanti P, Rossini PM. EEG characteristics in "eyes open" vs "eyes closed" conditions: Small world network architecture in healthy aging and age-related brain degeneration. *Clinical Neurophysiology.* 2015 [Epub ahead of print]

Applying graph theory, we investigated how cortical sources small worldness (SW) of resting EEG in eyes-closed/open (EC/EO) differs in amnesic mild cognitive impairment (aMCI) and Alzheimer's disease (AD) subjects respect to normal elderly (Nold).

EEG were recorded in 30 Nold, 30 aMCI, 30 AD during EC and EO. Undirected and weighted cortical brain network was built to evaluate graph core measures. eLORETA lagged linear connectivity was used to weight the network.

In Nold, in EO condition the brain network is characterized by more small worldness (higher SW) in alpha bands and less small worldness (lower SW) in beta2 and gamma bands. In aMCI, SW has the same trend, except for delta and theta bands where the network shows less smallworldness. AD shows similar trend of Nold, but with less fluctuations between EO/EC conditions. Furthermore, in both conditions, aMCI SW architecture presents midway properties between AD and Nold. At low frequencies (delta e theta bands) in EC aMCI group presents network's architecture similar to Nold, while in EO aMCI small worldness is superimposable to AD ones.

In resting state condition, aMCI small world architecture presents midway topological properties between AD subjects and healthy controls, confirming the hypothesis that aMCI is an intermediate step along the disease progression.

We proposed the application of graph theory to EEG in reactivity to eye opening in order to find a marker of diagnosis that- in association with other techniques of neuroimaging could be sensitive to the progression of MCI or conversion into AD.

Miraglia F, Vecchio F, Bramanti P, Rossini PM. Small-worldness characteristics and its gender relation in specific hemispheric networks. *Neuro*

science 2015 Sep 15;310:1-11. [Epub ahead of print]

Aim of this study was to verify whether the topological organization of human brain functional networks is different for males and females in resting state EEGs. Undirected and weighted brain networks were computed by eLORETA lagged linear connectivity in 130 subjects (59 males and 71 females) within each hemisphere and in four resting state networks (Attentional Network (AN), Frontal Network (FN), Sensorimotor Network (SN), Default Mode Network (DMN)). We found that small-world (SW) architecture in the left hemisphere Frontal network presented differences in both delta and alpha band, in particular lower values in delta and higher in alpha 2 in males respect to females while in the right hemisphere differences were found in lower values of SW in males respect to females in gamma Attentional, delta Sensorimotor and delta and gamma DMNs. Gender small-worldness differences in some of resting state networks indicated that there are specific brain differences in the EEG rhythms when the brain is in the resting-state condition. These specific regions could be considered related to the functions of behavior and cognition and should be taken into account both for research on healthy and brain diseased subjects.

Peng W, Babiloni C, Mao Y, Hu Y. Subjective pain perception mediated by alpha rhythms. *Biol Psychol.* 2015 May 28;109:141-150.

Suppression of spontaneous alpha oscillatory activities, interpreted as cortical excitability, was observed in response to both transient and tonic painful stimuli. The changes of alpha rhythms induced by pain could be modulated by painful sensory inputs, experimental tasks, and top-down cognitive regulations such as attention. The temporal and spatial characteristics, as well as neural functions of pain induced alpha responses, depend much on how these factors contribute to the observed alpha event-related desynchronization/synchronization (ERD/ERS). How sensory-, task-, and cognitive-related changes of alpha oscillatory activities interact in pain perception process is reviewed in the current study, and the following conclusions are made: (1) the functional inhibition hypothesis that has been proposed in auditory and visual modalities could be applied also in pain modality; (2) the neural functions of pain induced alpha ERD/ERS were highly dependent on the cortical regions where it is observed, e.g., somatosensory cortex alpha ERD/ERS in pain in pain perception for painful stimulus processing; (3) the attention modulation of pain perception, i.e., influences on the sensory and affective dimensions of pain experience, could be mediated by changes of alpha rhythms. Finally, we propose a model regarding the determinants of pain related alpha oscillatory activity, i.e., sensory-discriminative, affective-motivational, and cognitive-modulative aspects of pain experience, would affect and determine pain related alpha oscillatory activities in an integrated way within the distributed alpha system.

Peng W, Hu Y, Mao Y, Babiloni C. Widespread cortical α -ERD accompanying visual oddball target stimuli is frequency but non-modality specific. *Behav Brain Res.* 2015 Dec 15;295:71-77.

Previous studies have shown that alpha event-related desynchronization (α -ERD) is associated with reaction to visual stimuli in oddball paradigm, as a reflection of attention allocation and memory updating. The present study tested the hypothesis that it reflects a modality and/or frequency specific mechanism. Electroencephalography (EEG) recordings (64 channels) were performed on 18 healthy subjects during visual, auditory, somatosensory, and pain oddball paradigms. Low- and high-frequency α -rhythm were analyzed on individual basis, and their sources were estimated by low resolution brain electromagnetic tomography (LORETA). α -ERD, served as an index of cortical activation, was computed on the cortical voxel level and compared across the

conditions (target vs. non-target), α sub-bands (lower vs. higher frequency), and modalities (visual, auditory, somatosensory, and pain). The results showed that visual α -ERD was mainly generated from occipital cortex for both target and non-target conditions. Its magnitude was enhanced across widespread cortical regions (e.g., bilateral occipital, parietal, and frontal areas) in the target condition and was greater in high-frequency α -band. Finally, α -ERD difference between target and non-target conditions was not higher in visual than that in other control modalities. All these findings indicated that human high-frequency α -ERD reflects cognitive attention processes underlying reaction to oddball target stimuli regardless of stimulus modality.

Polimanti R, Simonelli I, Zappasodi F, Ventriglia M, Pellicciari MC, Benussi L, Squitti R, Rossini PM, Tecchio F.

Biological factors and age-dependence of primary motor cortex experimental plasticity. *Neurol Sci.* 2016 Feb;37(2):211-218.

To evaluate whether the age-dependence of brain plasticity correlates with the levels of proteins involved in hormone and brain functions we executed a paired associative stimulation (PAS) protocol and blood tests. We measured the PAS-induced plasticity in the primary motor cortex. Blood levels of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF), estradiol, the insulin-like growth factor (IGF)-1, the insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-3, progesterone, sex hormone-binding globulin (SHBG), testosterone, and the transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) were determined in 15 healthy men and 20 healthy women. We observed an age-related reduction of PAS-induced plasticity in females that it is not present in males. In females, PAS-induced plasticity displayed a correlation with testosterone ($p = 0.006$) that became a trend after the adjustment for the age effect ($p = 0.078$). In males, IGF-1 showed a nominally significant correlation with the PAS-induced plasticity ($p = 0.043$). In conclusion, we observed that hormone blood levels (testosterone in females and IGF-1 in males) may be involved in the age-dependence of brain plasticity.

Sabatelli M, Zollino M, Conte A, Del Grande A, Marangi G, Lucchini M, Mirabella M, Romano A, Piacentini R, Bisogni G, Lattante S, Luigetti M, Rossini PM, Moncada A.

Primary fibroblast cultures reveal TDP-43 abnormalities in amyotrophic lateral sclerosis patients with and without SOD1 mutations. *Neurobiol Aging.* 2015 May;36(5):2005. Epub 2015 Feb 17.

Testani E, Le Pera D, Del Percio C, Miliucci R, Brancucci A, Pazzaglia C, De Armas L, Babiloni C, Rossini PM, Valeriani M.

Cortical inhibition of laser pain and laser-evoked potentials by non-nociceptive somatosensory input. *Eur J Neurosci.* 2015 Oct;42(7):2407-2414.

Although the inhibitory action that tactile stimuli can have on pain is well documented, the precise timing of the interaction between the painful and non-painful stimuli in the central nervous system is unclear. The aim of this study was to investigate this issue by measuring the timing of the amplitude modulation of laser evoked potentials (LEPs) due to conditioning non-painful stimuli. LEPs were recorded from 31 scalp electrodes in 10 healthy subjects after painful stimulation of the right arm (C6-C7 dermatomes). Non-painful electrical stimuli were applied by ring electrodes on the second and third finger of the right hand. Electrical stimuli were delivered at +50, +150, +200 and +250 ms interstimulus intervals (ISIs) after the laser pulses. LEPs obtained without any conditioning stimulation were used as a baseline. As compared to the baseline, non-painful electrical stimulation reduced the amplitude of the vertex N2/P2 LEP component and the laser pain rating when electrical stimuli followed the laser pulses only at +150 and +200 ms ISIs. As at these ISIs the collision between the non-painful and painful input is likely to take place at the cortical level, we can conclude that the late processing of painful (thermal) stimuli is partially inhibited by the

processing of non-painful (cutaneous) stimuli within the cerebral cortex. Moreover, our results do not provide evidence that non-painful inputs can inhibit pain at a lower level, including the spinal cord.

Triggiani AI, Valenzano A, Ciliberti MA, Moscatelli F, Villani S, Monda M, Messina G, Federici A, Babiloni C, Cibelli G.

Heart rate variability is reduced in underweight and overweight healthy adult women. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2015 Jul 25. [Epub ahead of print]

Heart rate variability (HRV) is altered in obese subjects, but whether this is true also in underweight (UW) subjects is still under debate. We investigated the HRV profile in a sample of healthy adult women and its association with adiposity. Five-minute resting state electrocardiographic activity was recorded in 69 subjects grouped according to their body mass index, [23 normal weight (NW), 23 overweight/obese (OW) and 23 UW]. Body fat mass (FM) was measured by bio-impedance. Frequency- and time-domain analyses were performed. Compared to NW, UW and OW subjects showed a significant decrease in HRV indices, as revealed by spectral analysis. No differences were observed between UW and OW subjects. A second-order polynomial regression unveiled an inverted U-shaped relationship between FM extent and HRV indices. A decrease of HRV indices was associated with changes in FM extent, proving that in UW and OW subjects, the adaptive flexibility of autonomic cardiac function was reduced. These findings provide important clues to guide future studies addressed to determine how changes in adiposity and autonomic cardiac function may contribute to health risk.

Triggiani AI, Valenzano A, Del Percio C, Marzano N, Soricelli A, Petito A, Bellomo A, Basar E, Mundi C, Cibelli G, Babiloni C.

Resting state Rolandic mu rhythms are related to activity of sympathetic component of autonomic nervous system in healthy humans. *Int J Psychophysiol.* 2015 Feb 7. [Epub ahead of print]

We tested the hypothesis of a relationship between heart rate variability (HRV) and Rolandic mu rhythms in relaxed condition of resting state. Resting state eyes-closed electroencephalographic (EEG) and electrocardiographic (ECG) data were recorded (10-20 System) in 42 healthy adults. EEG rhythms of interest were high-frequency alpha (10.5-13Hz) and low-frequency beta (13-20Hz), which are supposed to form Rolandic mu rhythms. Rolandic and occipital (control) EEG sources were estimated by LORETA software. Results showed a statistically significant ($p < 0.05$, corrected) negative correlation across all subjects between Rolandic cortical sources of low-frequency beta rhythms and the low-frequency band power (LF, 0.04-0.15Hz) of tachogram spectrum as an index of HRV. The lower the amplitude of Rolandic sources of low-frequency beta rhythms (as a putative sign of activity of somatomotor cortex), the higher the LF band power of tachogram spectrum (as a putative sign of sympathetic activity). This effect was specific as there was neither a similar correlation between these EEG rhythms and high-frequency band power of tachogram spectrum (as a putative sign of parasympathetic vagal activity) neither between occipital sources of low-frequency beta rhythms (as a putative sign of activity of visual cortex) and LF band power of tachogram spectrum. These results suggest that Rolandic low-frequency beta rhythms are related to sympathetic activity regulating heart rate, as a dynamic neurophysiologic oscillatory mechanism sub-serving the interaction between brain neural populations involved in somatomotor control and brain neural populations regulating ANS signals to heart for on-going homeostatic adaptations.

Vecchio F, Miraglia F, Curcio G, Altavilla R, Scrascia F, Giambattistelli F, Quattrocchi CC, Bramanti P, Vernieri F, Rossini PM.

Cortical Brain Connectivity Evaluated by Graph Theory in Dementia: A Correlation Study Betwe-

en Functional and Structural Data.
J Alzheimers Dis. 2015;45(3):745-756.

A relatively new approach to brain function in neuroscience is the "functional connectivity", namely the synchrony in time of activity in anatomically-distinct but functionally-collaborating brain regions. On the other hand, diffusion tensor imaging (DTI) is a recently developed magnetic resonance imaging (MRI)-based technique with the capability to detect brain structural connection with fractional anisotropy (FA) identification. FA decrease has been observed in the corpus callosum of subjects with Alzheimer's disease (AD) and mild cognitive impairment (MCI, an AD prodromal stage). Corpus callosum splenium DTI abnormalities are thought to be associated with functional disconnections among cortical areas. This study aimed to investigate possible correlations between structural damage, measured by MRI-DTI, and functional abnormalities of brain integration, measured by characteristic path length detected in resting state EEG source activity (40 participants: 9 healthy controls, 10 MCI, 10 mild AD, 11 moderate AD). For each subject, undirected and weighted brain network was built to evaluate graph core measures. eLORETA lagged linear connectivity values were used as weight of the edges of the network. Results showed that callosal FA reduction is associated to a loss of brain interhemispheric functional connectivity characterized by increased delta and decreased alpha path length. These findings suggest that "global" (average network shortest path length representing an index of how efficient is the information transfer between two parts of the network) functional measure can reflect the reduction of fiber connecting the two hemispheres as revealed by DTI analysis and also anticipate in time this structural loss.

Vecchio F, Miraglia F, Curcio G, Della Marca G, Vollono C, Mazzucchi E, Bramanti P, Rossini PM. Cortical connectivity in fronto-temporal focal epilepsy from EEG analysis: A study via graph theory. Clin Neurophysiol. 2015 Jun;126(6):1108-1116.

It is believed that effective connectivity and optimal network structure are essential for proper information processing in the brain. Indeed, functional abnormalities of the brain are found to be associated with pathological changes in connectivity and network structures. The aim of the present study was to explore the interictal network properties of EEG signals from temporal lobe structures in the context of fronto-temporal lobe epilepsy. To complete this aim, the graph characteristics of the EEG data of 17 patients suffering from focal epilepsy of the fronto-temporal type, recorded during interictal periods, were examined and compared in terms of the affected versus the unaffected hemispheres. EEG connectivity analysis was performed using eLORETA software in 15 fronto-temporal regions (Brodmann Areas BAs 8, 9, 10, 11, 20, 21, 22, 37, 38, 41, 42, 44, 45, 46, 47) on both affected and unaffected hemispheres. The evaluation of the graph analysis parameters, such as 'global' (characteristic path length) and 'local' connectivity (clustering coefficient) showed a statistically significant interaction among side (affected and unaffected hemisphere) and Band (delta, theta, alpha, beta, gamma). Duncan post hoc testing showed an increase of the path length in the alpha band in the affected hemisphere with respect to the unaffected one, as evaluated by an inter-hemispheric marker. The affected hemisphere also showed higher values of local connectivity in the alpha band. In general, an increase of local and global graph theory parameters in the alpha band was found in the affected hemisphere. It was also demonstrated that these effects were more evident in drug-free patients than in those undergoing pharmacological therapy.

The increased measures in the affected hemisphere of both functional local segregation and global integration could result from the combination of overlapping mechanisms, including reactive neuroplastic changes seeking to maintain constant integration and segregation properties.

This reactive neuroplastic mechanism seeking to maintain constant integration and segregation properties seems to be more evident in the absence of antiepileptic treatment.

Vecchio F, Miraglia F, Quaranta D, Granata G, Romanello R, Marra C, Bramanti P, Rossini PM. Cortical connectivity and memory performance in cognitive decline: a study via graph theory from EEG data. Neuroscience. 2015 Dec 24. [Epub ahead of print]

Functional brain abnormalities including memory loss are found to be associated with pathological changes in connectivity and network neural structures. Alzheimer's disease (AD) interferes with memory formation from the molecular level, to synaptic functions and neural networks organization. Here, we determined whether brain connectivity of resting-state networks correlate with memory in patients affected by AD and in subjects with mild cognitive impairment (MCI). One hundred and forty-four subjects were recruited: 70 AD (MMSE Mini Mental State Evaluation 21.4), 50 MCI (MMSE 25.2) and 24 healthy subjects (MMSE 29.8). Undirected and weighted cortical brain network was built to evaluate graph core measures to obtain Small World parameters. eLORETA lagged linear connectivity as extracted by electroencephalogram (EEG) signals was used to weight the network. A high statistical correlation between Small World and memory performance was found. Namely, higher Small World characteristic in EEG gamma frequency band during the resting state, better performance in short-term memory as evaluated by the digit span tests. Such Small World pattern might represent a biomarker of working memory impairment in older people both in physiological and pathological conditions.

Vecchio F, Miraglia F, Valeriani L, Scarpellini MG, Bramanti P, Mecarelli O, Rossini PM. Cortical Brain Connectivity and B-Type Natriuretic Peptide in Patients With Congestive Heart Failure. Clin EEG Neurosci. 2015 Jul;46(3):224-229.

The brain has a high level of complexity and needs continuous oxygen supply. So it is clear that any pathological condition, or physiological (aging) change, in the cardiovascular system affects functioning of the central nervous system. We evaluated linear aspects of the relationship between the slowness of cortical rhythms, as revealed by the modulation of a graph connectivity parameter, and congestive heart failure (CHF), as a reflection of neurodegenerative processes. Eyes-closed resting electroencephalographic (EEG) data of 10 patients with CHF were recorded by 19 electrodes positioned according the international 10-20 system. Graph theory function (normalized characteristic path length λ) was applied to the undirected and weighted networks obtained by lagged linear coherence evaluated by eLORETA software, therefore getting rid of volumetric propagation influences. The EEG frequency bands of interest were: delta (2-4 Hz), theta (4-8 Hz), alpha 1 (8-10.5 Hz), alpha 2 (10.5-13 Hz), beta 1 (13-20 Hz), beta 2 (20-30 Hz), and gamma (30-40 Hz). The analysis between B-type natriuretic peptide (BNP) values and λ showed positive correlation in delta, associated with a negative correlation in alpha 2 band. Namely, the higher the severity of the disease (as revealed by the BNP values), the higher the λ in delta, and lower in alpha 2 band. Results suggest that delta and alpha λ indices are good markers of the severity of CHF.

Ventriglia M, Brewer GJ, Simonelli I, Mariani S, Siotto M, Bucossi S, Squitti R. Zinc in Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis of Serum, Plasma, and Cerebrospinal Fluid Studies. J Alzheimers Dis. 2015;46(1):75-87.

To evaluate whether zinc levels in serum, plasma, and cerebrospinal fluid are altered in Alzheimer's disease (AD), we performed meta-analyses of 27 studies on the topic published from 1983 to 2014. The subjects' sample obtained by merging studies was a pooled total of 777 AD subjects and 1,728 controls for serum zinc studies, 287 AD subjects and 166 controls for plasma zinc, and of 292 AD subjects and 179 controls for CSF zinc. The main result of this meta-analysis is the very high heterogeneity among the studies either in demographic terms or in methodological

approaches. Although we considered these effects in our analyses, the heterogeneity persisted and it has to be taken into account in the interpretation of the results. Our meta-analysis indicated that serum zinc appears significantly decreased in AD patients compared with healthy controls, and this result is confirmed when serum and plasma studies were analyzed together. If we considered the age-matched studies, the meta-analysis carried out on only six studies showed no significant difference in zinc levels between AD and healthy controls (SMD=-0.55, 95% CI (-1.18; 0.09); $p=0.094$; $I^2=91\%$). In the light of these findings, we speculated about the possibility that the decreases observed could indicate a possible dietary zinc deficiency and we suggested that the possible involvement of zinc alterations in AD may have an interplay with copper metabolism.

Yener GG, Emek-Savaş DD, Lizio R, Çavuşoğlu B, Carducci F, Ada E, Güntekin B, Babiloni C, Başar E.

Frontal delta event-related oscillations relate to frontal volume in mild cognitive impairment and healthy controls.

Int J Psychophysiol. 2015 Feb 7. [Epub ahead of print]

Amnesic mild cognitive impairment (MCI) represents a risk of developing Alzheimer's disease (AD), but not all MCI subjects progress to dementia of AD type. Magnetic resonance imaging (MRI) of cortical and hippocampal atrophy supports early diagnosis of AD in MCI subjects, while frontal event-related oscillations (EROs) at delta frequencies (<4Hz) are appealing markers for this purpose, as they are both cost-effective and largely available. The present study tested the hypothesis that these EROs reflect cortical frontal neurodegeneration in the continuum between normal and amnesic MCI subjects. EROs and volumetric MRI data were recorded in 28 amnesic MCI and in 28 healthy elderly controls (HCs). EROs were collected during a standard visual oddball paradigm including frequent (66.6%) and rare (33.3%; targets to be mentally counted) stimuli. Peak-to-peak amplitude of delta target EROs (<4Hz) was measured. Volume of frontal cortex was estimated from MRIs. Frontal volume was lower in MCI compared to the HC group. Furthermore, widespread delta target EROs were lower in amplitude in the former than in the latter group. Finally, there was a positive correlation between frontal volume and frontal delta target EROs in MCI and HC subjects as a whole group. These results suggest that frontal delta EROs reflect frontal neurodegeneration in the continuum between normal and amnesic MCI subjects.

Zampetti A, Silvestri G, Manco S, Khamis K, Masciullo M, Bianchi ML, Damiani A, Santoro M, Linder D, Bewley A, Feliciani C.

Dysplastic nevi, cutaneous melanoma, and other skin neoplasms in patients with myotonic dystrophy type 1: A cross-sectional study.

J Am Acad Dermatol. 2015 Nov 5; 72(1): 85-91.

Myotonic dystrophy type 1 (MD1) is reported to be associated with internal malignancies. The association of myotonic dystrophy with cutaneous tumors is not fully understood.

We sought to explore the total nevi count and the presence of atypical nevi, cutaneous melanoma, and other skin neoplasms in a representative cohort of patients with MD1 and to compare the findings with age- and sex-matched control subjects.

In all, 90 patients with MD1 and 103 age- and sex-matched control subjects were assessed for cutaneous neoplasms by clinical skin and epiluminescence examination (dermoscopy). Where indicated, subsequent excisions were performed. In patients with MD1, leukocyte n(CTG) expansion was measured.

Patients with MD1 showed significantly higher numbers of nevi, dysplastic nevi, and melanomas despite a significantly greater proportion of the control subjects reporting sunburns. In addition, we found a significantly greater number of pilomatrixoma in patients with MD1.

Our study is limited by the fact that there is no agreed-upon standardized technique to assess for prior sun exposure. Further research in the association of cutaneous neoplasms and MD1 inclu-

ding vitamin D and molecular biological techniques are also recommended. MD1 itself may predispose to development of skin tumors.

Zappasodi F, Marzetti L, Olejarczyk E, Tecchio F, Pizzella V.

Age-Related Changes in Electroencephalographic Signal Complexity.

PLoS One. 2015 Nov 4;10(11):e0141995.

The study of active and healthy aging is a primary focus for social and neuroscientific communities. Here, we move a step forward in assessing electrophysiological neuronal activity changes in the brain with healthy aging. To this end, electroencephalographic (EEG) resting state activity was acquired in 40 healthy subjects (age 16-85). We evaluated Fractal Dimension (FD) according to the Higuchi algorithm, a measure which quantifies the presence of statistical similarity at different scales in temporal fluctuations of EEG signals. Our results showed that FD increases from age twenty to age fifty and then decreases. The curve that best fits the changes in FD values across age over the whole sample is a parabola, with the vertex located around age fifty.

Moreover, FD changes are site specific, with interhemispheric FD asymmetry being pronounced in elderly individuals in the frontal and central regions. The present results indicate that fractal dimension well describes the modulations of brain activity with age. Since fractal dimension has been proposed to be related to the complexity of the signal dynamics, our data demonstrate that the complexity of neuronal electric activity changes across the life span of an individual, with a steady increase during young adulthood and a decrease in the elderly population.

Romano A, Cornia R, Moraschi M, Bozzao A, Chiacchiararelli L, Coppola V, Iani C, Stella G, Albertini G, Pierallini A.

Age-Related Cortical Thickness Reduction in Non-Demented Down's Syndrome Subjects.

J Neuroimaging. 2015 May 21. [Epub ahead of print]

The aim of this study was to investigate the characteristic pattern of age-related cortical thinning in patients with Down Syndrome (DS), as assessed by MRI and automatic cortical thickness measurements.

Ninety-one non-demented subjects with DS (range 11-53 years) were examined using a 1.5 T scanner. MRI-based quantification of cortical thickness was performed using FreeSurfer software package. The Pearson product-moment correlation coefficient between age and mean cortical thickness was evaluated for all subjects participating in the study.

A significant negative correlation between cortical thickness and age was found bilaterally in the frontal, temporal, parietal and cingulate gyrus. Specific investigation of cerebral lobes showed a more evident involvement of the frontal one, compared to others. Moreover, the age related reduction of cortical thickness appeared to be more significant and rapid in patients between 20 and 30 years of age.

Our findings showed that Down Syndrome subjects are affected by a diffuse cortical thinning. The involvement of cortical structures can be observed at an earlier age than previous studies have reported.

Romano A, Moraschi M, Cornia R, Bozzao A, Gagliardo O, Chiacchiararelli L, Iani C, Stella G, Albertini G, Pierallini A.

Age effects on cortical thickness in young Down's syndrome subjects: a cross-sectional gender study.

Neuroradiology. 2015 Apr;57(4):401-411.

The aim of this study was to determine differences in the characteristic pattern of age-related cortical thinning in men and women with Down's syndrome (DS) by means of MRI and automatic cortical thickness measurements and a cross-sectional design, in a large cohort of young subjects.

Eighty-four subjects with DS, 30 females (11-35 years, mean age \pm SD = 22.8 \pm 5.9) and 54 males (11-35 years, mean age \pm SD = 21.5 \pm 6.5), were examined using a 1.5-T scanner. MRI-based quantification of cortical thickness was performed using FreeSurfer software package. For all subjects participating in the study, the Pearson product-moment correlation coefficient between age and mean cortical thickness values has been evaluated.

A significant negative correlation between cortical thickness and age was found in female DS subjects, predominantly in frontal and parietal lobes, bilaterally. In male DS subjects, a significant negative correlation between cortical thickness and age was found in the right fronto-temporal lobes and cingulate regions. Whole brain mean cortical thickness values were significantly negative correlated with age only in female DS subjects.

Females with Down's syndrome showed a strong correlation between cortical thickness and age, already in early age. We suggest that the cognitive impairment due to hormonal deficit in the postmenopausal period could be emphasized by the early structural decline of gray matter in female DS subjects.

LINEA 2

**STUDIO DEI MECCANISMI DI RECUPERO
FUNZIONALE NELLE PATOLOGIE CRONICHE,
DISABILITANTI DELL'APPARATO
CARDIOVASCOLARE E RESPIRATORIO**

Ivabradina aggiunta ai beta-bloccanti nel controllo della frequenza cardiaca in pazienti con fibrillazione atriale

I pazienti con fibrillazione atriale persistente/permanente sono spesso sintomatici per dispnea ed hanno una ridotta tolleranza all'esercizio. I farmaci tradizionalmente usati per controllare la frequenza sono betabloccanti, calcio antagonisti e digossina. Tuttavia, nel 30% circa dei pazienti non si riesce a raggiungere un buon controllo della frequenza.

L'ivabradina, riduce la frequenza cardiaca agendo sui canali IF del nodo seno atriale; ed è un farmaco indicato nella cardiopatia ischemica e nello scompenso cardiaco. Recenti studi sperimentali hanno dimostrato che i canali IF sono presenti anche nelle cellule dell'atrio e del nodo atrio-ventricolare. Sulla base di questo dato, sono stati pubblicati, nell'ultimo anno i primi case reports sull'uso dell'ivabradina in pazienti con fibrillazione atriale. Si ipotizza che l'aggiunta di ivabradina in pazienti con fibrillazione atriale persistente/permanente, già in trattamento con beta-bloccanti, ma che non hanno raggiunto il controllo della frequenza, migliori il controllo della frequenza e la tolleranza allo sforzo.

Lo studio, ha arruolato 6 pazienti con fibrillazione atriale persistente/permanente.

Sono stati inclusi nello studio pazienti già in trattamento beta-bloccanti alla massima dose tollerata; e con frequenza cardiaca ad un ECG a riposo > 110 bpm. Prima di iniziare il trattamento con ivabradina i pazienti hanno eseguito ECG-Holter 24/h e test del cammino di 6 minuti. Il trattamento è stato protratto per 3 mesi. ECG-Holter 24/h e test del cammino di 6 minuti, che sono stati ripetuti ogni mese. La dose iniziale di ivabradina era di 2.5 mg/2 volte al di. Dopo il I mese si è deciso se mantenere la dose iniziale o aumentare a 5 mg/2 volte al di. Similmente al II mese si è deciso se aumentare a 10 mg/2 volte al di.

L'ivabradina ha ridotto la frequenza in modo significativo in 4 pazienti su 6. I pazienti che hanno risposto all'ivabradina hanno inoltre presentato un miglioramento della tolleranza all'esercizio.

Effetti del training fisico sull'assetto ormonale di pazienti con scompenso cardiaco

Lo scompenso cardiaco cronico (SCC) è una patologia ad elevata prevalenza, che colpisce il 2% della popolazione generale nel mondo occidentale ed è caratterizzata da un profilo prognostico negativo malgrado i progressi ottenuti in campo terapeutico. Lo SCC, nel corso della sua evoluzione, coinvolge vari meccanismi fisiopatologici. In particolare, in una porzione rilevante di soggetti con SCC, si osservano profonde alterazioni degli assi ormonali fra cui deficit di testosterone, deficit dell'asse GH/IGF1 resistenza al GH, ed insulino-resistenza. Tali alterazioni sono associate ad un più sfavorevole profilo emodinamico e peggiore prognosi con evoluzione verso la cachessia cardiaca.

L'esercizio fisico è efficace nel migliorare i sintomi e la qualità di vita dei pazienti con SCC. Inoltre, in individui sani l'esercizio è in grado di aumentare il livelli di testosterone ed IGF-1. Poiché una copiosa recente letteratura dimostra che il trattamento con GH o testosterone migliora vari parametri clinici ed emodinamici nello SCC, e poiché tali effetti sono simili a quelli che si rilevano negli stessi pazienti dopo training fisico, è ipotizzabile che gli effetti clinici prodotti dal training fisico nello SCC siano, almeno in parte, secondari all'incremento dei livelli di tali ormoni.

L'ipotesi dello studio è che i benefici ottenuti dal training fisico nello SCC siano, in parte, mediati dal miglioramento del quadro ormonale indotto dall'esercizio. Se l'ipotesi si rivelerà valida, ci si

aspetta di osservare una significativa correlazione fra miglioramento dei parametri funzionali ed incremento dei livelli di GH/IGF1 e testosterone in soggetti con SCC sottoposti a training fisico. Lo studio prevede l'arruolamento di 30 pazienti con SCC, (diagnosi da almeno 6 mesi), sedentari, in condizioni cliniche e terapia farmacologica stabili. I pazienti vengono suddivisi in modo random in due gruppi: 1) gruppo training: è composto da 20 pazienti che effettuano training fisico per un periodo di 3 mesi; 2) gruppo di controllo: include 10 pazienti che vengono sottoposti alle stesse indagini diagnostiche del gruppo 1 ma non effettuano training fisico.

I pazienti di entrambi i gruppi vengono sottoposti a prelievi ematici al momento dell'arruolamento ed alla fine dello studio. Tale prelievo comprende l'assetto ormonale: GH, IGF.1, testosterone totale e libero, glicemia e insulinemia.

All'arruolamento e alla fine dello studio vengono, inoltre, eseguiti Ecocardiogramma c/d, test del cammino di 6 minuti, test cardiopolmonare.

Protocollo di esercizio: i pazienti del gruppo 1 effettuano 3 sedute/settimana di esercizio fisico allenandosi al 50-70% della FCT. Ogni seduta ha la durata di 1 ora.

Arruolamento: Tutti i pazienti sono stati sottoposti a visita cardiologica preliminare.

Prelievo ematico: dosaggio GH, IGF-1, testosterone totale e libero. E' stato fra le ore 8 e le 9:00 del mattino, con paziente digiuno dalla sera precedente. Hanno effettuato elettrocardiogramma con 12 derivazioni ed ecocardiogramma c/d.

La capacità funzionale massimale e sub massimale è stata indagata mediante rispettivamente test cardiopolmonare e test del cammino di 6 minuti. Il livello di fatica percepita dal paziente è stato registrato mediante scala di Borg.

Sessione di training: i 20 soggetti del gruppo training sono stati sottoposti a regolari sessioni di esercizio fisico in palestra cardiologica per un totale di 12 settimane consistenti in attività aerobica svolta al 50-70 % della FC di tipo continuo. L'esercizio si è svolto su cyclette. Prima di ogni sessione ai pazienti è stata rilevata la pressione arteriosa e la frequenza cardiaca. Durante ogni sessione la frequenza cardiaca è stata monitorizzata con sistema telemetrico.

La valutazione finale ha previsto una visita comprendente: rilevamento frequenza cardiaca a riposo, elettrocardiogramma, test cardiopolmonare e test del cammino di 6 minuti.

Lo studio ha dimostrato che un interval training piuttosto che un training continuo è in grado di modulare i livelli di ormoni anabolizzanti in pazienti con SCC.

Effetti dell'allenamento sulla pedana vibrante sulla performance muscolare e la capacità funzionale in pazienti affetti da insufficienza cardiaca

Il progetto si propone di valutare l'effetto dell'allenamento fisico utilizzando una pedana vibrante (WBV- Whole Body Vibration) associato o meno ad un simultaneo programma di training fisico aerobico standard sulla capacità muscolare e di esercizio in pazienti con CHF in condizioni di stabilità clinica.

Alcuni studi su persone anziane hanno dimostrato che il WBV training migliora la forza muscolare e la performance cardio-respiratoria. Pertanto, il WBV training potrebbe essere uno stimolo allenante addizionale utile nei pazienti con CHF. Un vantaggio potenziale del WBV training è che ogni sessione di applicazione è breve e non richiede la partecipazione attiva dell'individuo, tranne l'essere in grado di mantenere la postura accovacciata per 60 secondi. Di conseguenza, se questa metodologia di allenamento si rivelasse efficace, potrebbe essere proposta come un training alternativo all'esercizio fisico, in particolare nei pazienti anziani che non sono in grado di praticare un esercizio fisico classico.

E' stata effettuata un'analisi preliminare per valutare la tollerabilità ed il profilo di sicurezza sull'apparato cardiovascolare del protocollo di WBV selezionato, dal momento che la WBV non è mai stata impiegata in pazienti cardiopatici.

L'analisi preliminare eseguita in 10 pazienti (età 75±5 anni) affetti da insufficienza cardiaca (FE<

40%) in fase di stabilità clinica ha dimostrato la sicurezza dell'allenamento con la pedana vibrante dal momento che non si sono verificate complicanze e la FC, registrata mediante telemetria durante l'allenamento e la pressione arteriosa, misurata prima e dopo l'allenamento, non hanno mostrato significative variazioni. Il carico cardiovascolare imposto dal WBV è modesto e molto inferiore a quello determinato dall'esercizio sul tapis roulant o sulla cyclette.

Sono stati arruolati 10 pazienti. I pazienti arruolati sono stati randomizzati ad un programma di allenamento standardizzato, strutturato di esercizio aerobico (gruppo di controllo) o ad un programma di allenamento strutturato di esercizio aerobico in combinazione con il programma whole body vibration (WBV) per 3 giorni a settimana per 8 settimane.

All'inizio e alla fine dello studio i pazienti sono stati sottoposti alla valutazione della capacità funzionale.

All'inizio e alla fine dello studio la capacità funzionale è stata valutata con il test del cammino di 6 minuti (6MWT) secondo le procedure standard.

L'allenamento aerobico consisteva in un allenamento continuo o intervallare (alla cyclette o al tapis roulant), secondo le raccomandazioni delle linee guida attuali, come di consueto viene fatto presso la Cardiologia Riabilitativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana.

Allenamento WBV. I pazienti hanno eseguito un protocollo di WBV verticale sinusoidale (Nemes Ls device Boscosystem®, Rieti, Italy) che consiste in una piattaforma vibrante sulla quale i pazienti assumono la posizione "half squat". Le sessioni di allenamento WBV comprendevano 10 ripetizioni di WBV della durata di 30 secondi ciascuna, separati da un recupero in posizione eretta della durata di 60 secondi (sempre sulla piattaforma) nelle prime 4 settimane. L'Optimal Vibration Frequency (OVF), cioè la frequenza con la maggiore risposta neuromuscolare, è stata stimata a 35Hz di vibrazione stimolante (spostamento 1,2-cm; entità= 5 g) in accordo con i risultati preliminari. Dalla settimana 4 alla settimana 8, il numero di ripetizioni è stato aumentato a 20, a meno che i pazienti non presentassero fatica muscolare. Nel gruppo sperimentale, l'allenamento WBV è stato effettuato all'inizio di ciascuna sessione, prima di cominciare l'allenamento aerobico, per evitare i possibili effetti di precedenti esercizi sulla prestazione e sulla fatica muscolare.

Interval training versus allenamento continuo in riabilitazione cardiaca con l'ausilio di modelli matematici

Il progetto rappresenta uno studio clinico sulla efficacia dell'allenamento basato su modelli matematici in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica in fase di stabilità clinica. Attualmente nessuno studio è stato realizzato per comprendere meglio gli adattamenti prodotti dall'allenamento continuo rispetto all'allenamento interval training mediante una modellizzazione matematica. Inoltre, nessun modello matematico sinora applicato in soggetti con coronaropatia ha ottenuto una validazione esterna con i marker biochimici o gli adattamenti neurovegetativi.

La ricerca si propone di valutare l'efficacia a lungo termine di un programma di allenamento aerobico basato sul metodo continuo rispetto ad un programma di allenamento basato sul metodo interval training, con una modellizzazione che tiene conto degli adattamenti indotti dal carico di allenamento attraverso una relazione matematica tra carico di allenamento (input) e prestazione (output), quest'ultima rappresentata dai parametri di capacità funzionale (e.g., VO₂, soglia ventilatoria, test del cammino), dagli adattamenti neurovegetativi (e.g., sensibilità baro riflessa e variabilità della frequenza cardiaca) e dalle modificazioni biochimiche (e.g., testosterone, cortisolo, etc) in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica in fase di stabilità clinica.

I pazienti sono stati randomizzati (su base 1:1) ad un allenamento aerobico continuo (ACT) di 12 settimane, oppure ad un allenamento aerobico intervallare (AIT), entrambi programmati in base al metodo TRIMPi (individualized training impulses). La sensibilità baroriflessa (BRS) e la variabilità della frequenza cardiaca (Heart Rate Variability) sono state studiate in ciascun paziente all'inizio dello studio ed ogni 3 settimane, in 4 successive occasioni, in accordo con la periodizzazione dell'allenamento. Tutte le valutazioni sono state effettuate al mattino. I pazienti hanno anche eseguito il test del cammino dei 6 minuti (6MWT), come misura della capacità funzionale, secondo

le procedure standard.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad un test da sforzo incrementale sino a fatica muscolare, con monitoraggio on-line degli scambi gassosi. Ai fini di determinare il profilo individuale di concentrazione di lattato nel sangue periferico, della massima frequenza cardiaca e della capacità funzionale (VO₂ max) è stato utilizzato il protocollo di Bruce modificato. Per valutare la concentrazione ematica di lattato, sono stati prelevati campioni di sangue capillare dal lobo dell'orecchio ogni 3 minuti, che venivano immediatamente analizzati utilizzando una tecnica elettro-enzimatica.

Programmi di allenamento: ACT e AIT sono stati progettati per ottenere un carico di allenamento totale analogo nello stesso periodo (1-3; 3-6; 6-9; 9-12 settimane). Per garantire che i carichi di allenamento totale (cioè il volume x l'intensità) fossero simili in entrambi i gruppi, nonostante le differenze di intensità, è stato utilizzato il metodo TRIMPi. Il carico di allenamento è stato adeguato ogni settimana per assicurare un TRIMPi simile nei due gruppi. I pazienti nel gruppo ACT hanno camminato in modo continuo ad una intensità di allenamento moderata, corrispondente a ~ 45-60% della riserva di frequenza cardiaca (Heart Rate Reserve, HRR) per 30-45 minuti, secondo la periodizzazione del programma di allenamento. I pazienti del gruppo AIT hanno eseguito un riscaldamento per 9 minuti con esercizi calistenici e di stretching, prima di camminare per 4 periodi di 4 minuti ciascuno, da 2 a 4 volte ad una intensità di ~ 75-80% della HRR, con pause attive di 3 minuti di cammino ad una intensità pari a 45-50% della HRR.

Calcolo del TRIMPi. Il TRIMP (TRaining IMPulse method) considera il ΔHR (HR di esercizio - HR a riposo / HR massima - HR a riposo) la principale variabile d'esercizio. La durata di ciascuna specifica sessione di allenamento è moltiplicata per la media del ΔHR raggiunta durante la specifica sessione. Per evitare di dare un'importanza sproporzionata ad una attività di lunga durata effettuata a livelli di ΔHR relativamente bassi rispetto ad una attività intensa ma di breve durata, il ΔHR è ponderato da un fattore di moltiplicazione individuale (y), in un modo che riflette l'intensità dello sforzo. Questo fattore y è basato sulla crescita esponenziale dei livelli di lattato nel sangue con l'aumento frazionale della HR al di sopra dei livelli a riposo. Questo fattore serve a equiparare i valori di TRIMP tra esercizi di lunga durata e bassa HR ed esercizi di breve durata ed elevata HR. Pertanto:

$$\text{TRIMP} = \text{tempo (min)} \cdot \Delta HR \cdot y$$

dove y è un coefficiente non lineare dato dall'equazione: $y = 0.64e^{1.92x}$
con e = base del logaritmo di Napierian e x = ΔHR

I medici e ricercatori dell'IRCCS San Raffaele Pisana hanno introdotto un fattore di ponderazione individuale (y_i) per ciascun soggetto. Tale fattore y_i riflette il profilo di una tipica curva di risposta di lattato nel sangue all'aumentare dell'intensità dell'esercizio. I valori individuali y_i vengono calcolati per ogni soggetto con il metodo "best fitting" utilizzando modelli esponenziali. Così con l'aumentare dell'intensità dell'esercizio, come indicato dall'aumento della FC, il fattore di ponderazione y_i aumenta esponenzialmente.

Pertanto, durante ciascuna sessione di allenamento un valore di TRIMP individualizzato (TRIMPi) può essere calcolato come l'area sotto la curva rappresentata dallo pseudo-integrale di tutti i punti di ΔHR .

Quantificazione dello sforzo percepito (Rate of Perceived effort- RPE). La percezione soggettiva dello sforzo definito come sessione-RPE è stata valutata in ciascun paziente, per ciascuna sessione di allenamento, durante 12 diverse settimane di periodizzazione dell'allenamento. La sessione-RPE è stata determinata moltiplicando la durata dell'allenamento (in minuti) per il RPE. L'RPE individuale è stato valutato utilizzando la scala di Borg a 10 punti modificata da Foster. Questo prodotto rappresenta in un singolo numero espresso in unità arbitrarie (AU) l'entità del carico di lavoro interno (TL) sperimentato da ciascun singolo individuo. Per essere sicuri che lo sforzo percepito fosse riferito all'intera sessione di allenamento, piuttosto che alla intensità di esercizio

svolto più recentemente, ad ogni paziente è stato chiesto di fornire una valutazione sulla difficoltà complessiva della sessione di allenamento, e ciascun RPE individuale è stato registrato entro 30 minuti dal completamento di ogni sessione di allenamento. Ai pazienti è stato spiegato che vi era la necessità di avere una valutazione globale dell'intera sessione di allenamento, utilizzando qualunque elemento che reputassero adeguato per definire l'entità dello sforzo globale percepito. Ciascun paziente riportava la percezione di sforzo della sessione di allenamento indicando un numero sulla scala a 10 punti di Borg.

Valutazione del sistema nervoso autonomo: la sensibilità baroriflessa è stata valutata mediante la tecnica delle sequenze che analizza le registrazioni simultanee non invasive battito per battito della pressione arteriosa al dito di una mano, e la traccia elettrocardiografica da una derivazione precordiale, con una frequenza di campionamento di 250 Hz (come già effettuato in numerosi precedenti studi dal gruppo). Il metodo delle sequenze permette di quantificare la sensibilità del riflesso barocettivo cardiaco ai livelli correnti e prevalenti di pressione arteriosa ed intervallo RR e riflette la risposta barocettiva riflessa, mediata dal sistema vagale. Il parametro di variabilità della frequenza cardiaca (HRV) utilizzato in questi studi è stato la deviazione standard dell'intervallo RR, dal momento che questo è il parametro di HRV risultato maggiormente alterato in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica.

Valutazione emodinamica: la gittata cardiaca è stata misurata utilizzando la tecnica del rebreathing gas inerte (IGR). Questa tecnica è stata convalidata per le misurazioni di CO in pazienti con scompenso cardiaco. Lo Stroke Volume (SV) è stato calcolato come CO / HR . Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad almeno una sessione didattica per comprendere e mettere in pratica la metodologia IGR.

Valutazione metabolica. La valutazione metabolica includeva glicemia, insulina, creatinina, colesterolo totale, colesterolo HDL, colesterolo LDL, trigliceridi e analisi di routine di campioni di sangue prelevato da una vena antecubitale dopo il digiuno notturno. La resistenza all'insulina è stata stimata dal modello di valutazione dell'omeostasi (HOMA-IR).

I principali risultati ottenuti riguardano l'applicazione dei modelli matematici in pazienti con insufficienza cardiaca sottoposti alla fase 2 di riabilitazione ed i risultati hanno mostrato che sia l'allenamento continuo che l'allenamento intervallare determinano analoghi miglioramenti della capacità funzionali e del controllo nervoso cardiaco, posto che la dose totale di attività fisica sia equiparabile nelle due modalità di allenamento. Inoltre, tali modelli hanno consentito di dimostrare in maniera inequivocabile che i miglioramenti sono dose-dipendente. L'applicazione di modelli matematici costituisce un nuovo approccio nella riabilitazione cardiaca e può consentire una migliore individualizzazione e ottimizzazione dell'allenamento favorendo una più efficace pianificazione a lungo termine della riabilitazione e consentendo contemporaneamente una probabile riduzione dei costi.

I risultati ottenuti hanno spostato in ambito riabilitativo cardiologico, l'attenzione da quale è il "best format" dell'allenamento a qual è la dose adeguata di allenamento, comprensiva di intensità e volume delle singole sessioni, per massimizzare gli effetti dell'allenamento sui diversi parametri di outcome cardiovascolari evitando dosi eccessivamente basse, e quindi scarsamente efficaci o dosi eccessivamente elevate che potrebbero risultare pericolose nei pazienti cardiopatici senza fornire, al contempo, sostanziali miglioramenti degli outcome. Un esempio lampante in questo contesto, è la dimostrazione fornita dai medici e ricercatori dell'IRCCS San Raffaele Pisana sull'esistenza di una relazione curvilinea tra dose di esercizio e miglioramenti del controllo neurovegetativo cardiaco. Oltre una certa dose di esercizio non si ottengono ulteriori miglioramenti, mentre potrebbero aumentare i rischi di eventi avversi. Una ulteriore innovazione è che gli stessi risultati sono ottenibili con programmi di allenamento, sia continuo che intervallare, utilizzando come guida all'allenamento la percezione soggettiva dello sforzo sperimentate (RPE-session method).

Ruolo delle sirtuine nel mediare gli effetti benefici della riabilitazione nel paziente con scompenso cardiaco

L'esercizio fisico regolare è potenzialmente in grado di influenzare i meccanismi dell'infiammazione, della morte cellulare e dello stress ossidativo. Ad esempio, è stato recentemente osservato che l'esercizio fisico aumenta i livelli plasmatici della sirtuina 1 (SIRT 1) che, a sua volta, aumenta la FOXO3A e la capacità di quest'ultima di aumentare l'espressione della GADD45, un bersaglio della FOXO3A, coinvolta nella riparazione del DNA. Inoltre è stato riportato che l'esercizio fisico di tipo aerobico aumenta il contenuto di SIRT 1 nel muscolo scheletrico.

Si potrebbe ipotizzare che parte degli effetti benefici dell'esercizio fisico che si verificano sia negli individui sani che nei pazienti cardiopatici, inclusi i pazienti con scompenso cardiaco, possano essere collegati all'effetto modulatore dell'esercizio fisico sull'attività di una serie di fattori, il cui fine ultimo sarebbe quello di mantenere un equilibrio tra la morte cellulare programmata (apoptosi) e la riparazione cellulare. In tal senso, è noto che una singola sessione di esercizio fisico intenso determina profonde alterazioni nell'espressione genica nucleare e mitocondriale sia nel cuore che nel muscolo scheletrico, nel tentativo di neutralizzare gli effetti potenzialmente dannosi di questo tipo di stress metabolico/ossidativo.

In questo contesto è importante sottolineare che la catena di trasporto elettronico mitocondriale è stata identificata quale la maggior sorgente di ROS intracellulare durante lo stress imposto dall'esercizio e l'accumulo di ROS modula rapidamente l'attività delle sirtuine.

Infine, un recente studio del gruppo di ricerca, effettuato sui maratoneti (maratona di Roma 2008), ha mostrato che è in grado di modulare la risposta cellulare allo stress dell'esercizio, indicando che il bilancio tra geni pro- e antiapoptotici varia a favore di uno stato antiapoptotico dopo un esercizio fisico intenso e prolungato.

I risultati ad oggi riportati, anche se limitati, suggeriscono che numerosi fattori proteici di tipo ripartivo-protettivo ed anti-infiammatori vengono attivati dall'esercizio fisico e sono coinvolti nei meccanismi adattativi da questo indotti. Tali markers, rilevabili nel sangue circolante, potrebbero rivelarsi regolatori chiave nel mediare alcuni effetti benefici del training fisico.

L'obiettivo del presente progetto di ricerca è quello di studiare il possibile ruolo dell'esercizio fisico strutturato svolto nell'ambito di un programma di riabilitazione cardiologica in pazienti con scompenso cardiaco sull'espressione di markers proteici di riparazione e protezione del danno cellulare da stress ossidativo ed anti-infiammatori, quali sirtuine, TNF-alfa, FOXO3A etc.

Tale studio permetterà di analizzare se questi markers rivestono un ruolo rilevante nel mediare gli effetti benefici dell'attività fisica nell'ambito della riabilitazione cardiologica.

Ci si attende di poter identificare i markers biologici circolanti correlati con l'espressione di proteine con attività protettiva-riparativa cellulare ed anti-infiammatoria, influenzabili da diverse modalità di training fisico da utilizzare, in prospettiva, come indicatori addizionali di recupero funzionale, correlabili agli effetti benefici dell'allenamento e all'outcome dei pazienti.

Il progetto è tutt'ora nella fase di reclutamento del numero di pazienti previsti (n=20).

Sono stati arruolati 8 pazienti che sono stati distribuiti in modo randomizzato al gruppo attivo (con programma di esercizio fisico strutturato) o al gruppo di controllo (senza programma di allenamento). I pazienti nel gruppo attivo sono stati sottoposti a protocollo di riabilitazione (12 settimane) basato sul metodo del TRIMPi da messo a punto dal gruppo di ricerca. Il gruppo di controllo non ha eseguito programmi di allenamento.

Tutti i pazienti arruolati sono stati sottoposti alle seguenti valutazioni: prelievo di sangue venoso per analisi di chimica clinica; esame ecocardiografico; test ergometrico cardiopolmonare. Tutte le informazioni sono state incluse in cartelle Filemaker per essere successivamente disponibili alla consultazione e all'estrazione dei dati rilevanti. Il test ergometrico cardiopolmonare è stato eseguito (come da protocollo) prima ed al termine delle 12 settimane previste dallo studio.

E' stato inoltre eseguito un test del cammino di 6 minuti (condizioni basali e dopo 3, 6, 9 e 12

settimane di allenamento o controllo) ed effettuò lo studio della variazione di espressione e attività delle sirtuine.

Per ciascun paziente sono stati effettuati prelievi di sangue venoso in cinque tempi successivi:

- Tempo 0, prima ed immediatamente dopo il test ergometrico valutativo iniziale;
- Tempo 1, dopo 3 settimane dall'inizio della riabilitazione, prima dell'inizio della sessione di allenamento.
- Tempo 2, dopo 6 settimane dall'inizio della riabilitazione prima dell'inizio della sessione di allenamento.
- Tempo 3, dopo 9 settimane dall'inizio della riabilitazione prima dell'inizio della sessione di allenamento.
- Tempo 4, al termine del programma di allenamento (nell'ultima sessione di allenamento, un prelievo prima ed uno al termine della sessione).

Come previsto dal protocollo, i campioni di sangue venoso sono stati utilizzati per l'espressione dell'mRNA delle sirtuine (SIRT1-7), l'espressione proteica delle sirtuine (SIRT1-7) e l'attività delle sirtuine (SIRT1-7). È stata inoltre valutata l'espressione proteica e del mRNA di fattori coinvolti nella morte cellulare (apoptosi e necrosi), nello stress ossidativo e nell'infiammazione.

timane di allenamento o controllo) ed effettuò lo studio della variazione di espressione e attività delle sirtuine.

Per ciascun paziente sono stati effettuati prelievi di sangue venoso in cinque tempi successivi:

- Tempo 0, prima ed immediatamente dopo il test ergometrico valutativo iniziale;
- Tempo 1, dopo 3 settimane dall'inizio della riabilitazione, prima dell'inizio della sessione di allenamento.
- Tempo 2, dopo 6 settimane dall'inizio della riabilitazione prima dell'inizio della sessione di allenamento.
- Tempo 3, dopo 9 settimane dall'inizio della riabilitazione prima dell'inizio della sessione di allenamento.
- Tempo 4, al termine del programma di allenamento (nell'ultima sessione di allenamento, un prelievo prima ed uno al termine della sessione).

Come previsto dal protocollo, i campioni di sangue venoso sono stati utilizzati per l'espressione dell'mRNA delle sirtuine (SIRT1-7), l'espressione proteica delle sirtuine (SIRT1-7) e l'attività delle sirtuine (SIRT1-7). È stata inoltre valutata l'espressione proteica e del mRNA di fattori coinvolti nella morte cellulare (apoptosi e necrosi), nello stress ossidativo e nell'infiammazione.

Controllo a lungo termine degli effetti del carico di allenamento attraverso il metodo delle session-Rate of Perceived Exertion (RPE) in soggetti con scompenso cardiaco

Lo studio si prefigge di valutare l'efficacia di un programma di allenamento a lungo termine (tale da prevedere un controllo sulla relazione dose-risposta attraverso l'analisi post-ospedaliera delle session-RPE) sia di tipo aerobico continuo sia di tipo interval training basato sul metodo della session-RPE sui parametri di capacità funzionale (e.g., VO₂, Soglia ventilatoria, test del cammino) nonché sugli adattamenti neurovegetativi (e.g., sensibilità baro riflessa e variabilità della frequenza cardiaca) e metabolici (e.g., assetto lipidico, insulino-resistenza etc) in pazienti cardiopatici.

Ci si aspetta che il controllo del carico di allenamento, realizzato nella post ospedalizzazione dai pazienti stessi, consenta un più efficace mantenimento dei miglioramenti ottenuti nella fase 2 di riabilitazione. Ciò permetterebbe di proporre una nuova metodologia di allenamento tale da non richiedere il monitoraggio e la valutazione della frequenza cardiaca e che pertanto potrebbe essere impiegata in modo efficace ma estremamente semplice nella programmazione dell'attività fisica, anche autogestita nel tempo, al di fuori dell'ambito strettamente clinico, in pazienti cardiopatici.

Nel corso del 2015, 12 pazienti uomini con scompenso cardiaco stabile (FE<40%) sono stati randomizzati per effettuare un training aerobico standardizzato (aerobic continuous training - ACTs, n=6, age 61.2±8) oppure un training individuale aerobico e continuo (aerobic continuous training -ACTi, n=6, age 60±12), entrambi programmati sulla base del TRIMPi, per 10 settimane. Per ciascuna sessione TRIMPi guidata, la sessione RPE è stata anche registrata dal gruppo di pazienti ACTs. La sessione RPE quantificava il carico interno di allenamento (internal training load -TL) moltiplicando l'intera sessione RPE per la sua durata, utilizzando la Scala di Borg (da 1 a 10).

Questo risultato rappresenta in un singolo numero l'ampiezza del TL interno. L'esercizio consiste nel camminare in salita sul tapis roulant con un continuo monitoraggio telemetrico del HR. Le prime 5 settimane di esercizio fisico (ET) sono state eseguite nel nostro centro supervisione, la sesta settimana è stata svolta autonomamente presso il centro e le ultime 4 settimane fuori dalla nostra struttura, da entrambi i gruppi. Tutti i pazienti sono stati sottoposti al Test del Cammino dei 6 minuti (6MWT) all'inizio dello studio e dopo rispettivamente 6 e 10 settimane. Una correlazione significativa è stata trovata tra TRIMPi e le sessioni individuali RPE. Il 6MWT è migliorato in misura simile in entrambi i gruppi; tuttavia, dopo il periodo di allenamento autonomo fuori dalla ospedale, mentre il gruppo ACTs ha mostrato un decremento nel 6MWT dalla sesta settimana, il gruppo ACTi ha invece mostrato un ulteriore incremento nell'esecuzione di tale 6MWT.

Tali risultati indicherebbero che il metodo RPE-session è utilizzabile nella programmazione autogestita extra-ospedaliera dell'allenamento nel paziente con scompenso cardiaco per migliorare e/o mantenere la propria capacità funzionale. Infatti, nei pazienti che hanno utilizzato la RPE-session dopo la dimissione dalla struttura riabilitativa è stato riscontrato un ulteriore significativo incremento della capacità funzionale (test dei 6 minuti) mentre nel gruppo che non ha utilizzato la session-RPE la capacità funzionale si riduceva.

Applicazione di nuove tecnologie di Biomarker discovery per l'identificazione di determinanti di outcome clinico delle malattie croniche disabilitanti

Il progetto si pone all'interno del programma dell'Area di Biomarker Discovery and Advanced Technologies (BioDAT), che prevede l'esecuzione di studi di biomarker discovery volti ad identificare nuovi fattori in grado di influenzare la risposta al trattamento, nonché il recupero e la qualità di vita di pazienti con patologie croniche disabilitanti. La scoperta di nuovi biomarcatori (biomarker discovery) è, infatti, essenziale per una migliore comprensione dei meccanismi molecolari coinvolti nella patogenesi di numerose condizioni patologiche, per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici riabilitativi e per predire in maniera personalizzata la mancata risposta ad un determinato trattamento farmacologico, o la possibile insorgenza di effetti indesiderati. Le piattaforme tecnologiche sviluppate nel corso degli ultimi anni e la disponibilità di una Banca Biologica Interistituzionale Multidisciplinare (Progetto BioBIM) dotata di procedure operative standardizzate e delle più moderne tecniche ICT, sono una garanzia per l'esecuzione di studi specifici atti ad individuare marcatori molecolari e profili genetici utili per la predizione del rischio e la valutazione dell'efficacia terapeutica, sia essa di tipo riabilitativo o farmacologico, nelle patologie croniche disabilitanti.

L'esteso campionamento in atto presso la BioBIM rappresenta quindi una fonte importante di numerose tipologie di matrici biologiche, in grado di favorire in tempi rapidi lo sviluppo di progetti di ricerca traslazionale, nei quali affiancare alle indagini diagnostiche tradizionali le metodiche più innovative su cui si basa la disciplina della "Biomarker Discovery". Bisogna tuttavia considerare che la disponibilità di tali infrastrutture porta di conseguenza una rapida crescita della quantità di dati biologici, biomedici ed epidemiologici prodotti (Big Data) con nuove sfide in termini di gestione ed analisi dei dati, non solo nel campo della ricerca biomedica, ma anche in quello della sicurezza del dato informatico.

Sulla base di tali presupposti, il principale obiettivo di questo programma di ricerca corrente è l'identificazione di nuovi marcatori biomolecolari, che consentano di prevedere l'outcome in patologie croniche, disabilitanti ed età-correlate. Il valore prognostico/predittivo di queste molecole viene valutato mediante tecniche di diagnostica classiche e metodologie più avanzate, quali ad esempio la farmacogenomica, che consente l'integrazione delle conoscenze genetiche e farmacologiche acquisite in studi condotti su ampie coorti di pazienti e di individui sani correlati in base alle caratteristiche sociodemografiche.

I campioni biologici di pazienti con fattori di rischio o patologie croniche disabilitanti sono adeguatamente preservati nella BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM). Le procedure di processazione e stoccaggio dei campioni biologici sono state strutturate in base a protocolli standard di riferimento e sono diversificate a seconda dei campioni che vengono trattati. In particolare, la BioBanca dell'Istituto prevede la conservazione dei seguenti tipi di campioni biologici tra cui: campioni ematologici, campioni urinari umani, altri liquidi biologici (es. liquidi ascitici, pleurici, saliva, ecc.), altri campioni biologici (espettorato, feci, ecc.), campioni tissutali umani, prodotti di estrazione (proteine, lipidi, acidi nucleici, ecc.) e linee cellulari umane.

Ad ogni campione biologico sono associati i dati del donatore che comprendono: la cartella clinica, la storia familiare, l'eventuale patologia ed altri eventuali dati ritenuti di rilievo per studi specifici. La BioBIM è organizzata in modo da assicurare: la conservazione del campione per 20 anni, la qualità del campione biologico conservato, il corretto utilizzo dei campioni biologici depositati e la tutela della privacy del soggetto donatore. Gli aspetti metodologici includono l'uso di varie

metodiche per l'analisi proteica e la biodistribuzione dei prodotti identificati. Sono inoltre condotte indagini di diagnostica molecolare per l'individuazione di varianti di sequenza utilizzabili come marcatori di diagnosi, progressione, prognosi e risposta alla terapia. Le informazioni ottenute sono integrate ed analizzate tramite avanzate tecnologie bioinformatiche che permettono la consultazione di banche dati on-line, l'estrazione delle informazioni di interesse dai "Big Data" mediante data mining e tecniche algoritmiche, senza perdere di vista alcuni aspetti regolatori in tema di privacy e consenso informato.

Per quanto riguarda gli aspetti traslazionali della ricerca, grazie alla piattaforma di gestione informatica implementata nella Biobanca afferente al laboratorio BioDAT (progetto BioBIM), si è stati in grado di estrarre ed elaborare in tempi rapidi un'ampia mole di dati associati ai campioni conservati nella biobanca ed esaminati nel corso di indagini diagnostiche tradizionali ed innovative. In particolare, grazie anche alla collaborazione con l'Università Telematica San Raffaele, è stato possibile costruire e validare un modello di rischio clinico per il tromboembolismo basato su algoritmi Kernel e modelli di Random Optimization, applicabile, con opportune variazioni di parametri, a diversi contesti medici. Allo stato dell'arte, è in fase di realizzazione un'applicazione software che, utilizzando l'algoritmo individuato, consentirà agli operatori del settore di ottenere in modo semplice ed immediato, derivando i dati biologici dalla cartella clinica informatizzata, la predizione del rischio trombotico. Altre ricerche nel settore oncologico riguardano lo studio dell'espressione tissutale di potenziali biomarcatori al fine di verificarne il possibile inserimento in protocolli diagnostici e/o la loro idoneità quali bersagli molecolari in protocolli di immunoterapia.

In riferimento agli aspetti procedurali il gruppo è stato attivamente coinvolto nello sviluppo di strumenti informatici in grado di garantire la qualità dei campioni inseriti in protocolli di Biomarker Discovery, attraverso la tracciatura puntuale degli eventi a cui il campione stesso potrebbe andare incontro nel corso dell'intero ciclo vitale.

Infine, per quanto riguarda gli aspetti regolatori in tema di privacy e consenso informato, l'attività è stata incentrata sull'analisi dei termini di sicurezza informatica, con particolare interesse al settore Sanità (e-Health care), "Internet delle cose" (Internet of Things – IoT), Sicurezza e Big Data e sulle loro implicazioni di privacy non solo per i pazienti, ma anche per i medici e gli operatori sanitari, nonché per gli sviluppatori delle infrastrutture ICT. L'analisi della normativa vigente in Italia è stata confrontata con la nuova Risoluzione legislativa del Parlamento europeo del 12 marzo 2014, grazie anche alla collaborazione di un gruppo di legali specializzati nel settore.

Grazie alla possibilità di ampliamento della casistica, si prevede di estendere gli studi di biomarker discovery su un più ampio campionamento che includa anche altre categorie di pazienti allo scopo di individuare nuovi parametri biologici da utilizzare quali determinanti di outcome in pazienti affetti da patologie croniche disabilitanti e validarne l'applicabilità clinica. In particolare, al momento attuale si sta procedendo alla valutazione di diverse varianti geniche su popolazioni di pazienti affetti da patologie cardiovascolari, neurologiche ed oncologiche allo scopo di verificare le possibili associazioni genotipo/fenotipo utili ad un approccio clinico personalizzato che possa determinare un vantaggio per il paziente.

Definizione di determinanti di outcome in patologie ad aumentato rischio trombotico

La trombosi è un fenomeno multifattoriale alla cui patogenesi contribuiscono complesse interazioni fisiopatologiche tra i diversi sistemi coinvolti nell'omeostasi vascolare. Allo stato dell'arte, la migliore comprensione dei meccanismi di regolazione dell'emostasi derivata da numerosi studi clinici ha conferito una precisa rilevanza epidemiologica al concetto di "ipercoagulabilità" spesso messo in relazione all'insorgenza della trombosi. Tuttavia, i modelli di valutazione del rischio trombotico finora sviluppati non sono ottimali e potrebbero portare a sottovalutare una

percentuale significativa di pazienti. A tal proposito, linee guida nazionali ed internazionali raccomandano l'inclusione del dosaggio di alcuni marcatori di ipercoagulabilità nei profili di valutazione del rischio trombotico, mentre studi ulteriori sono in corso per valutare la predittività di altri. In tale contesto, l'identificazione di nuovi biomarcatori (da utilizzare nell'implementazione dei modelli clinici esistenti per la stratificazione di pazienti ad alto rischio) rappresenta un obiettivo di primario interesse per la comunità medica in quanto una diagnosi precoce e/o il tempestivo ricorso ad eventuali programmi di tromboprofilassi potrebbero avere delle ricadute clinico-assistenziali di notevole importanza nel percorso terapeutico/riabilitativo e sulla qualità di vita (QdV) di pazienti affetti da numerose condizioni patologiche (neoplasie, disturbi cardiovascolari, etc.), al fine di prevenire l'insorgenza di eventi tromboembolici, condizioni potenzialmente letali ed altamente disabilitanti. Obiettivo principale della ricerca proposta è l'identificazione e la caratterizzazione di marcatori biomolecolari/ovariabili cliniche da utilizzare quali indicatori predittivi utili alla determinazione del rischio cardiovascolare in particolari popolazioni di pazienti fragili caratterizzati da un aumentato rischio trombotico. I campioni biologici di pazienti con fattori di rischio o patologie croniche disabilitanti sono adeguatamente preservati nella BioBIM dell'IRCCS San Raffaele Pisana previo consenso informato scritto. Tutti i campioni sono codificati in modo da garantire l'anonimato del paziente ed inseriti in un programma di database computerizzato protetto da doppio codice di accesso/password. In considerazione della stretta interazione esistente tra alterazioni infiammatorie e modificazioni dell'assetto procoagulante, vari marcatori di attivazione emostatico/coagulativa sono analizzati in associazione ad alcuni analiti di significato infiammatorio interconnessi con il sistema emostatico. Su popolazioni selezionate di pazienti viene eseguito lo studio dei polimorfismi metabolici correlati a diagnosi, prognosi e valutazione dell'approccio multidisciplinare (dieta, esercizio fisico ed eventuale terapia medica). La diagnosi mutazionale è effettuata con metodiche di screening molecolare ad alta sensibilità per l'individuazione di varianti di sequenza coinvolte nei meccanismi pro- ed anti-infiammatori e nelle alterazioni metaboliche. Gli studi condotti nell'ambito di questa linea di ricerca hanno preso in considerazione il paziente oncologico, quale paradigma di una condizione di fragilità nella quale è necessario garantire una presa in carico globale del malato fin dall'inizio del percorso terapeutico, attraverso un approccio multidisciplinare e multidimensionale, che garantisca da un lato il miglior trattamento antitumorale e dall'altro un precoce riconoscimento di eventuali altri bisogni del malato, permettendo un inserimento precoce delle cure palliative e della riabilitazione per la prevenzione ed il controllo dei sintomi legati alla malattia e/o alle terapie. In particolare, sono stati analizzati alcuni indicatori predittivi di tromboembolismo venoso (TEV), una causa importante di morbidità e mortalità nei pazienti oncologici, soprattutto nei primi tre mesi di trattamento. I risultati ottenuti hanno messo in evidenza la possibilità di identificare pazienti ad alto rischio grazie all'introduzione diagnostica di alcuni nuovi marcatori associati al rischio di TEV. In particolare, è stato analizzato il valore predittivo di alcuni parametri infiammatori (rapporto piastrine/linfociti o neutrofili/linfociti) o determinanti genetici di rischio trombotico (polimorfismi nella regione promotore del gene per il VEGF – vascular endothelial growth factor). Inoltre, le ricerche condotte nei nostri laboratori hanno portato alla messa a punto di un nuovo algoritmo diagnostico per l'identificazione di sottogruppi di pazienti ad alto rischio tromboembolico. In collaborazione con l'Università di Roma Tor Vergata, utilizzando un dataset di circa 1200 pazienti, è stato infatti possibile costruire e validare un modello di rischio clinico basato su algoritmi Kernel e modelli di Random Optimization, che risulta essere molto efficace nella predizione del rischio tromboembolico (manoscritto sottomesso per la pubblicazione). Inoltre, è in fase di realizzazione un'applicazione software che, utilizzando l'algoritmo individuato, consentirà agli operatori del settore di ottenere in modo semplice ed immediato, inserendo alcuni dati biologici o derivandoli dalla cartella clinica informatizzata, una valutazione del rischio. Da sottolineare il fatto che il modello algoritmico utilizzato è applicabile, con opportune variazioni di parametri, ad altri contesti medici, ad esempio nella predizione del rischio tromboembolico in pazienti con fibrillazione atriale. La possibilità offerta dalla BioBIM dell'IRCCS San Raffaele Pisana di estensione dello studio a categorie di pazienti con patologie diverse da quella oncologica, permetterà

di caratterizzare in maniera approfondita lo stato di ipercoagulabilità che precede l'evento trombotico, al fine di implementare alcuni modelli di rischio clinico esistenti e per la stratificazione di pazienti ad alto rischio in cui un'anticipazione diagnostica e/o l'applicazione di programmi di tromboprofilassi potrebbero intervenire favorevolmente non solo in una fase di prevenzione primaria, ma anche e soprattutto durante il percorso riabilitativo.

Fattori genetici come determinanti di outcome nell'invecchiamento vascolare e nelle malattie cardiovascolari

L'aterosclerosi è una patologia complessa causa principale di infarto del miocardio e di ischemia cerebrale. Nonostante la natura di patologia multifattoriale, è stato dimostrato come l'ambiente e i classici fattori di rischio vascolari influiscano solo in parte sulla variabilità clinica e subclinica della patologia. Numerosi studi, hanno dimostrato come l'ereditarietà per IMIC abbia valori compresi tra lo 0,41 e lo 0,65 prendendo in considerazione i diversi segmenti carotidei, suggerendo quindi, un ruolo fondamentale dei fattori genetici nello sviluppo dell'aterosclerosi. Inoltre, in uno studio precedentemente condotto presso l'Università di Miami è stata dimostrata una associazione statisticamente significativa tra IMIC e loci genetici localizzati su 7p e 14q. Sono stati individuati numerosi polimorfismi genetici collegati a diverse forme di predisposizione per IMIC. Tali polimorfismi erano localizzati in geni codificanti proteine coinvolte nei processi di infiammazione, coagulazione, metabolismo lipidico e glucidico. Le stesse influenze genetiche sono state dimostrate per le PC. Un ruolo fondamentale nello sviluppo dell'aterosclerosi è stato dimostrato negli studi del gruppo per i polimorfismi dei geni delle sirtuine e delle uncoupling proteins mitocondriali (proteine coinvolte nella regolazione del danno ossidativo e nei processi di invecchiamento) strettamente associati ad un maggiore e minore sviluppo delle PC. I risultati venivano confermati anche dopo una correzione statistica per i diversi fattori di rischio cardiovascolare. Questi dati sono stati ulteriormente confermati utilizzando differenti fenotipi di aterosclerosi. In un ulteriore studio di associazione sono stati identificati alcuni loci presenti sul cromosoma 12 correlati ad un maggior rischio per IVS e varianti genetiche di proteine appartenenti al sistema della coagulazione che predispongono ad un rischio maggiore di patologia aterosclerotica. Per tale motivo, una analisi dei fattori genetici associata ad una valutazione dei fattori di rischio può permettere una migliore conoscenza del processo di invecchiamento vascolare e portare ad un intervento precoce di prevenzione in pazienti a rischio. Ultimamente, visto che è stato dimostrato che le sirtuine hanno un ruolo sia nello sviluppo della malattia aterosclerotica che in importanti fattori di rischio cardiovascolari come le malattie metaboliche ed il diabete, ci si è focalizzati proprio nello studio di questi geni/proteine come possibili fattori predittivi per tali patologie essendo esse in grado di regolare numerosi pathways coinvolti nello stress ossidativo e nell'infiammazione. Oltretutto, un ruolo fondamentale delle sirtuine e delle UCP è stato dimostrato nella regolazione del rilascio dell'insulina e nella predisposizione al diabete mellito. Obiettivo principale del progetto è quello di identificare nuovi pathways molecolari coinvolti nelle patologie metaboliche, come il diabete, e vascolari specialmente collegati con i meccanismi di senescenza d'organo. Le molecole coinvolte in questi pathways saranno poi analizzate nelle loro varianti geniche per valutare l'impatto di questi geni con le patologie studiate, specialmente in popolazioni di studio a rischio come i pazienti diabetici. Un ulteriore obiettivo prevede in seguito di validare questi marcatori in popolazioni con diversa etnia grazie al database messo a disposizione dalla Università di Miami, per meglio caratterizzare la loro capacità di valutare il rischio di progressione dell'aterosclerosi e gli outcome clinici della malattia cardiovascolare. Inoltre, analisi successive sui fattori di rischio vascolari e sulle interazioni tra i differenti fenotipi subclinici di aterosclerosi, permetteranno di determinare l'evoluzione della malattia aterosclerotica e l'impatto della terapia (anticoagulanti, anti-ipertensivi, statine, ipoglicemizzanti) sulla sua progressione in queste popolazioni di studio. I campioni biologici (sangue intero, siero, plasma, urine, etc.) di pazienti con fattori di rischio vascolari e patologie cardiovascolari come i pazienti con diabete di tipo 2 (DT2), sono ottenuti dalla

Biobanca presente presso l'IRCCS San Raffaele Pisana e raccolti presso il Dipartimento di Medicina dei Sistemi dell'Università degli Studi di Roma, Tor Vergata. L'analisi delle varianti genetiche viene effettuata con metodiche di biologia molecolare ad alta sensibilità per l'individuazione di sequenze di geni coinvolti nei meccanismi dell'invecchiamento vascolare e dei fattori di rischio ad esso correlati. L'indagine ecografica per la valutazione dei diversi fenotipi di aterosclerosi e la caratterizzazione clinica dei pazienti con disordini metabolici vengono effettuate presso il Dipartimento di Medicina dei Sistemi, dell'Università degli Studi di Roma, Tor Vergata. Gli studi molecolari riguardanti i profili di espressione proteica (es. PCR), l'utilizzo di modelli murini per malattie metaboliche e culture cellulari dove indagare i pathways sopracitati vengono effettuati presso i laboratori l'IRCCS San Raffaele Pisana e dell'Università di Tor Vergata. Tutti i dati e le informazioni cliniche riguardanti i pazienti arruolati sono inseriti, previa opportuna anonimizzazione, in un apposito database che è a disposizione di tutti i centri partecipanti allo studio. Una analisi dei fattori di rischio vascolari, specialmente del DT2, viene effettuata per evidenziare il loro possibile impatto nella patologia aterosclerotica. Un adeguato controllo clinico per valutare la progressione della malattia aterosclerotica sarà pianificato in una coorte di pazienti con età superiore ai 60 anni.

I risultati ottenuti durante il 2015 sono stati il frutto di una attiva collaborazione di ricerca con il Dipartimento di Medicina dei Sistemi dell'Università di Tor Vergata di Roma e con il Department of Neurology, Miller School of Medicine, University of Miami, FL, USA. Durante quest'anno, sono stati validati i dati dimostrati negli anni precedenti supportando come i classici fattori di rischio vascolari incidano marginalmente nello sviluppo delle aterosclerosi carotidiche e come, quindi, vi sia una forte componente genetica nello sviluppo di tale malattia e di conseguenza nelle malattie cardiovascolari. È stato dimostrato specialmente come specifiche varianti genetiche di geni implicati nei processi di infiammazione e stress ossidativo (sirtuine e Uncoupling protein 2 UCP2) siano in grado di avere un effetto significativo sulla malattia aterosclerotica misurata, in questi ultimi studi, come irrigidimento dell'arteria carotidea (stiffness) e con particolari tecniche innovative (gray scale medium) di valutazione della morfologia della placca carotidea. Sono stati inoltre trovati nuovi marcatori genetici (LEKR1 e GALNT10) legati al metabolismo e al controllo del peso in grado di predisporre all'aterosclerosi misurata come ispessimento medio-intimale carotideo, specialmente in grado, quando in interazione specifica con il sesso, di modulare il rischio di invecchiamento vascolare. Sono stati effettuati studi epidemiologici, su larga scala, per vedere l'interazione tra i diversi fenotipi di aterosclerosi quali placche carotidiche e ispessimento medio-intimale carotideo per verificare se essi risultino essere diversi markers di aterosclerosi o lo sviluppo di un unico processo fisiopatologico determinante poi la patologia cardiovascolare. Studi su fattori di rischio importanti per malattia aterosclerotica, come l'impatto sulla morfologia delle placche carotidiche e quindi sul rischio cardiovascolare del fumo di sigaretta, sono stati ulteriormente condotti. Altri studi, condotti su coorti di pazienti anziani, hanno permesso di scoprire nuovi biomarcatori per la sarcopenia, come la butil-colinesterasi e come alti livelli di lattato siano predittivi di alto rischio di mortalità in pazienti anziani ricoverati in reparti di terapia intensiva.

A livello di scienze di base, i risultati maggiori della ricerca sono stati ottenuti nell'ambito della relazione tra fattori di rischio vascolari e metabolismo. In topi knockout ed eterozigoti per il recettore dell'insulina, attraverso uno studio di proteomica condotto in campioni di tessuto epatico, sono stati dimostrati nuovi pathways molecolari associati all'alterazione del metabolismo glicidico, con l'interazione di molecole, mai coinvolte sinora in questi meccanismi, quali l'Hungtintina. Oltretutto, concentrandosi su una chinasi chiamata Serum-and Glucocorticoid-Inducible Kinase (SGK)1 sono stati ottenuti degli ottimi risultati, in quanto è stato scoperto come l'aumentata attività di tale proteina sia in grado di ridurre l'invecchiamento a livello delle cellule endoteliali grazie ad una riduzione della produzione dei radicali liberi dell'ossigeno (ROS) e ad una diretta interazione con hTERT, l'enzima necessario a prevenire l'accorciamento dei telomeri. Oltretutto, è stato dimostrato come SGK1 sia anche in grado di proteggere le cellule renali dal danno apoptotico indotto da un aumento dei ceramidi, supportando l'ipotesi che tale chinasi possa essere un nuovo target molecolare su cui intervenire per prevenire le patologie croniche età-correlate. Ci si attende di individuare nuovi pathways in grado di ridurre lo stato di senescenza cellulare e di

aumentare la funzionalità endoteliale e la risposta allo stress ossidativo e infiammatorio. Inoltre, ci si attende di dimostrare sempre di più la stretta relazione tra fattori di rischio cardiovascolari e patologia aterosclerotica e la forte interazione tra gene-ambiente e gene-fattore di rischio nello sviluppo della malattia.

Marcatori genetici e studi di associazione caso-controllo per la valutazione dei determinanti di outcome e di efficacia terapeutica in patologie croniche, disabilitanti ed età correlate

Gli studi di associazione caso-controllo permettono di individuare varianti genetiche correlate ad una determinata patologia o un particolare aspetto fenotipico della stessa. La scoperta di tali innovativi biomarcatori è essenziale per una migliore comprensione dei meccanismi molecolari coinvolti nella patogenesi di numerose malattie croniche disabilitanti e per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici.

Obiettivo principale di questo studio è l'identificazione di marcatori genetici o epigenetici da utilizzare come marcatori di diagnosi, progressione, prognosi e risposta alla terapia in pazienti affetti da patologie croniche disabilitanti età correlate, quali cardiovascolari, oncologiche e neurologiche.

A tale scopo sono stati estesi gli studi già in corso a diverse popolazioni già selezionate o in corso di reclutamento presso la BioBanca Inter-Istituzionale Multidisciplinare dell'IRCCS San Raffaele Pisana (BioBIM) afferente al laboratorio Biomarker Discovery and Advanced Technologies (Bio-DAT).

I campioni biologici di pazienti con patologie croniche disabilitanti (patologie neurodegenerative, cardiovascolari, oncologiche, etc.), vengono adeguatamente criopreservati nella BioBIM. Ad ogni campione biologico vengono associati i dati antropometrici, sociodemografici e clinici del donatore, la storia familiare, ed altri eventuali dati ritenuti di rilievo per studi specifici). In accordo con la letteratura e le linee guida internazionali tutti i campioni sono codificati in modo da garantire l'anonimato del paziente, inseriti in un programma di database computerizzato protetto da doppio codice di accesso/password e successivamente processati secondo le Standard Operative Procedures (SOPs) adottate dal laboratorio. Le analisi molecolari degli acidi nucleici vengono effettuate mediante metodiche basate sull'amplificazione mediante PCR e sequenziamento elettroforetico automatizzato.

La continua collaborazione con l'Area di ricerca dedicata alle Cefalee e Dolore Neuropatico, ha permesso di ampliare il settore della BioBIM dedicato a raccogliere in maniera specifica dati clinici e campioni biologici da pazienti affetti da emicrania. Grazie a questa collaborazione sono stati effettuati differenti studi di associazione caso-controllo su pazienti affetti da emicrania. Al fine di identificare i fattori genetici che contribuiscono ai meccanismi eziopatogenetici di questa patologia, è stata valutata la correlazione tra due varianti comuni dei geni codificanti per le superossido dismutasi 1 (SOD1) e 2 (SOD2) e l'emicrania, in una coorte di 490 pazienti emicranici e 246 controlli sani. I risultati ottenuti indicano un'associazione significativa tra la variante rs4880 del gene SOD2 e la presenza di sintomi autonomici unilaterali (UAs) ed il tipo di trattamento farmacologico in pazienti affetti da emicrania con aura. È stata inoltre valutata l'associazione tra la comune variante rs1042838 del gene codificante per il recettore del progesterone (PGR) e le caratteristiche cliniche e socio-demografiche di 380 pazienti emicranici e 185 individui sani. I dati suggeriscono che questo risulta associato ad un esordio precoce della malattia, rappresentando quindi un potenziale determinante di outcome per questa patologia. Infine, è stato avviato uno studio riguardante l'identificazione di nuovi biomarcatori molecolari coinvolti nella risposta individuale ad alcuni antipsicotici e farmaci stimolanti (modafinal) utilizzati prevalentemente per il trattamento della narcolessia e dei disturbi ad essa correlati, ma il cui impiego off-label è stato recentemente proposto per il trattamento delle disabilità cognitive post-ictus che, in aggiunta alla depressione, costituiscono frequentemente un ostacolo alla neuro-riabilitazione di questi pazienti. In tale

contesto, un ruolo cruciale sembrerebbe essere svolto dal gene catecol-O-metiltransferasi (COMT) che codifica uno dei principali enzimi coinvolti nel catabolismo delle catecolamine. Risultati preliminari sulla farmacogenetica del gene COMT sono stati ottenuti in un modello clinico costituito da pazienti con emicrania (caratterizzata da uno squilibrio catecolaminergico) anche in relazione all'uso di triptani. L'estensione futura di queste ricerche a pazienti post-ictus potrà contribuire ad una migliore comprensione del ruolo dei polimorfismi del gene COMT nel determinare le funzionalità psicomotorie nelle fasi iniziali del trattamento neuro-riabilitativo.

Ricerca Traslazionale

LABORATORIO DI PATOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE

Espressione genica pro-infiammatoria nella progressione di tumori umani, suo ruolo nel decadimento di organi e tessuti e strategie per il suo controllo

L'attivazione di una risposta genica infiammatoria coordinata permette alle cellule trasformate ipossiche di acquisire tutte quelle proprietà tipiche del fenotipo maligno. I dati degli studi del laboratorio dimostrano che l'ambiente ipossico può essere responsabile dell'espressione de novo dei recettori delle allarmine, attivando una risposta genica coordinata detta risposta riparativa infiammatoria (IRR). Questo fenomeno indurrebbe un fenotipo maligno. L'ipossia a sua volta induce due fenomeni: a) Necrosi delle cellule che sono più distanti dai vasi del tessuto ospite -il danno necrotico porta alla frammentazione della membrana plasmatica e al rilascio di allarmine o DAMPS (Damage-Associated Molecular Patterns); b) Attivazione di HIF-1a con nuova espressione genica, che permette alle cellule tumorali di sopravvivere e crescere. I risultati sperimentali dimostrano anche che l'attivazione di HIF-1a upregola i recettori delle allarmine come RAGE (per HMGB1), P2X7 (per ATP/ADP), alcuni toll-like. Tutti questi recettori, quando stimolati dalle allarmine, attivano NFkB che a sua volta upregola i geni dell'IRR, inducendo così cambiamenti nelle proprietà biologiche delle cellule tumorali.

L'ipotesi di lavoro suggerisce che l'attivazione di una coordinata risposta genica infiammatoria in cellule ipossiche e precedentemente trasformate, permette l'acquisizione delle proprietà cellulari tipiche del fenotipo maligno.

La ricerca si prefigge di:

- Studiare il ruolo di HIF1alfa NFkBeta e IRR nel Ca papillare di tiroide, nel Ca di vescica e nel Ca di colon. In questi tumori viene confermata la presenza dell'ambiente ipossico, vengono descritti alcuni aspetti cruciali della sequenza di adattamento all'ipossia e viene dimostrata la presenza di espressione genica coordinata proinfiammatoria dipendente dall'attivazione di NFkB.
- Identificare quali allarmine/DAMPs sono più efficaci nell'indurre la IRR. I dati preliminari mostrano che la linea cellulare MCF7 quando pretrattata in ipossia per 48-72 h, presenta una più forte attivazione della IRR se un omogenato cellulare è aggiunto al mezzo.
- Identificare quale sottopopolazione di cellule tumorali si adatta più facilmente all'ipossia e attiva più facilmente la IRR. È noto che tessuti umani tumorali sono costituiti da cellule per lo più in avanzato differenziamento e da una piccola popolazione (1-2%) di cellule staminali e progenitori (CS/P). Uno degli obiettivi è quello di studiare il ruolo delle SC/P nell'attivazione di una più forte espressione genica della IRR come adattamento all'ipossia, sia in tumori solidi che in linee cellulari. Gli effetti dell'ipossia e delle allarmine vengono studiati su queste popolazioni cellulari effettuando esperimenti descritti già nel secondo obiettivo.
- Esplorare in modelli sperimentali in vitro e in vivo il meccanismo di homing specifico delle cellule di cancro attivate dall'ipossia. Per raggiungere tale obiettivo si effettuano esperimenti di cocoltura tra cellule di cancro di controllo e HUVEC preattivate con LPS (0.3µg/ml) o da una mix di citochine di tipo Th1 or Th2. Alternativamente vengono creati dei siti di infiammazione in topi nudi per studiare il pattern metastatico (numero e specificità del sito).

Campioni di biopsie umane di Ca di vescica sono state sezionate e sottoposte a laser capture microdissection (LCMD) per separare le cellule tumorali, da quelle peritumorali e da quelle del tessuto ospite normali. L'espressione di mRNA di 48 geni proinfiammatori (inflammocard) è stata studiata mediante Real-time PCR; l'espressione proteica di diversi fattori pro infiammatori quali P2X7, RAGE, COX2, NOS2, SOCS1, TLR2-3-4, e MMP2 è stata studiata mediante Western Blotting; l'attivazione di HIF1a and NF-kB è stata analizzata mediante western blotting o ELISA su frazioni cellulari citosoliche e nucleari. L'ipossia è stata ottenuta incubando le cellule in 1% O₂ in una camera ipossica. Le CS/P sono state preparate da: Campioni chirurgici di tumori solidi umani: Le popolazioni CS/P sono state purificate e caratterizzate mediante analisi di citofluorimetria usando diversi markers. Per studiare gli effetti dell'ipossia sul guadagno di funzione delle MMPs, le linee cellulari MCF7, PC3 e BCPAP sono state trattate con estratti totali di membrane o con frazioni di essi. L'invasione cellulare è stata misurata mediante uno specifico kit della chemicon in grado di discriminare tra cellule che invadono e cellule che non invadono.

È stata valutata l'aumentata abilità di migrare associata al trattamento ipossico e la conseguente overespressione di CXCR4 sulle linee cellulari sopra descritte. La migrazione cellulare è stata studiata mediante il "wound healing assay". L'homing delle cellule tumorali è stato studiato mediante: cocultura di cellule di cancro attivate da ipossia o di controllo e cellule HUVEC preattivate da LPS (0.3µg/ml) o una mix di citochine di tipo Th1 e Th2. Real-time PCR mediante inflammocard di RNA estratto da tessuto granuloso ottenuto da microdissezione. Per gli esperimenti in vivo: a) le cellule CS/P o tumorali isolate da biopsie o da linee cellulari attivate mediante ipossia sono iniettate in topi nudi. Successivamente viene valutato il numero e il tipo di metastasi formatesi. b) E' creato un sito usando rispettivamente batteri Gram+ o LPS o una ferita. Di nuovo, viene valutato il numero e il tipo di metastasi formatesi. Gli studi in vivo sono condotti in topi nudi (4-6 settimane) (Charles River Laboratories) le cellule vengono precedentemente trasfettate con GFP. La formazione del tumore è studiata dopo iniezione sottocutanea. La formazione del tumore è seguita in vivo per 3-4 settimane mediante microscopio a fluorescenza. Iniezioni nella vena caudale permettono di osservare il pattern metastatico nei polmoni, nel cervello e i altri siti mediante immunostochimica, RealTime-PCR e western blotting negli animali sacrificati.

I ricercatori del Laboratorio hanno dimostrato, in diverse linee cellulari sottoposte ad ipossia, l'attivazione di HIF-1alfa che, a sua volta, regola l'espressione di geni appartenenti alla risposta infiammatoria ripartiva come RAGE, P2X7, SOCS1, ecc. Questi, a loro volta, in presenza di uno stimolo necrotico attivano il pathway che innesca NFkB. In particolare, è stato dimostrato che per l'attivazione di NFkB sono particolarmente efficaci le frazioni di membrane rilasciate dalle cellule necrotiche che nelle cellule tumorali stimolano il rilascio di MMPs e la migrazione.

Riproducendo gli esperimenti descritti sopra sulle cellule staminali tumorali, è stato evidenziato come questa popolazione sia in grado di attivare la stessa risposta infiammatoria ripartiva in modo molto più efficace. Questo permette di ipotizzare che tali cellule siano quelle che si adattano e sopravvivono all'ipossia e alla necrosi presenti nel tumore primario e siano quelle che responsabili, poi della progressione del tumore.

E' stato anche osservato che le cellule tumorali stimulate da ipossia sono in grado di aderire meglio alle cellule endoteliali. Tale capacità di adesione è ulteriormente incrementata se le cellule endoteliali sono state sottoposte ad uno stimolo infiammatorio come quello di estratti necrotici o da infezione batterica. Questo risultato è stato ottenuto tramite colorazione delle cellule endoteliali e tumorali e analisi al microscopio confocale. Inoltre, inibendo farmacologicamente HIF-1a con digossina, la risposta delle cellule tumorali viene meno così come la loro capacità di adesione che risulta notevolmente ridotta. Infine, anche silenziando l'espressione dei recettori di membrana come RAGE e P2X7, e quindi la risposta NFkB-mediata, è possibile inibire l'invasione delle cellule tumorali.

L'inibizione farmacologica (digossina) o il silenziamento (shRNA) di HIF-1a ha permesso di inibire la migrazione, invasione e adesione delle cellule tumorali messe a contatto con cellule endoteliali.

In vitro ci si aspetta di osservare diversi gradi di invasione a seconda del trattamento delle cellule

tumorali o delle cellule bersaglio come descritto nei metodi. Inoltre, il silenziamento di alcuni recettori permetterà di capirne il ruolo primario o secondario per la progressione tumorale. In vivo i ricercatori si aspettano che le cellule tumorali attivate da ipossia o da allarmine siano in grado di invadere meglio delle cellule tumorali non trattate. Tale capacità invasiva sarà massima nelle cellule tumorali staminali. Le metastasi formate dalle cellule tumorali potranno essere influenzate tramite creazione di un sito di necrosi con gradiente citochinico. In questo modo ci si aspetta di poter predire il sito in cui le metastasi si formeranno. Da quanto sopra detto risulta chiaro che l'inibizione di HIF-1alfa e NFkB dovrebbe essere maggiormente efficace nel bloccare o ridurre la formazione di metastasi con conseguente aumento della sopravvivenza.

LABORATORIO DI PATOLOGIE CRONICO-DEGENERATIVE

Identificazione di biomarcatori diagnostici e prognostici delle infezioni respiratorie nell'anziano

Nel corso del biennio 2014-2015 sono stati eseguiti degli esperimenti in cui è stato utilizzato come modello sperimentale di infezione in vivo, topi BALB/c invecchiati. Si è utilizzato tale modello al fine di identificare le basi molecolari di una possibile correlazione funzionale tra lo stato redox intracellulare (misurato principalmente attraverso i livelli di glutatione -GSH-, principale antiossidante intracellulare), la suscettibilità alle infezioni respiratorie e il loro andamento durante l'invecchiamento. Nelle fasi iniziali dell'ricerca si è provveduto alla messa a punto del modello sperimentale di infezione in vivo (topi BALB/c giovani ed anziani infettati con virus influenzale PR8 H1N1). Inseguito agli esperimenti effettuati utilizzando il modello messo a punto si è evidenziato dal monitoraggio dei segni clinici di infezione nei topi anziani rispetto ai giovani che, sorprendentemente, la severità del processo infettivo sembra essere inversamente proporzionale all'età degli animali. Infatti, tutti i parametri presi in esame quali peso corporeo, temperatura e titolo virale nei polmoni indicano che nei topi anziani l'infezione si presenta con caratteristiche diverse rispetto ai giovani. In questi ultimi, infatti, si registrano tutti i segni di un'infezione acuta (perdita di peso in pochi giorni, alto titolo virale nei polmoni, mortalità elevata entro il settimo giorno dall'infezione). Al contrario, nei topi anziani l'infezione è apparentemente meno grave con diminuzione di peso meno marcata, titolo virale nei polmoni inferiore rispetto a quello riscontrato nei giovani, mortalità ridotta ed in tempi più lunghi. Questo dato, solo apparentemente in contraddizione con quanto descritto in letteratura circa l'aumentata suscettibilità degli anziani alle infezioni dovuta all'immuno-soppressione, dimostra ancora una volta, che la letalità correlata al virus influenzale è dovuta ad una esagerata produzione di citochine infiammatorie caratteristica dei giovani adulti.

L'esame dello stato redox in vari organi e tessuti degli animali anziani rispetto ai giovani, ha messo in evidenza che l'invecchiamento è accompagnato da un decremento progressivo dei livelli intracellulare di glutatione ridotto, confermato da numerosi dati di letteratura che indicano lo sbilanciamento redox come uno dei fattori caratteristici dell'invecchiamento. Questa caratteristica comporta però conseguenze importanti nella risposta alle infezioni. Negli animali giovani, infatti, che hanno livelli basali di GSH elevati, l'infezione causa un decremento repentino, ma duraturo dell'antiossidante causando uno shift importante nello stato redox cellulare che può rivestire un ruolo fondamentale nell'attivare la risposta immunitaria ed infiammatoria. Al contrario, i bassi livelli basali di GSH riscontrati nei topi anziani rimangono pressoché costanti dopo l'infezione. È possibile che l'assenza dello shift nello stato redox abbia un ruolo nel determinare una diminuita risposta infiammatoria che, da una parte sembra portare ad una diminuita severità dell'infezione, ma dall'altra può portare ad una cronicizzazione della stessa.

Dai risultati ottenuti si può concludere che i livelli di GSH possano costituire un marker indicativo

della cronicizzazione dell'infezione con conseguente possibile evoluzione in bronchite cronica BPCO.

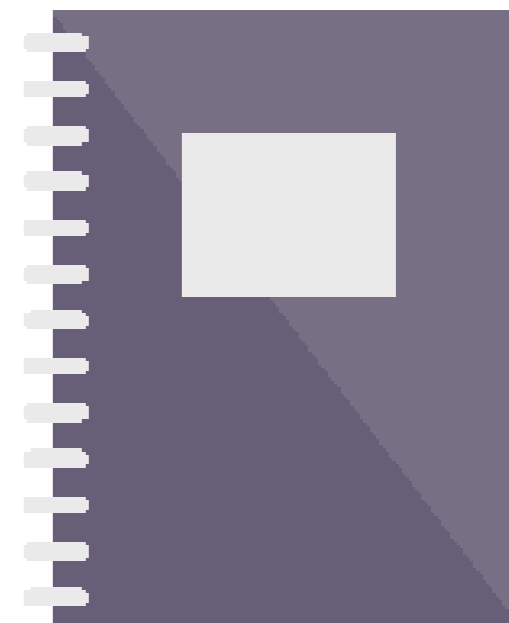
Ruolo dello stress ossidativo legato all'ageing nell'aumentata severità delle infezioni respiratorie nell'anziano

Il biennio 2014-2015 è stato dedicato alla caratterizzazione della risposta all'infezione da virus influenzale in topi anziani, con particolare attenzione al loro stato immunologico ed alla correlazione allo stato redox di diversi organi e tessuti ed al loro stato immunologico.

Nella prima fase della ricerca, topi anziani e giovani (n=30 per ogni gruppo) sono stati infettati per via intra-nasale con virus influenzale di tipo A, PR8/H1N1. Durante lo studio gli animali sono stati monitorati giornalmente controllando la sopravvivenza e i segni clinici dell'infezione, quali il peso corporeo, l'attività motoria e la temperatura corporea. Inoltre, a diversi giorni dall'infezione (8°, 15°) sono stati prelevati campioni di sangue al fine di valutare i parametri ematologici nel sangue intero, le immunoglobuline IgG, IgG1 (Th2) e IgG2a (Th1) e citochine Th1/Th2 nel plasma.

I risultati ottenuti dimostrano che i topi giovani sono più suscettibili all'infezione rispetto ai topi anziani. Infatti, la mortalità risultava più elevata nei primi. Ciononostante, nei topi anziani l'infezione era associata ad una diminuzione del peso e della temperatura corporea associata alla presenza di virus nei polmoni che era massima al picco dell'infezione (3° giorno) e diminuiva nei giorni successivi (8° e 15° giorno). L'analisi del contenuto del glutathione ossidato non ha rilevato nessuna differenza significativa tra i topi giovani e anziani di controllo e infettati. Il monitoraggio dello stato redox ha dimostrato che i topi anziani non infettati presentavano un minor contenuto tiolico negli organi prelevati, ad eccezione del cervello, ed un minor numero di globuli bianchi rispetto ai topi giovani. In questi ultimi, invece si riscontrava una riduzione dei globuli bianchi solo all'ottavo giorno dopo l'infezione, che era probabilmente dovuta al reclutamento di questi nel polmone. Al contrario, nei topi anziani infettati, i globuli bianchi diminuivano solo a tempi tardivi dall'infezione (15° giorno), dopo la risoluzione della malattia. Il fenomeno potrebbe essere correlato ad una alterazione del loro stato immunologico basale che potrebbe rallentare la capacità cellulare di rispondere all'infezione contribuendo a causare danni cronici.

In una seconda fase della ricerca, i topi invecchiati e infettati con 0.5 pfu/topo di virus influenzale di tipo A, PR8/H1N1, sono stati trattati giornalmente con un derivato del glutathione (GSH) per 7 giorni. Il gruppo di controllo è stato trattato con il placebo. Sette e quindici giorni dopo l'infezione, sono stati prelevati diversi organi per la valutazione di diversi parametri, inclusi il rapporto GSH/GSSG e il contenuto di cisteina, i livelli proteici e genetici delle citochine Th1/Th2 e titolo anticorpale. I topi sono stati monitorati giornalmente seguendo i segni clinici descritti sopra. I risultati indicano che il trattamento con il derivato del GSH migliora i segni clinici dell'infezione in termini di temperatura e peso corporeo. Inoltre, nei topi trattati è stata osservata una diminuzione del titolo virale nei polmoni di 1 log rispetto ai topi infettati non trattati. Dal punto di vista immunologico, dati preliminari indicano che il derivato del GSH esercita un'attività immunomodulatoria nei topi invecchiati. Il trattamento induce un aumento dei livelli delle citochine Th1, tra cui l'interleuchina (IL)-12 e interferon- γ e una diminuzione dei livelli di citochine Th2, come IL-4, IL-5 and IL-10.



Annino G, Palazzo F, Lebone P, Caronti A, Lombardo M, Campoli F, Padua E, Iellamo F. The efficacy of plantar stimulation on human balance control. *Somatosens Mot Res.* 2015 Aug 19;1-6. [Epub ahead of print] *Somatosens Mot Res.* 2015;32(3):200-205.

The aim of this study was to evaluate the body sway using firm, foam, and firm textured surfaces on 17 young adults.

Displacement of center of pressure (CoP), anteroposterior velocity (VA/P), and mediolateral velocity (VM/L) were measured.

The data showed a significant decrease of CoP, VA/P, and VM/L between support surfaces and vision.

The results showed that, differently from the firm and foam, the textured surface is able to increase the plantar feedback to maintaining postural control.

Annino G, Ruscello B, Lebone P, Palazzo F, Lombardo M, Padua E, Verdecchia L, Tancredi V, Iellamo F.

Acute effects of static and dynamic stretching on jump performance after 15 min of reconditioning shooting phase in basketball players.

J Sports Med Phys Fitness. 2015 Dec 3. [Epub ahead of print]

The aim of the study to assess the effects of Static (SS) and Dynamic Stretching (DS) on vertical jump performance executed before, immediately after and at the end of the shooting phase (i.e., 15 min later), as to simulate the actual conditions preceding a match, in professional basketball players.

Ten elite basketball players (age: 29 ± 6.73 years, height: 194.67 ± 7.75 cm, weight: 91 ± 8.17 Kg and BMI 23.8 ± 7.91 Kg.m⁻²) participated to the study. SS and DS protocols were administered during the first training session of the week, 48 hours after the championship match. Stretching protocols consisted in ~7 minutes of general warm-up phase followed by ~8 minutes of SS and DS, performed with a cross-over design., and ~15 minutes of a specific warm-up shooting phase (SP) Vertical jump tests consisted in counter movement jump (CMJ) and CMJ with arm swings (CMJas) and were performed immediately after the end of each stretching phase (preS, postS, postSP).

A significant decrease ($P=0.05$; $\eta^2_{\text{partial}}=0.29$) in jumping tests height occurred in CMJas, when performed after the SS (i.e, PostS). However, no significant differences in jumping performances, occurred after the general warm phase and the specific warm-up shooting phase, between the two stretching protocols.

These results would indicate that, overall, stretching routines either dynamic or static, performed before a basketball match are transient and affect only marginally leg muscles performance. Stretching routines, particularly the dynamic ones, may be useful to maintain muscle performance before a competition, provided that this latter begins shortly after.

Anker SD, Coats AJ, Cristian G, Dragomir D, Pusineri E, Piredda M, Bettari L, Dowling R, Volterrani M, Kirwan BA, Filippatos G, Mas JL, Danchin N, Solomon SD, Lee RJ, Ahmann F, Hinson A, Sabbah HN, Mann DL.

A prospective comparison of alginate hydrogel with standard medical therapy to determine impact on functional capacity and clinical outcomes in patients with advanced heart failure (AUGMENT-HF trial).

Eur Heart J. 2015 Sep 7;36(34):2297-2309.

AUGMENT-HF was an international, multi-centre, prospective, randomized, controlled trial to evaluate the benefits and safety of a novel method of left ventricular (LV) modification with alginate-hydrogel.

Alginate-hydrogel is an inert permanent implant that is directly injected into LV heart muscle and serves as a prosthetic scaffold to modify the shape and size of the dilated LV. Patients with advanced chronic heart failure (HF) were randomized (1 : 1) to alginate-hydrogel (n = 40) in combination with standard medical therapy or standard medical therapy alone (Control, n = 38). The primary endpoint of AUGMENT-HF was the change in peak VO₂ from baseline to 6 months. Secondary endpoints included changes in 6-min walk test (6MWT) distance and New York Heart Association (NYHA) functional class, as well as assessments of procedural safety.

Enrolled patients were 63 ± 10 years old, 74% in NYHA functional class III, had a LV ejection fraction of $26 \pm 5\%$ and a mean peak VO₂ of 12.2 ± 1.8 mL/kg/min. Thirty-five patients were successfully treated with alginate-hydrogel injections through a limited left thoracotomy approach without device-related complications; the 30-day surgical mortality was 8.6% (3 deaths). Alginate-hydrogel treatment was associated with improved peak VO₂ at 6 months-treatment effect vs. $+1.24$ mL/kg/min (95% confidence interval 0.26-2.23, $P = 0.014$). Also 6MWT distance and NYHA functional class improved in alginate-hydrogel-treated patients vs. Control (both $P < 0.001$).

Alginate-hydrogel in addition to standard medical therapy for patients with advanced chronic HF was more effective than standard medical therapy alone for improving exercise capacity and symptoms. The results of AUGMENT-HF provide proof of concept for a pivotal trial.

Armani A, Marzolla V, Fabbri A, Caprio M. Cellular mechanisms of MR regulation of adipose tissue physiology and pathophysiology.

J Mol Endocrinol. 2015 Oct;55(2):R1-R10. Epub 2015 Aug 13.

In addition to the well-documented expression and activity of the mineralocorticoid receptor (MR) in the kidney, in the last decade research on MR has also revealed its important role in regulating functions of extrarenal tissues, including adipose tissue, where MR is involved in adipocyte fundamental processes such as differentiation, autophagy and adipokine secretion. MR expression is increased in adipose tissue of murine models of obesity and in obese human subjects, suggesting that over-activation of the mineralocorticoid signaling leads to dysfunctional adipocyte and associated metabolic disorders. Notably, pharmacological blockade of MR prevents metabolic dysfunctions observed in obese mice and suggests a potential therapeutic use of MR antagonists in the treatment of obesity and metabolic syndrome. However, the molecular pathways affected by MR blockade have been poorly investigated. This review summarizes the functions of MR in the adipocyte, discusses potential signaling pathways mediating MR action, and describes post-translational modifications regulating its activity.

Borg JJ, Anker SD, Rosano G, Serracino-Inglott A, Strasser F.

Multimodal management as requirement for the clinical use of anticachexia drugs – a regulatory and a clinical perspective.

Curr Opin Support Palliat Care. 2015 Dec;9(4):333-345.

Multimodal management has been proposed as key to any effective drug intervention in cachexia. This article attempts to reflect on clinical and regulatory considerations of multimodal management treatment as a regulatory requirement in anticachexia drug therapy. To date, no European Union (EU) regulatory guidelines have been published and therefore this review could attempt to present and discuss some central issues to consider when developing an anticachexia drug.

The following themes are considered: EU regulatory pathways for drug approval (conditional and exceptional circumstances as well as adaptive licensing); selection criteria for randomized clinical trials allowing the identification and characterization of the population of interest that is an at-risk population with undisputable clinical need; issues related to primary and secondary outcome measures that are adequate to determine the efficacy of the intervention and the approach for the development of clinical biomarkers for cachexia.

Conversely, the incorporation of multimodal treatment in anticachexia drug therapy is expected

to increase the effectiveness of intervention. This aspect is the aspect that appeals to pharmaceutical companies; however, at the same time, this raises regulatory and clinical issues that need to be kept in mind when designing randomised clinical trials.

Brunetti ND, Scalvini S, Acquistapace F, Parati G, Volterrani M, Fedele F, Molinari G. Telemedicine for cardiovascular disease continuum: A position paper from the Italian Society of Cardiology Working Group on Telecardiology and Informatics. *Int J Cardiol.* 2015 Feb 25;184C:452-458. [Epub ahead of print]

Telemedicine is the provision of health care services, through the use of information and communication technology, in situations where the health care professional and the patient, or 2 health care professionals, are not in the same location. It involves the secure transmission of medical data and information, through text, sound, images, or other forms needed for the prevention, diagnosis, treatment, and follow-up of a patient. First data on implementation of telemedicine for the diagnosis and treatment of acute myocardial infarction date from more than 10 years ago. Telemedicine has a potential broad application to the cardiovascular disease continuum and in many branches of cardiology, at least including heart failure, ischemic heart disease and arrhythmias. Telemedicine might have an important role as part of a strategy for the delivery of effective health care for patients with cardiovascular disease. In this document the Working Group on Telecardiology and Informatics of the Italian Society of Cardiology intends to remark some key-points regarding potential benefit achievable with the implementation of telemedicine support in the continuum of cardiovascular disease.

Bugada D, De Gregori M, Compagnone C, Muscoli C, Raimondi F, Bettinelli S, Avanzini MA, Cobianchi L, Peloso A, Baciarello M, Dagostino C, Giancotti LA, Ilari S, Lauro F, Grimaldi S, Tasciotti E, Fini M, Sacconi GM, Meschi T, Fanelli G, Allegri M. Continuous wound infusion of local anesthetic and steroid after major abdominal surgery: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2015 Aug 14;16(1):357.

Inflammatory response is one of the key components of pain perception. Continuous infusion (CWI) of local anesthetics has been shown to be effective in controlling pain and reducing postoperative morphine consumption, but the effect of adding a potent anti-inflammatory drug (such as a steroid) has never been addressed. In our study, we want to investigate the effect of CWI with local anesthetic + methylprednisolone on acute and persistent pain, correlating clinical data with biomarkers of inflammation and genetic background.

After approval by their institutional review board, three hospitals will enroll 120 patients undergoing major abdominal surgery in a randomized, double-blind, phase III study. After a 24-h CWI of ropivacaine 0.2 % + methylprednisolone 1 mg/kg, patients will be randomly assigned to receive either ropivacaine + steroid or placebo for the next 24 h. Then, patient-controlled CWI with only ropivacaine 0.2 % or placebo (according to the group of randomization) is planned after 48 h up to 7 days (bolus 10 ml, lock-out 1 h, maximum dose of 40 ml in 4 h). Morphine equivalent consumption up to 7 days will be analyzed, together with any catheter- or drug-related side effect. Persistent post-surgical pain (PPSP) incidence will also be investigated. Our primary endpoint is analgesic consumption in the first 7 days after surgery; we will evaluate, as secondary endpoints, any catheter- or drug-related side effect, genotype/phenotype correlations between some polymorphisms and postoperative outcome in terms of morphine consumption, development of the inflammatory response, and incidence of PPSP. Finally, we will collect, in a subgroup of patients, wound exudate samples by micro-dialysis, blood samples, and urine samples up to 72 h to investigate local and systemic inflammation and oxidative stress.

This is a phase III trial to evaluate the safety and efficacy of wound infusion with steroid and local anesthetic. The study is aimed also to evaluate how long this infusion has to be maintained in

order to maximize effectiveness. Our data are intended to quantify the amount of ropivacaine and methylprednisolone needed by patients undergoing major abdominal surgery, to be stored in a new nanotechnology device for sustained pain treatment after surgery. We also aim to clarify the roles of inflammatory response, oxidative stress, and genetic background on postoperative and persistent pain after major abdominal surgery.

Cacciotti G, Caputo B, Selvaggi C, la Sala A, Vitiello L, Diallo D, Ceianu C, Antonelli G, Nowotny N, Scagnolari C. Variation in interferon sensitivity and induction between Usutu and West Nile (lineages 1 and 2) viruses. *Virology.* 2015 Aug 13;485:189-198. [Epub ahead of print]

Given the pivotal role of monocyte-derived dendritic cells (DCs) in determining the magnitude of the antiviral innate immune response, we sought to determine whether Usutu virus (USUV) and West Nile virus (WNV) lineages (L)1 and L2 can infect DCs and affect the rate of type I interferon (IFN) activation. The sensitivity of these viruses to types I and III IFNs was also compared. We found that USUV can infect DCs, induce higher antiviral activities, IFN alpha subtypes and the IFN stimulated gene (ISG)15 pathway, and is more sensitive to types I and III IFNs than WNVs. In contrast, we confirmed that IFN alpha/beta subtypes were more effective against WNV L2 than WNV L1. However, the replication kinetics, induction of IFN alpha subtypes and ISGs in DCs and the sensitivity to IFN lambda 1-3 did not differ between WNV L1 and L2.

Caminiti G, Cardaci V, Conti V, D'Antoni V, Murugesan J, Battaglia D, Volterrani M. Right ventricular systolic dysfunction is related to exercise intolerance in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Cardiopulm Rehabil Prev.* 2015 Jan-Feb;35(1):70-74.

The aim of the study is to evaluate the impact of right ventricular dysfunction on exercise tolerance and potential changes resulting from exercise training in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) undergoing pulmonary rehabilitation.

Subjects were 44 patients with a history of symptomatic (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease classes 2-4) COPD attending a 4-week aerobic exercise training program. Right ventricle dysfunction was evaluated by echocardiography at admission using tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE). Exercise tolerance was evaluated at admission and discharge using the 6-minute walk test (6MWT). Change in distance walked (Δ 6MWT) was defined as the difference between 6MWT distance at discharge minus distance at admission. Patients were divided into 2 groups according to the presence of right ventricle dysfunction (TAPSE \leq 16 mm).

Median age and left ventricular ejection fraction was 70.2 ± 5.2 years and $54.4 \pm 9.1\%$, respectively. Of the 44 patients, 14 (31.8%) had TAPSE \leq 16 mm. Baseline 6MWT distance was less in the group with TAPSE \leq 16 mm compared with TAPSE $>$ 16 mm (110.2 ± 34 vs 185.7 ± 41 , respectively; $P = .02$). After the training program, 6MWT distance increased in both groups, but there was less increase in the group with TAPSE \leq 16 mm compared with TAPSE $>$ 16 mm ($+24.3\%$ vs $+32.8\%$, respectively; $P < .001$). Tricuspid annular plane systolic excursion was significantly correlated to distance walked at the baseline 6MWT ($r = 0.44$; $P = .002$) and to Δ 6MWT ($r = .36$; $P = .006$).

Tricuspid annular plane systolic excursion \leq 16 mm was an indicator of decreased 6MWT distance at baseline and 6MWT distance change in COPD patients undergoing pulmonary rehabilitation. This relationship seems to be independent of pulmonary function.

Caminiti G, Fossati C, Rosano G, Volterrani M. Addition of ivabradine to betablockers in patients with atrial fibrillation: Effects on heart rate and exercise tolerance. *Int J Cardiol.* Epub 2015 Aug 31.

Capuano A, Coats AJ, Scavone C, Rossi F, Rosano GM. Disclosure of negative trial results. A call for action. *Int J Cardiol.* 2015 Jul 2;198:47-48.

Capuano A, Scavone C, Vitale C, Sportiello L, Rossi F, Rosano GM, Coats AJ.

Mineralocorticoid receptor antagonists in heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF). *Int J Cardiol.* 2015 Dec 1;200:15-19.

The role of spironolactone and eplerenone in patients with Heart Failure with preserved Ejection Fraction (HFpEF) is not well defined. Since a growing medical literature has suggested that mineralocorticoid receptor antagonists may be beneficial for patients with HFpEF, this review gives an in-depth update on the role of spironolactone and eplerenone and their implications for therapy in the setting of HFpEF. Eleven clinical studies, including seven randomized trials, were reviewed. Two randomized controlled trials evaluated the effect of eplerenone on different end-points, including 6 minute walk distance (6 MWD), cardiovascular mortality, non-fatal reinfarction, hospitalization for unstable angina and congestive heart failure. Eplerenone did not affect either 6 MWD or event-free survival rates in the overall study population in these two reports. The effects of spironolactone on similar composite endpoints were evaluated in 7 studies in patients with HFpEF. Compared to placebo, hospitalization for heart failure was significantly lower in the spironolactone group and spironolactone was also shown to improve diastolic function and induced beneficial remodeling through a reduction in myocardial fibrosis. The safety profile of spironolactone and eplerenone has been assessed in two recent studies. Data showed that eplerenone and spironolactone are both associated with the occurrence of gynecomastia, mastodynia, and abnormal vaginal bleeding and in addition, they can increase natriuresis and cause renal retention of potassium; furthermore, eplerenone may cause hyperkalemia and promote the onset of metabolic acidosis or hyponatremia. In conclusion although the mineralocorticoid receptor antagonists eplerenone and spironolactone improve clinical outcomes in patients with HFpEF, additional data will be necessary to better define their risk-benefit profile, especially for eplerenone, in the treatment of HFpEF.

Cunha PG, Cotter J, Oliveira P, Vila I, Boutouyrie P, Laurent S, Nilsson PM, Scuteri A, Sousa N. Pulse wave velocity distribution in a cohort study: from arterial stiffness to early vascular aging. *J Hypertens.* 2015 Jul;33(7):1438-1445

By contrast with other southern European people, north Portuguese population registers an especially high prevalence of hypertension and stroke incidence. We designed a cohort study to identify individuals presenting accelerated and premature arterial aging in the Portuguese population.

Pulse wave velocity (PWV) was measured in randomly sampled population dwellers aged 18-96 years from northern Portugal, and used as a marker of early vascular aging (EVA). Of the 3038 individuals enrolled, 2542 completed the evaluation.

Mean PWV value for the entire population was 8.4 m/s (men: 8.6 m/s; women: 8.2 m/s; $P < 0.02$). The individuals were classified with EVA if their PWV was at least 97.5th percentile of z-score for mean PWV values adjusted for age (using normal European reference values as comparators). The overall prevalence of EVA was 12.5%; 26.1% of individuals below 30 years presented this feature and 40.2% of individuals in that same age strata were placed above the 90th percentile of PWV; and 18.7% of the population exhibited PWV values above 10 m/s, with male predominance (17.2% of men aged 40-49 years had $PWV > 10$ m/s). Logistic regression models indicated gender differences concerning the risk of developing large artery damage, with women having the same odds of PWV above 10 m/s 10 years later than men.

The population PWV values were higher than expected in a low cardiovascular risk area (Portugal).

Del Principe D, Ruggieri A, Pietraforte D, Villani A, Vitale C, Straface E, Malorni W. The relevance of estrogen/estrogen receptor system on the gender difference in cardiovascular risk. *Int J Cardiol.* 2015 Mar 17;187:291-298.

It has been reported that the incidence of thrombotic events can display a gender disparity. In particular, a lower thrombotic risk has been described in female gender. The mechanisms underlying this disparity are still poorly understood. Of great interest is the hypothesis that hormones, estrogen in particular, could play a key role. In fact, the possibility that some hormonal factors could protect women from thrombotic events appears well documented in literature. For instance, several studies aimed at the analysis of the impact of estrogen and estrogen receptors in thrombogenesis claim for the implication of these hormones either in megakaryocyte differentiation or, more intriguingly, directly affecting platelet integrity and function. In consideration of the absence of the nucleus, platelet susceptibility appears quite striking and probably due to the non-nuclear estrogen receptor function. In this review we briefly summarize our knowledge as concerns the role of estrogen and estrogen receptors in determining megakaryocyte/platelet functions and thrombogenicity.

De Zio D, Molinari F, Rizza S, Gatta L, Ciotti MT, Salvatore AM, Mathiasen SG, Cwetsch AW, Filomeni G, Rosano G, Ferraro E. Apaf1-deficient cortical neurons exhibit defects in axonal outgrowth. *Cell Mol Life Sci.* 2015 Nov;72(21):4173-4191.

The establishment of neuronal polarity and axonal outgrowth are key processes affecting neuronal migration and synapse formation, their impairment likely leading to cognitive deficits. Here we have found that the apoptotic protease activating factor 1 (Apaf1), apart from its canonical role in apoptosis, plays an additional function in cortical neurons, where its deficiency specifically impairs axonal growth. Given the central role played by centrosomes and microtubules in the polarized extension of the axon, our data suggest that Apaf1-deletion affects axonal outgrowth through an impairment of centrosome organization. In line with this, centrosomal protein expression, as well as their centrosomal localization proved to be altered upon Apaf1-deletion. Strikingly, we also found that Apaf1-loss affects trans-Golgi components and leads to a robust activation of AMP-dependent protein kinase (AMPK), this confirming the stressful conditions induced by Apaf1-deficiency. Since AMPK hyper-phosphorylation is known to impair a proper axon elongation, our finding contributes to explain the effect of Apaf1-deficiency on axogenesis. We also discovered that the signaling pathways mediating axonal growth and involving glycogen synthase kinase-3 β , liver kinase B1, and collapsing-response mediator protein-2 are altered in Apaf1-KO neurons. Overall, our results reveal a novel non-apoptotic role for Apaf1 in axonal outgrowth, suggesting that the neuronal phenotype due to Apaf1-deletion could not only be fully ascribed to apoptosis inhibition, but might also be the result of defects in axogenesis. The discovery of new molecules involved in axonal elongation has a clinical relevance since it might help to explain neurological abnormalities occurring during early brain development.

Di Franco M, Gambardella L, DI Lollo AC, Malorni W, Valesini G, Straface E. Possible Implication of Red Blood Cells in the Prothrombotic Risk in Early Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol.* 2015 Jul;42(7):1352-1354.

Dillinger JG, Maher V, Vitale C, Henry P, Logeart D, Silberman SM, Allée G, Levy BI. Impact of Ivabradine on Central Aortic Blood Pressure and Myocardial Perfusion in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Hypertension.* 2015 Dec;66(6):1138-1144.

Treatment of hypertensive patients with β -blockers reduces heart rate and decreases central blood pressure less than other antihypertensive drugs, implying that reducing heart rate without altering brachial blood pressure could increase central blood pressure, explaining the increased cardiovascular risk reported with β -blocker. We describe a randomized, double-blind study to explore whether heart rate reduction with the If inhibitor ivabradine had an impact on central blood pressure. We included 12 normotensive patients with stable coronary artery disease, heart rate ≥ 70 bpm (sinus rhythm), and stable background β -blocker therapy. Patients received ivabradine 7.5 mg BID or matched placebo for two 3-week periods with a crossover design and evaluation by aplanation tonometry. Treatment with ivabradine was associated with a significant reduction in resting heart rate after 3 weeks versus no change with placebo (-15.8 ± 7.7 versus $+0.3 \pm 5.8$ bpm; $P=0.0010$). There was no relevant between-group difference in change in central aortic systolic blood pressure (-4.0 ± 9.6 versus $+2.4 \pm 12.0$ mm Hg; $P=0.13$) or augmentation index ($-0.8 \pm 10.0\%$ versus $+0.3 \pm 7.6\%$; $P=0.87$). Treatment with ivabradine was associated with a modest increase in left ventricular ejection time ($+18.5 \pm 17.8$ versus $+2.8 \pm 19.3$ ms; $P=0.074$) and a prolongation of diastolic perfusion time ($+215.6 \pm 105.3$ versus -3.0 ± 55.8 ms with placebo; $P=0.0005$). Consequently, ivabradine induced a pronounced increase in Buckberg index, an index of myocardial viability ($+39.3 \pm 27.6\%$ versus $-2.5 \pm 13.5\%$ with placebo; $P=0.0015$). In conclusion, heart rate reduction with ivabradine does not increase central aortic blood pressure and is associated with a marked prolongation of diastolic perfusion time and an improvement in myocardial perfusion index.

Efficace F, Fayers P, Pusic A, Cemal Y, Yanagawa J, Jacobs M, la Sala A, Cafaro V, Whale K, Rees J, Blazeby J; European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality-of-Life Group (Patient-Reported Outcome Measurements Over Time in Oncology Registry). Quality of patient-reported outcome reporting across cancer randomized controlled trials according to the CONSORT patient-reported outcome extension: A pooled analysis of 557 trials. *Cancer*. 2015 Sep 15;121(18):3335-3342. Epub 2015 Jun 16.

including the CONSORT PRO extension and the Cochrane Collaboration's tool for assessing the risk of bias of RCTs. Analyses were also conducted by the type of PRO endpoint (primary vs secondary) and by the cancer disease site.

A total of 56,696 potentially eligible records were scrutinized, and 557 RCTs with a PRO evaluation, enrolling 254,677 patients overall, were identified. PROs were most frequently used in RCTs of breast ($n = 123$), lung ($n = 85$), and colorectal cancer ($n = 66$). Overall, PROs were secondary endpoints in 421 RCTs (76%). Four of 6 evaluated CONSORT PRO items were documented in less than 50% of the RCTs. The level of reporting was higher in RCTs with a PRO as a primary endpoint. The presence of a supplementary report was the only statistically significant factor associated with greater completeness of reporting for both RCTs with PROs as primary endpoints ($\beta = .19$, $P = .001$) and RCTs with PROs as secondary endpoints ($\beta = .30$, $P < .001$).

Implementation of the CONSORT PRO extension is equally important across all cancer specialties. Its use can also contribute to revealing the robust PRO design of some studies, which might be obscured by poor outcome reporting.

Oral glucose-lowering medications are associated with excess risk of heart failure (HF). Given the absence of comparative data among drug classes, we performed a retrospective study in 32 Health Services of 16 Italian regions accounting for a population of 18 million individuals, to assess the association between HF risk and use of sulphonylureas, DPP-4i, and glitazones.

We extracted data on patients with type 2 diabetes who initiated treatment with DPP-4i, thiazolidinediones, or sulphonylureas alone or in combination with metformin during an accrual time of 2 years. The endpoint was hospitalization for HF (HHF) occurring after the first 6 months of therapy, and the observation was extended for up to 4 years. A total of 127 555 patients were included, of whom 14.3% were on DPP-4i, 72.5% on sulphonylurea, 13.2% on thiazolidinediones, with average

70.7% being on metformin as combination therapy. Patients in the three groups differed significantly for baseline characteristics: age, sex, Charlson index, concurrent medications, and previous cardiovascular events. During an average 2.6-year follow-up, after adjusting for measured confounders, use of DPP-4i was associated with a reduced risk of HHF compared with sulphonylureas [hazard ratio (HR) 0.78; 95% confidence interval (CI) 0.62-0.97; $P = 0.026$]. After propensity matching, the analysis was restricted to 39 465 patients, and the use of DPP-4i was still associated with a lower risk of HHF (HR 0.70; 95% CI 0.52-0.94; $P = 0.018$).

In a very large observational study, the use of DPP-4i was associated with a reduced risk of HHF when compared with sulphonylureas.

earon K, Argiles JM, Baracos VE, Bernabei R, Coats A, Crawford J, Deutz NE, Doehner W, Evans WJ, Ferrucci L, Garcia JM, Gralla RJ, Jatoi A, Kalantar-Zadeh K, Lainscak M, Morley JE, Muscaritoli M, Polkey MI, Rosano G, Rossi-Fanelli F, Schols AM, Strasser F, Vellas B, von Haehling S, Anker SD. Request for regulatory guidance for cancer cachexia intervention trials. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2015 Dec;6(4):272-274. Epub 2015 Nov 11.

Ferrari D, Vitiello L, Idzko M, la Sala A.

Fadini GP, Avogaro A, Degli Esposti L, Russo P, Saragoni S, Buda S, Rosano G, Pecorelli S, Pani L; OsMed Health-DB Network.

Risk of hospitalization for heart failure in patients with type 2 diabetes newly treated with DPP-4 inhibitors or other oral glucose-lowering medications: a retrospective registry study on 127,555 patients from the Nationwide OsMed Health-DB Database. *Eur Heart J*. 2015 Sep 21;36(36):2454-2462. Epub 2015 Jun 25.

Purinergic signaling in atherosclerosis.

Trends Mol Med. 2015 Jan 27. [Epub ahead of print]

Cell surface expression of specific receptors and ecto-nucleotidases makes extracellular nucleotides such as ATP, ADP, UTP, and adenosine suitable as signaling molecules for physiological and pathological events, including tissue stress and damage. Recent data have revealed the participation of purinergic signaling in atherosclerosis, depicting a scenario in which, in addition to some exceptions reflecting dual effects of individual receptor subtypes, adenosine and most P1 receptors, as well as ecto-nucleotidases, show a protective, anti-atherosclerotic function. By contrast, P2 receptors promote atherosclerosis. In consideration of these findings, modulation of purinergic signaling would represent an innovative and valuable tool to counteract atherosclerosis. We summarize recent developments on the participation of the purinergic network in atheroma formation and evolution.

Freudenberger RS, Cheng B, Mann DL, Thompson JL, Sacco RL, Buchsbaum R, Sanford A, Pullicino PM, Levin B, Teerlink JR, Graham S, Mohr JP, Labovitz AJ, Di Tullio MR, Lip GY, Estol CJ, Lok DJ, Ponikowski P, Anker SD, Homma S; WARCEF Investigators.

The first prognostic model for stroke and death in patients with systolic heart failure. *J Cardiol*. 2015 Nov 5. [Epub ahead of print]

Patients with systolic heart failure (HF) are at increased risk of both ischemic stroke and death. Currently, no risk scores are available to identify HF patients at high risk of stroke or death. The Warfarin vs. Aspirin in Reduced Cardiac Ejection Fraction (WARCEF) trial studied 2305 HF patients, in sinus rhythm, followed for up to 6 years (3.5 ± 1.5 years). This trial showed no overall difference in those treated with warfarin vs aspirin with regard to death or stroke. The present study develops the first prognostic model to identify patients at higher risk of stroke or death based on their overall risk profile.

A scoring algorithm using 8 readily obtainable clinical characteristics as predictors, age, gender, hemoglobin, blood urea nitrogen, ejection fraction, diastolic blood pressure, diabetes status, and prior stroke or transient ischemic attack (C-index=0.65, 95% CI: 0.613-0.681), was developed. It was validated internally using a bootstrap method. In predicting 1-year survival for death alone, our 8-predictor model had an AUC of 0.63 (95% CI: 0.579-0.678) while the 14-predictor Seattle model had an AUC of 0.72. The Seattle model did not report stroke.

This novel prognostic model predicts the overall risk of ischemic stroke or death for HF patients. This model compares favorably for death with the Seattle model and has the added utility of including stroke as an endpoint. Use of this model will help identify those patients in need of more intensive monitoring and therapy and may help identify appropriate populations for trials of new therapies.

Giallauria F, Fattiroli F, Tramarin R, Ambrosetti M, Griffo R, Riccio C, De Feo S, Piepoli MF, Vigorito C; ISYDE-2008 Investigators of Italian Association for Cardiovascular Prevention, Rehabilitation (GICR-IACPR).

Clinical characteristics and course of patients with diabetes entering cardiac rehabilitation. *Diabetes Res Clin Pract.* 2015 Feb;107(2):267-272.

Using data from the Italian Survey on Cardiac Rehabilitation (ISYDE-2008), this study provides insight into the level of implementation of Cardiac Rehabilitation (CR) in patients with diabetes. Data from 165 CR units were collected online from January 28th to February 10th, 2008.

The study cohort consisted of 2281 patients (66.9 ± 12 yrs); 475 (69.7 ± 10 yrs, 74% male) patients with diabetes and 1806 (66.2 ± 12 yrs, 72% male) non-diabetic patients. Compared to non-diabetic patients, patients with diabetes were older and showed more comorbidity [myocardial infarction (32% vs. 19%, $p < 0.0001$), peripheral artery disease (10% vs. 5%, $p < 0.0001$), chronic obstructive pulmonary disease (20% vs. 11%, $p < 0.0001$), chronic kidney disease (20% vs. 6%, $p < 0.0001$), and cognitive impairment (5% vs. 2%, $p = 0.0009$), respectively], and complications during CR [re-infarction (3% vs. 1%, $p = 0.04$), acute renal failure (9% vs. 4%, $p < 0.0001$), sternal revision (3% vs. 1%, $p = 0.01$), inotropic support/mechanical assistance (7% vs. 4%, $p = 0.01$), respectively]; a more complex clinical course and interventions with less functional evaluation and a different pattern of drug therapy at hospital discharge. Notably, in 51 (3%) and in 104 (6%) of the non-diabetic cohort, insulin and hypoglycemic agents were prescribed, respectively, at hospital discharge from CR suggesting a careful evaluation of the glycemic metabolism during CR program, independent of the diagnosis at the admission. Mortality was similar among diabetic compared to non-diabetic patients (1% vs. 0.5%, $p = 0.23$).

This survey provided a detailed overview of the clinical characteristics, complexity and more severe clinical course of diabetic patients admitted to CR.

Harinstein ME, Butler J, Greene SJ, Fonarow GC, Stockbridge NL, O'Connor CM, Pfeffer MA, Mehra MR, Solomon SD, Yancy CW, Fiuzat M, Mentz RJ, Collins SP, McMurray JJ, Vaduganathan M, Dunnmon PM, Rosano GM, Dinh W, Misselwitz F, Bonow RO, Gheorghiu M.

Site selection for heart failure clinical trials in the USA.

Heart Fail Rev. 2015 Feb 4. [Epub ahead of print]

There are more than 1 million primary hospitalizations for heart failure (HF) annually in the USA alone, and post-discharge outcomes remain persistently poor despite available therapies and quality improvement initiatives. Recent international randomized clinical trials in hospitalized HF have repeatedly failed to improve this post-discharge event rate. A potential reason for this persistent lack of clinical trial success that has not previously received significant attention relates to site selection and the generally low level of patient enrollment from the USA. Only ~5 % of US hospitals participate in clinical trials, and in four recent randomized trials of hospitalized HF, only one-third of patients were enrolled in North America.

This poor participation among US centers has necessitated disproportionate enrollment from non-US sites. Regional variations in HF patient characteristics and clinical outcomes are well documented, and a lack of US patient representation in clinical trials limits the generalizability of results and presents obstacles for US regulatory agency approval. There are multiple impediments to successful US enrollment including a lack of incentive for investigators and institutions, the relative value unit-based compensation system, poor institutional framework for identification of appropriate patients, and increasing liability to conduct trials. In this manuscript, we specifically identify barriers to successful hospitalized HF clinical trial participation in the USA and suggest possible solutions.

Janda E, Lascalea A, Carresi C, Parafati M, Aprigliano S, Russo V, Savoia C, Ziviani E, Musolino V, Morani F, Isidoro C, Mollace V.

Parkinsonian toxin-induced oxidative stress inhibits basal autophagy in astrocytes via NQO2/quinone oxidoreductase 2: Implications for neuroprotection.

Autophagy. 2015;11(7):1063-1080.

Oxidative stress (OS) stimulates autophagy in different cellular systems, but it remains controversial if this rule can be generalized. We have analyzed the effect of chronic OS induced by the parkinsonian toxin paraquat (PQ) on autophagy in astrocytoma cells and primary astrocytes, which represent the first cellular target of neurotoxins in the brain. PQ decreased the basal levels of LC3-II and LC3-positive vesicles, and its colocalization with lysosomal markers, both in the absence and presence of chloroquine. This was paralleled by increased number and size of SQSTM1/p62 aggregates. Downregulation of autophagy was also observed in cells chronically exposed to hydrogen peroxide or nonlethal concentrations of PQ, and it was associated with a reduced astrocyte capability to protect dopaminergic cells from OS in co-cultures. Surprisingly, PQ treatment led to inhibition of MTOR, activation of MAPK8/JNK1 and MAPK1/ERK2-MAPK3/ERK1 and upregulation of BECN1/Beclin 1 expression, all signals typically correlating with induction of autophagy. Reduction of OS by NMDPEF, a specific NQO2 inhibitor, but not by N-acetylcysteine, abrogated the inhibitory effect of PQ and restored autophagic flux. Activation of NQO2 by PQ or menadione and genetic manipulation of its expression confirmed the role of this enzyme in the inhibitory action of PQ on autophagy. PQ did not induce NFE2L2/NRF2, but when it was co-administered with NMDPEF NFE2L2 activity was enhanced in a SQSTM1-independent fashion. Thus, a prolonged OS in astrocytes inhibits LC3 lipidation and impairs autophagosome formation and autophagic flux, in spite of concomitant activation of several pro-autophagic signals. These findings outline an unanticipated neuroprotective role of astrocyte autophagy and identify in NQO2 a novel pharmacological target for its positive modulation.

Lainscak M, Pelliccia F, Rosano G, Vitale C, Schiariti M, Greco C, Speziale G, Gaudio C.

Safety profile of mineralocorticoid receptor antagonists: Spironolactone and eplerenone.

Int J Cardiol. 2015 12/1;200:25-29.

Spironolactone was first developed over 50 years ago as a potent mineralocorticoid receptor antagonist with undesirable side effects; it was followed a decade ago by eplerenone, which is less potent but much more mineralocorticoid receptor-specific. From a marginal role as a potassium-sparing diuretic, spironolactone has been shown to be an extraordinarily effective adjunctive agent in the treatment of progressive heart failure. Also, spironolactone is safe and protective in arterial hypertension, particularly in patients with so-called resistant hypertension. Eplerenone is the second oral aldosterone antagonist available for the treatment of arterial hypertension and heart failure. Treatment with eplerenone has been associated with decreased blood pressure and improved survival for patients with heart failure and reduced left ventricular ejection fraction. Due to the selectivity of eplerenone for the aldosterone receptor, severe adverse effects such as gynecomastia and vaginal bleeding seem to be less likely in patients who take eplerenone than in

those who take spironolactone. The most common and potentially dangerous side effect of spironolactone--hyperkalemia--is also observed with eplerenone but the findings from clinical trials do not indicate more hyperkalemia induced drug withdrawals. Treatment with eplerenone should be initiated at a dosage of 25mg once daily and titrated to a target dosage of 50mg once daily preferably within 4 weeks. Serum potassium levels and renal function should be assessed prior to initiating eplerenone therapy, and periodic monitoring is recommended, especially in patients at high risk of developing hyperkalemia.

Lamoke F, Mazzone V, Persichini T, Maraschi A, Harris MB, Venema RC, Colasanti M, Gliozzi M, Muscoli C, Bartoli M, Mollace V.

Amyloid peptide-induced inhibition of endothelial nitric oxide production involves oxidative stress-mediated constitutive eNOS/HSP90 interaction and disruption of agonist-mediated Akt activation.

J Neuroinflammation. 2015 May 3;12(1):84.

Amyloid β ($A\beta$)-induced vascular dysfunction significantly contributes to the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). $A\beta$ is known to impair endothelial nitric oxide synthase (eNOS) activity, thus inhibiting endothelial nitric oxide production (NO).

In this study, we investigated $A\beta$ -effects on heat shock protein 90 (HSP90) interaction with eNOS and Akt in cultured vascular endothelial cells and also explored the role of oxidative stress in this process.

Treatments of endothelial cells (EC) with $A\beta$ promoted the constitutive association of HSP90 with eNOS but abrogated agonist (vascular endothelial growth factor (VEGF))-mediated HSP90 interaction with Akt. This effect resulted in blockade of agonist-mediated phosphorylation of Akt and eNOS at serine 1179. Furthermore, $A\beta$ stimulated the production of reactive oxygen species in endothelial cells and concomitant treatments of the cells with the antioxidant N-acetyl-cysteine (NAC) prevented $A\beta$ effects in promoting HSP90/eNOS interaction and rescued agonist-mediated Akt and eNOS phosphorylation.

The obtained data support the hypothesis that oxidative damage caused by $A\beta$ results in altered interaction of HSP90 with Akt and eNOS, therefore promoting vascular dysfunction. This mechanism, by contributing to $A\beta$ -mediated blockade of nitric oxide production, may significantly contribute to the cognitive impairment seen in AD patients.

Mann DL, Lee RJ, Coats AJ, Neagoe G, Dragomir D, Pusineri E, Piredda M, Bettari L, Kirwan BA, Dowling R, Volterrani M, Solomon SD, Sabbah HN, Hinson A, Anker SD.

One-year follow-up results from AUGMENT-HF: a multicentre randomized controlled clinical trial of the efficacy of left ventricular augmentation with Algisyl in the treatment of heart failure.

Eur J Heart Fail. 2015 Nov 11. [Epub ahead of print].

AUGMENT-HF was an international, multicentre, prospective, open-label, randomized, controlled evaluation testing the hypothesis that Algisyl (injectable calcium alginate hydrogel) is superior to standard medical therapy (SMT) for improving functional capacity and clinical outcomes in patients with advanced heart failure (HF). We previously reported results following 6 months of follow-up. This report presents the results from 1 year of extended follow up for this clinical trial. We enrolled 78 patients with advanced HF, randomized (1:1), to Algisyl with SMT or SMT alone as previously reported. Patient inclusion criteria were LVEF $\leq 35\%$, peak VO₂ of 9.0-14.5 mL/min/kg and LV end-diastolic diameter (LVEDD) index 30-40 mm/m² (LVEDD/body surface area). Patients must have been on stable, evidence-based therapy for HF. A total of 58 patients, mean age 62.3 \pm 9.6 years, with ischaemic (57.7%) or non-ischaemic (42.3%) HF completed 12 months of follow-up. Treatment with Algisyl was associated with improved peak VO₂ at 12 months; treatment effect vs. control of +2.10 mL/kg/min (95% confidence interval 0.96-3.24, P < 0.001). Statistically significant improvements were observed for VO₂ at anaerobic threshold, 6-min walk test distance, and

NYHA functional class (all P < 0.001). Through 12 months of follow-up there were 4 (10.5%) deaths in the control group and 9 (22.5%) deaths in the Algisyl group.

Algisyl in addition to SMT was more effective than SMT alone for providing sustained 1-year benefits in exercise capacity, symptoms, and clinical status for patients with advanced HF. These data support larger clinical evaluations of this novel therapy.

Manzi V, Bovenzi A, Castagna C, Sinibaldi Salimei P, Volterrani M, Iellamo F.

Training Load Distribution in Endurance Runners: Objective vs Subjective Assessment.

Int J Sports Physiol Perform. 2015 Nov;10(8):1023-1028.

The aim of the study is to assess the distribution of exercise intensity in long-distance recreational athletes (LDRs) preparing for a marathon and to test the hypothesis that individual perception of effort could provide training responses similar to those provided by standardized training methodologies.

Seven LDRs (age 36.5 \pm 3.8 y) were followed during a 5-mo training period culminating with a city marathon. Heart rate at 2.0 and 4.0 mmol/L and maximal heart rate were used to establish 3 intensity training zones. Internal training load (TL) was assessed by training zones and TRIMPi methods. These were compared with the session-rating-of-perceived-exertion (RPE) method.

Total time spent in zone 1 was higher than in zones 2 and 3 (76.3% \pm 6.4%, 17.3% \pm 5.8%, and 6.3% \pm 0.9%, respectively; P = .000 for both, ES = 0.98, ES = 0.99). TL quantified by session-RPE provided the same result. The comparison between session-RPE and training-zones-based methods showed no significant difference at the lowest intensity (P = .07, ES = 0.25). A significant correlation was observed between TL RPE and TL TRIMPi at both individual and group levels (r = .79, P < .001). There was a significant correlation between total time spent in zone 1 and the improvement at the running speed of 2 mmol/L (r = .88, P < .001). A negative correlation was found between running speed at 2 mmol/L and the time needed to complete the marathon (r = -.83, P < .001).

These findings suggest that in recreational LDRs most of the training time is spent at low intensity and that this is associated with improved performances. Session-RPE is an easy-to-use training method that provides responses similar to those obtained with standardized training methodologies.

Marazzi G, Pelliccia F, Campolongo G, Quattrino S, Cacciotti L, Volterrani M, Gaudio C, Rosano G. Usefulness of nutraceuticals (armolipid plus®) versus ezetimibe and combination in statin-intolerant dyslipidemia patients with coronary heart disease.

Am J Cardiol. 2015 Dec 15;116(12):1798-1801.

Statins are extensively used to treat dyslipidemia, but, because of their low tolerability profile, they are discontinued in a significant proportion of patients. Ezetimibe and nutraceuticals have been introduced as alternative therapies and have proved to be effective and well tolerated. A single-blind, single-center, randomized, prospective, and parallel group trial comparing a combination of nutraceuticals (red yeast rice, policosanol, berberine, folic acid, coenzyme Q10 and astaxanthin), called Armolipid Plus, and ezetimibe for 3 months in terms of efficacy and tolerability. Patients who did not achieve their therapeutic target (low-density lipoprotein cholesterol <100 mg/dl) could add the alternative treatment on top of randomized treatment for another 12 months: 100 patients who are dyslipidemic with ischemic heart disease treated with percutaneous coronary intervention were enrolled (ezetimibe n = 50, nutraceutical n = 50). Efficacy (lipid profile) and tolerability (adverse events, transaminases, and creatine kinase) were assessed after 3 and 12 months. After 3 months, 14 patients in the nutraceutical group achieved their therapeutic target, whereas none of the patients in the ezetimibe group did. At 1-year follow-up, 58 patients (72.5%) of the combined therapy group (n = 86) and 14 (100%) of the nutraceutical group reached the therapeutic goal. No patients experienced important undesirable effects. In conclusion,

nutraceuticals alone or in combination with ezetimibe are well tolerated and improve the lipid profile in statin-intolerant patients with coronary heart disease. Further studies are needed to assess long-term effects of nutraceuticals on mortality.

Maselli A, Pierdominici M, Vitale C, Ortona E.

Membrane lipid rafts and estrogenic signalling: a functional role in the modulation of cell homeostasis. *Apoptosis*. 2015 May;20(5):671-678.

It has become widely accepted that along with their ability to directly regulate gene expression, estrogens also influence cell signalling and cell function via rapid membrane-initiated events. Many of these signalling processes are dependent on estrogen receptors (ER) localized to the plasma membrane. However, the mechanisms by which ER are able to trigger cell signalling when targeted to the membrane surface have to be determined yet. Lipid rafts seem to be essential for the plasma membrane localization of ER and play a critical role in their membrane-initiated effects. In this review, we briefly recapitulate the localization and function of ER in different cell types and mostly discuss the possible role of lipid rafts in this context. Further studies in this field may disclose new promising therapeutic avenues by the disruption of lipid rafts in those diseases in which membrane ER activation has been demonstrated to play a pathogenetic role.

Mollace V, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Muscoli S, Mollace R, Tavernese A, Gratteri S, Palma E, Chiara M, Vitale C, Muscoli C, Fini M, Romeo F.

Oxidized LDL attenuates protective autophagy and induced apoptotic cell death of endothelial cells: Role of oxidative stress and LOX-1 receptor expression.

Int J Cardiol. 2015 Apr 1;184:152-8. Epub 2015 Feb 11.

Overproduction of oxidized-low density lipoproteins (oxLDLs) has been found to contribute in endothelial cell (EC) dysfunction thereby leading to atherosclerosis development and progression. In particular, oxLDLs lead to apoptotic cell death of EC via oxidative stress production, mostly subsequent to the overexpression of the scavenger receptor LOX-1. Here, we hypothesize that LOX-1 expression in EC represents a crucial event which attenuates protective autophagic response, thereby enhancing programmed endothelial cell death.

Bovine aortic endothelial cells (BAECs) in culture were exposed to oxLDL (1-100 μ M). After 48 h incubation, oxLDL produced pronounced malondialdehyde (MDA) elevation and apoptotic cell death of BAEC as detected by FACS analysis, an effect counteracted by antioxidant N-acetylcysteine (NAC) as well as by the NO-donor SNAP. OxLDL-induced apoptotic cell death was also accompanied by reduced VEGF-dependent phosphorylation of constitutive NO synthase (cNOS) in BAEC and consistent attenuation of autophagic response as detected by the expression of Beclin-1 and LC3, two reliable biomarkers of autophagy. Moreover, silencing LOX-1 receptor significantly restored LC3 expression in oxLDL-treated BAEC, thus suggesting a key role of LOX-1 overproduction in oxLDL-induced endothelial dysfunction.

OxLDL leads to impaired NO generation and apoptotic cell death in BAECs. This effect occurs via the overexpression of LOX-1 and subsequent attenuation of protective autophagic response thereby contributing to the pathophysiology of oxLDL-induced endothelial dysfunction which characterizes early stages of atherosclerotic process.

Neri M, Frustaci A, Milic M, Valdiglesias V, Fini M, Bonassi S, Barbanti P.

A meta-analysis of biomarkers related to oxidative stress and nitric oxide pathway in migraine.

Cephalalgia. 2015 Sep;35(10):931-937.

Oxidative and nitrosative stress are considered key events in the still unclear pathophysiology of migraine. Studies comparing the level of biomarkers related to nitric oxide (NO) pathway/oxidative stress in the blood/urine of migraineurs vs. unaffected controls were extracted from the

PubMed database. Summary estimates of mean ratios (MR) were carried out whenever a minimum of three papers were available. Nineteen studies were included in the meta-analyses, accounting for more than 1000 patients and controls, and compared with existing literature.

Most studies measuring superoxide dismutase (SOD) showed lower activity in cases, although the meta-analysis in erythrocytes gave null results. On the contrary, plasma levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), an aspecific biomarker of oxidative damage, showed a meta-MR of 2.20 (95% CI: 1.65-2.93). As for NOs, no significant results were found in plasma, serum and urine. However, higher levels were shown during attacks, in patients with aura, and an effect of diet was found. The analysis of glutathione precursor homocysteine and asymmetric dimethylarginine (ADMA), an NO synthase inhibitor, gave inconclusive results.

The role of the oxidative pathway in migraine is still uncertain. Interesting evidence emerged for TBARS and SOD, and concerning the possible role of diet in the control of NOx levels.

Onder G, Marengoni A, Russo P, Degli Esposti L, Fini M, Monaco A, Bonassi S, Palmer K, Marrocco W, Pozzi G, Sangiorgi D, Buda S, Marchionni N, Mammarella F, Bernabei R, Pani L, Pecorelli S; Geriatrics Working Group of the Italian Medicines Agency (Agenzia Italiana del Farmaco, AIFA); Medicines Utilization Monitoring Center Health Database Network.

Advanced Age and Medication Prescription: More Years, Less Medications? A Nationwide Report From the Italian Medicines Agency.

J Am Med Dir Assoc. 2015 Sep 30. [Epub ahead of print]

In older adults co-occurrence of multiple diseases often leads to use of multiple medications (polypharmacy). The aim of the present study is to describe how prescription of medications varies across age groups, with specific focus on the oldest old.

We performed a cross-sectional study using 2013 data from the OsMed Health-DB database (mean number of medicines and defined daily doses prescribed in 15,931,642 individuals). There were 3,378,725 individuals age 65 years or older (21.2% of the study sample).

The mean number of prescribed medications progressively rose from 1.9 in the age group <65 years to 7.4 in the age group 80-84 years and then declined, with a more marked reduction in the age group 95 years or older with a mean number of 2.8 medications. A similar pattern was observed for the mean number of defined daily doses. Among participants age \geq 65 years, proton pump inhibitors were the most commonly prescribed medication (40.9% of individuals \geq 65 years), followed by platelet aggregation inhibitors (32.8%) and hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (26.1%). A decline in prescription was observed among individuals age 90 years or older, but this reduction was less consistent for medications used to treat acute conditions (ie, antibiotics and glucocorticoids) rather than preventive medicines commonly used to treat chronic diseases (ie, antihypertensive medications and hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors).

The burden of medication treatment progressively increases till age 85 and substantially declines after age of 90 years. Patterns of medication prescription widely vary across age groups.

Packer M, McMurray JJ, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkala AR, Rouleau JL, Shi VC, Solomon SD, Swedberg K, Zile M, Andersen K, Arango JL, Arnold JM, Bělohávek J, Böhm M, Boytsov S, Burgess LJ, Cabrera W, Calvo C, Chen CH, Dukat A, Duarte YC, Erglis A, Fu M, Gomez E, González-Medina A, Hagège AA, Huang J, Katova T, Kiatchoosakun S, Kim KS, Kozan Ö, Llamas EB, Martinez F, Merkely B, Mendoza I, Mosterd A, Negrusz-Kawecka M, Peuhkurinen K, Ramirez FJ, Refsgaard J, Rosenthal A, Senni M, Sibulo AS Jr, Silva-Cardoso J, Squire IB, Starling RC, Teerlink JR, Vanhaecke J, Vinereanu D, Wong RC; PARADIGM-HF Investigators and Coordinators.

Angiotensin receptor neprilysin inhibition compared with enalapril on the risk of clinical progression in surviving patients with heart failure.

Circulation. 2015 Jan 6;131(1):54-61.

Clinical trials in heart failure have focused on the improvement in symptoms or decreases in the risk of death and other cardiovascular events. Little is known about the effect of drugs on the risk of clinical deterioration in surviving patients.

We compared the angiotensin-neprilysin inhibitor LCZ696 (400 mg daily) with the angiotensin-converting enzyme inhibitor enalapril (20 mg daily) in 8399 patients with heart failure and reduced ejection fraction in a double-blind trial. The analyses focused on prespecified measures of nonfatal clinical deterioration. In comparison with the enalapril group, fewer LCZ696-treated patients required intensification of medical treatment for heart failure (520 versus 604; hazard ratio, 0.84; 95% confidence interval, 0.74-0.94; $P=0.003$) or an emergency department visit for worsening heart failure (hazard ratio, 0.66; 95% confidence interval, 0.52-0.85; $P=0.001$). The patients in the LCZ696 group had 23% fewer hospitalizations for worsening heart failure (851 versus 1079; $P<0.001$) and were less likely to require intensive care (768 versus 879; 18% rate reduction, $P=0.005$), to receive intravenous positive inotropic agents (31% risk reduction, $P<0.001$), and to have implantation of a heart failure device or cardiac transplantation (22% risk reduction, $P=0.07$). The reduction in heart failure hospitalization with LCZ696 was evident within the first 30 days after randomization. Worsening of symptom scores in surviving patients was consistently more common in the enalapril group. LCZ696 led to an early and sustained reduction in biomarkers of myocardial wall stress and injury (N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and troponin) versus enalapril.

Angiotensin-neprilysin inhibition prevents the clinical progression of surviving patients with heart failure more effectively than angiotensin-converting enzyme inhibition.

Pani L, Pecorelli S, Rosano G, Anker SD, Peracino A, Fregonese L, Prasad K, Rasi G.
Steps forward in regulatory pathways for acute and chronic heart failure.
Review Eur J Heart Fail. 2015 Jan;17(1):3-8.

A workshop was organized by the Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) to discuss unmet needs and ways forward in the development of medicines in heart failure, their rationale, and cost-effective use. An integrated, multidisciplinary approach, including patients' needs and perspectives, was advocated by all the participants as the way to the most effective treatment regimens. More work is needed for reaching consensus on clinical and functional endpoints, for validating patient reported outcomes and measurements of well-being. Similarly, the integration into the clinical programmes of the health technology assessment/payers perspective, in particular, the evaluation of 'real-life' treatment effectiveness and of health as a value, would help in shifting the development and authorization of medicines from the molecule paradigm to their evaluation in the context of the whole health care regimen. Through this kind of workshop, AIFA is trying to build a template for meetings devoted to debate unmet needs with all stakeholders towards tentative road maps for the future.

Paoloni M, Bernetti A, Belelli A, Brignoli O, Buoso S, Caputi AP, Catani F, Coclite D, Fini M, Mantovani L.
Appropriateness of clinical and organizational criteria for intra-articular injection therapies in osteoarthritis. A delphi method consensus initiative among experts in Italy.
Ann Ist Super Sanità. 2015;51(2):5-12.

The aim of the study was to identify the main aspects involved in patient selection, the choice of therapeutic agents and the safety profile, as well as the medico-legal and organizational aspects of intra-articular injection therapies for osteoarthritis.

A committee of 10 experts from Italian universities, public hospitals, territorial services, research institutes and patient associations was set up. Fifty-two clinicians from a large number of Italian medical centers specialized in intra-articular injection therapy took part in a Delphi process aimed at obtaining consensus statements among the participants.

Large consensus was obtained for statements grouped under the following main themes: treatment indications; drug/medical device choice; treatment efficacy; and appropriate setting. The consensus statements developed by a large number of experts may be used as a practical reference tool to help physicians treat osteoarthritis patients by means of intra-articular injection therapies.

Paoloni M, Tavernese E, Cacchio A, D' Orazi V, Ioppolo F, Fini M, Santilli V, Mangone M.
Extracorporeal shock wave therapy and ultrasound therapy improve pain and function in patients with carpal tunnel syndrome. A randomized controlled trial.
Eur J Phys Rehabil Med. 2015 Oct;51(5):521-528.

Ultrasound (US) therapy improves symptoms in carpal tunnel syndrome (CTS) patients. Extracorporeal shock wave therapy (ESWT) uses acoustic energy to determine its clinical effects, as US-therapy does.

The aim of this study was to compare the short-term efficacy of US and ESWT on mild and moderate CTS.

Study design: Randomized controlled trial.

Setting: University outpatient service.

Population: Twenty-five patients with mild to moderate CTS, for a total of 42 wrists.

Patients were randomized to receive US, cryo-US or ESWT, and were evaluated for pain and function before treatment started, at the end of treatment, and four and 12 weeks after the end of the treatment. Significant improvement was noted in all groups for pain ($P<0.05$) and functionality ($P<0.05$). Patients in ESWT group show greater pain improvement at 12-weeks follow-up when compared with both US and cryo-US groups ($P<0.05$).

Patients affected by CTS might benefit from the application of US, cryo-US or ESWT. Benefits persist 3 months after the end of treatment.

Pastore D, Della-Morte D, Coppola A, Capuani B, Lombardo MF, Pacifici F, Ferrelli F, Arriga R, Mammi C, Federici M, Bellia A, Di Daniele N, Tesaro M, Donadel G, Noto D, Sbraccia P, Sconocchia G, Lauro D.
SGK-1 protects kidney cells against apoptosis induced by ceramide and TNF- α .
Cell Death Dis. 2015 Sep 17;6:e1890.

Ceramide regulates several different cellular responses including mechanisms leading to apoptosis. Serum- and glucocorticoid-inducible protein kinase (SGK)-1 is a serine threonine kinase, which activates survival pathways in response to stress stimuli. Recently, we demonstrated an anti-apoptotic role of SGK-1 in human umbilical endothelial cells treated with high glucose. In the present study, since ceramide induces apoptosis by multiple mechanisms in diabetes and its complication such as nephropathy, we aimed to investigate whether SGK-1 may protect even against apoptosis induced by ceramide in kidney cells. Human embryonic kidney (HEK)-293 cells stable transfected with SGK-1 wild type (SGK-1wt) and its dominant negative gene (SGK-1dn) have been used in this study. Apoptotic stimuli were induced by C2-ceramide and TNF- α to increase endogenous synthesis of ceramide. Upon activation with these stimuli, SGK-1wt transfected cells have a statistically significant reduction of apoptosis compared with SGK-1dn cells ($P<0.001$). This protection was dependent on activation of caspase-3 and Poly-ADP-ribose-polymerase-1 (PARP-1) cleavage. SGK-1 and AKT-1 two highly homologous kinases differently reacted to ceramide treatment, since SGK-1 increases in response to apoptotic stimulus while AKT-1 decreases. This enhancement of SGK-1 was dependent on p38-mitogen-activated-protein kinases (p38MAPK), cyclic-adenosine-monophosphate/protein kinase A (cAMP/PKA) and phosphoinositide-3-kinase (PI3K) pathways. Especially, by using selective LY294002 inhibitor, we demonstrated that the most involved pathway in the SGK-1 mediated process of protection was PI3K. Treatment with inhibitor of SGK-1 (GSK650394) significantly enhanced TNF- α -dependent apoptosis in HEK-293 cells

overexpressing SGK-1wt. Caspase-3, -8 and -9 selective inhibitors confirmed that SGK-1 reduced the activation of caspase-dependent apoptosis, probably by both intrinsic and extrinsic pathways. In conclusion, we demonstrated that in kidney cells, overexpression of SGK-1 is protective against ceramide-induced apoptosis and the role of SGK-1 can be potentially explored as a therapeutic target in conditions like diabetes, where ceramide levels are increased.

Pelliccia F, Coats AJ, Pani L, Gaudio C, Rosano G.
Transparency in medical research: Time for a paradigm shift.
Int J Cardiol. 2015 Mar 18;186:259-260.

Pelliccia F, Greco C, Gaudio C, Rosano G, Vitale C, Marazzi G, Rollini F, Angiolillo DJ.
Comparison of the pharmacodynamic effects of ranolazine versus amlodipine on platelet reactivity in stable patients with coronary artery disease treated with dual antiplatelet therapy: The ROMAN (RanOlazine vs. aMlodipine on platelet reactivity in stable patients with CAD treated with dual Antiplatelet therapy) study.
J Thromb Thrombolysis. 2015 Oct;40(3):331-339.

Amlodipine, commonly used for relief of ischemic symptoms in coronary artery disease (CAD), may affect clopidogrel-induced antiplatelet effects. It remains unknown if ranolazine, an antianginal drug that constitutes a pharmacologic alternative to calcium channel blockade, interferes with clopidogrel-induced antiplatelet effects. The aim of the ROMAN study was to compare the pharmacodynamic effects of ranolazine versus amlodipine on platelet reactivity in clopidogrel treated patients with CAD. A prospective, randomized, cross-over, open-label study conducted in a total of 210 CAD patients on aspirin (100 mg/q.d.) and clopidogrel (75 mg/q.d.) 1 month following percutaneous coronary intervention. Patients were randomly assigned to amlodipine (10 mg p.d., n = 105) or ranolazine (750 mg b.i.d., n = 105) for 15 days, and after a 1-week wash-out period, crossed-over treatment for 15 days. P2Y12 reaction units (PRU) were assessed at baseline and after each treatment sequence. High on-treatment platelet reactivity (HPR) was defined as a PRU > 208. Amlodipine was associated with higher PRU than ranolazine (182 ± 75 vs. 167 ± 64, p = 0.028). As compared with baseline, PRU increased significantly after treatment with amlodipine (p = 0.018), but was not different after ranolazine therapy (p = 0.871). Changes in platelet reactivity following amlodipine therapy appeared to depend on baseline HPR status, as PRU levels significantly increased only among HPR subjects. In stable CAD patients treated with dual antiplatelet therapy after PCI, concomitant treatment with amlodipine, but not ranolazine, interferes with clopidogrel-induced antiplatelet effects.

Pelliccia F, Parodi G, Greco C, Antonucci D, Brenner R, Bossone E, Cacciotti L, Capucci A, Citro R, Delmas C, Guerra F, Ionescu CN, Lairez O, Larrauri-Reyes M, Lee PH, Mansencal N, Marazzi G, Mihos CG, Morel O, Nef HM, Nunez Gil IJ, Passaseo I, Pineda AM, Rosano G, Santana O, Schneck F, Song BG, Song JK, Teh AW, Ungprasert P, Valbusa A, Wahl A, Yoshida T, Gaudio C, Kaski JC.
Comorbidities Frequency in Takotsubo Syndrome: An International Collaborative Systematic Review Including 1,109 Patients.
Am J Med. 2015 Jun;128(6):654.e11-9. Epub 2015 Feb 4.

To identify predisposing factors that can result in the onset of takotsubo syndrome, we performed an international, collaborative systematic review focusing on clinical characteristics and comorbidities of patients with takotsubo syndrome.

We searched and reviewed cited references up to August 2013 to identify relevant studies. Corresponding authors of selected studies were contacted and asked to provide additional quantitative details. Data from each study were extracted by 2 independent reviewers. The cumulative prevalence of presenting features and comorbidities was assessed. Nineteen studies whose

authors sent the requested information were included in the systematic review, with a total of 1109 patients (951 women; mean age, 59-76 years). Evaluation of risk factors showed that obesity was present in 17% of patients (range, 2%-48%), hypertension in 54% (range, 27%-83%), dyslipidemia in 32% (range, 7%-59%), diabetes in 17% (range, 4%-34%), and smoking in 22% (range, 6%-49%). Emotional stressors preceded takotsubo syndrome in 39% of patients and physical stressors in 35%. The most common comorbidities were psychological disorders (24%; range, 0-49%), pulmonary diseases (15%; range, 0-22%), and malignancies (10%; range, 4%-29%). Other common associated disorders were neurologic diseases (7%; range, 0-22%), chronic kidney disease (7%; range, 2%-27%), and thyroid diseases (6%; range, 0-37%). Patients with takotsubo syndrome have a relevant prevalence of cardiovascular risk factors and associated comorbidities. Such of associations needs to be evaluated in further studies.

Pelliccia F, Rollini F, Marazzi G, Greco C, Gaudio C, Angiolillo DJ.
Drug-drug interactions between clopidogrel and novel cardiovascular drugs.
Eur J Pharmacol. 2015 Sep 2;765:332-336. [Epub ahead of print]

The combination of aspirin and the thienopyridine clopidogrel is a cornerstone in the prevention of atherothrombotic events. These two agents act in concert to ameliorate the prothrombotic processes stimulated by plaque rupture and vessel injury complicating cardiovascular disease. Guidelines recommend the use of clopidogrel in patients with acute coronary syndromes and in those undergoing percutaneous coronary intervention, and the drug remains the most utilized P2Y12 receptor inhibitor despite the fact that newer antiplatelet agents are now available. In recent years, numerous studies have shown inconsistency in the efficacy of clopidogrel to prevent atherothrombotic events. Studies of platelet function testing have shown variability in the response to clopidogrel. One of the major reason for this phenomenon lies in the interaction between clopidogrel and other drugs that may affect clopidogrel absorption, metabolism, and ultimately its antiplatelet action. Importantly, these drug-drug interactions have prognostic implications, since patients with high on-treatment platelet reactivity associated with reduced clopidogrel metabolism have an increased risk of ischemia. Previous systematic reviews have focused on drug-drug interactions between clopidogrel and specific pharmacologic classes, such as proton pump inhibitors, calcium channel blockers, and statins. However, more recent pieces of scientific evidence show that clopidogrel may also interact with newer drugs that are now available for the treatment of cardiovascular patients. Accordingly, the aim of this review is to highlight and discuss recent data on drug-drug interactions between clopidogrel and third-generation proton pump inhibitors, pantoprazole and lansoprazole, statins, pitavastatin, and antianginal drug, ranolazine.

Pelliccia F, Rosano G.
The reply.
Am J Med. 2015 Apr;128(4):e11.

Rosano GM, Anker SD, Marrocco W, Coats AJ.
Adaptive licensing - A way forward in the approval process of new therapeutic agents in Europe.
Int J Cardiol. 2015 Apr 1;184:568-569. Epub 2015 Mar 5.

Rosano GMC, Ceconi C.
A way forward to the elimination of conflict of interest for experts involved in regulatory medicine and guidelines.
European Heart Journal - Cardiovascular Pharmacotherapy [Internet]. 2015;1(2):80-81.

Rosano GM, Lewis B, Agewall S, Wassmann S, Vitale C, Schmidt H, Drexel H, Patak A, Torp-Pedersen C, Kjeldsen KP, Tamargo J.
Gender differences in the effect of cardiovascular drugs: a position document of the Working

Group on Pharmacology and Drug Therapy of the ESC.
Eur Heart J. 2015 Oct 21;36(40):2677-2280.

Rosano GM, Vitale C, Fini M.
Testosterone in men with hypogonadism and high cardiovascular risk.
Pros. Endocrine. 2015 Mar 7. [Epub ahead of print]

Although numerous randomized studies have shown that testosterone replacement therapy (TRT) improves intermediate outcomes in patients at risk and in those with proven cardiovascular disease (CVD), results derived mainly from registries and observational studies have suggested an increased cardiovascular risk in elderly men receiving often supra-therapeutic doses of testosterone. Recent meta-analyses have shown that when testosterone has been used in patients with pre-existing cardiovascular conditions, the effect on the disease has been either beneficial or neutral. Similar results have been reported in hypo- and eugonadal men. Contrasting results have been reported by two trials of testosterone treatment in frail elderly men. Reports from poorly analyzed databases have reported an increased risk of cardiovascular events with testosterone use. More recently, a population-based study showed no increased cardiovascular risk of testosterone replacement in hypogonadal men. Available data from controlled clinical trials suggest that the use of testosterone in elderly men does not increase cardiovascular risk nor the risk of events. Studies in men with CVD, angina, or heart failure report a benefit from testosterone replacement in men with or without hypogonadism. Therefore, at present, the cardiovascular benefits of TRT in elderly men outweigh the risks. This is particularly evident in those men with pre-existing CVD.

Rosano GM, Lewis B, Agewall S, Wassmann S, Vitale C, Schmidt H, Drexel H, Patak A, Torp-Pedersen C, Kjeldsen KP, Tamargo J.
Gender differences in the effect of cardiovascular drugs: a position document of the Working Group on Pharmacology and Drug Therapy of the ESC.
Eur Heart J. 2015 Oct 21;36(40):2677-2680.

Rosano GM, Vitale C, Fini M.
Testosterone in men with hypogonadism and high cardiovascular risk.
Endocrine. 2015 Nov;50(2):320-325.

Although numerous randomized studies have shown that testosterone replacement therapy (TRT) improves intermediate outcomes in patients at risk and in those with proven cardiovascular disease (CVD), results derived mainly from registries and observational studies have suggested an increased cardiovascular risk in elderly men receiving often supra-therapeutic doses of testosterone. Recent meta-analyses have shown that when testosterone has been used in patients with pre-existing cardiovascular conditions, the effect on the disease has been either beneficial or neutral. Similar results have been reported in hypo- and eugonadal men. Contrasting results have been reported by two trials of testosterone treatment in frail elderly men. Reports from poorly analyzed databases have reported an increased risk of cardiovascular events with testosterone use. More recently, a population-based study showed no increased cardiovascular risk of testosterone replacement in hypogonadal men. Available data from controlled clinical trials suggest that the use of testosterone in elderly men does not increase cardiovascular risk nor the risk of events. Studies in men with CVD, angina, or heart failure report a benefit from testosterone replacement in men with or without hypogonadism. Therefore, at present, the cardiovascular benefits of TRT in elderly men outweigh the risks. This is particularly evident in those men with pre-existing CVD.

Roschetto E, Vitiello L, Muoio R, Soriano AA, Iula VD, Vollaro A, De Gregorio E, Catania MR.
In vitro interaction of *Stenotrophomonas maltophilia* with human monocyte-derived dendritic cells.

Front Microbiol. 2015 Jul 16;6:723.

Stenotrophomonas maltophilia is increasingly identified as an opportunistic pathogen in immunocompromised, cancer and cystic fibrosis (CF) patients. Knowledge on innate immune responses to *S. maltophilia* and its potential modulation is poor. The present work investigated the ability of 12 clinical *S. maltophilia* strains (five from CF patients, seven from non-CF patients) and one environmental strain to survive inside human monocyte-derived dendritic cells (DCs). The effects of the bacteria on maturation of and cytokine secretion by DCs were also measured. *S. maltophilia* strains presented a high degree of heterogeneity in internalization and intracellular replication efficiencies as well as in the ability of *S. maltophilia* to interfere with normal DCs maturation. By contrast, all *S. maltophilia* strains were able to activate DCs, as measured by increase in the expression of surface maturation markers and proinflammatory cytokines secretion.

Santi D, Giannetta E, Isidori AM, Vitale C, Aversa A, Simoni M.
Therapy of endocrine disease. Effects of chronic use of phosphodiesterase inhibitors on endothelial markers in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis.
Eur J Endocrinol. 2015 Mar;172(3):R103-14.

Diabetes mellitus (DM) is associated with endothelial dysfunction, reducing nitric oxide-dependent vasodilation, and increasing production of pro-inflammatory factors, leading to an increased risk of long-term cardiovascular disease. As the effects of phosphodiesterase 5 inhibitors (PDE5i) on endothelial function have not been systematically investigated, we conducted a meta-analysis of available randomized clinical trials (RCTs).

A thorough search of the literature was carried out. Relevant studies were considered according to RCT study design, enrollment of men with type 2 DM, chronic administration of PDE5i, and evaluation of endothelial function through both hemodynamic and endothelial inflammation-related parameters.

Fifteen studies fulfilled the eligibility criteria but only six RCTs met the inclusion criteria and were analyzed for 476 diabetic men, 239 randomized to Sildenafil, and 237 to placebo respectively. Four RCTs evaluated flow-mediated dilation (FMD), demonstrating a weighted mean increase of 2.19% (95% CI 0.48 to 3.90). This result showed a high heterogeneity (I(2): 98%). Thus, a further sub-group meta-analysis was performed and this analysis confirmed a significant, Sildenafil-related FMD improvement. Sildenafil improved endothelin 1 and high sensitivity C-reactive protein by ~ 0.94pg/ml and -0.36mg/l, respectively, not reaching statistical significance (P=0.69 and P=0.22 respectively). Finally, Sildenafil administration significantly reduced serum levels of interleukin 6 (IL6, -0.82pg/ml; 95% CI -1.58 to -0.07).

This meta-analysis suggests a beneficial effect of chronic PDE5i administration on endothelial function. Chronic Sildenafil administration seems to improve hemodynamic (FMD) and serum pro-inflammatory makers (IL6) in diabetic men. Larger studies are needed to confirm the effects of chronic PDE5i on endothelial function.

Savarese G, De Ferrari GM, Rosano GM, Perrone-Filardi P.
Safety and efficacy of ezetimibe: A meta-analysis.
Int J Cardiol. 2015 Aug 10;201:247-252.

The addition of ezetimibe to statin therapy has been widely demonstrated to significantly reduce low-density lipoprotein cholesterol levels. However, the efficacy of ezetimibe in reducing CV events and its safety has been less investigated. The aim of the current meta-analysis was to report efficacy and safety of ezetimibe from randomized clinical trials.

Randomized clinical trials with a follow-up of at least 24 weeks, enrolling more than 200 patients, comparing ezetimibe versus placebo or ezetimibe plus another hypolipidemic agent versus the same hypolipidemic drug alone and reporting at least one event among all-cause and CV morta

mortality, myocardial infarction (MI), stroke and new onset of cancer were included in the analysis. 7 trials enrolling 31,048 patients (median follow-up 34.1 ± 26.3 months; 70% women; mean age 61 ± 8 years) were included in the analysis. Compared to control therapy, ezetimibe significantly reduced the risk of MI by 13.5% (RR: 0.865, 95% CI: 0.801 to 0.934, p<0.001) and the risk of any stroke by 16.0% (RR: 0.840, 95% CI: 0.744 to 0.949, p=0.005), without any effect on all-cause and CV mortality (RR: 1.003, 95% CI: 0.954 to 1.055, p=0.908; RR: 0.958, 95% CI: 0.879 to 1.044, p=0.330; respectively) and risk of new cancer (RR: 1.040, 95% CI: 0.965 to 1.120, p=0.303). Ezetimibe significantly reduces the risk of MI and stroke without any effect on all-cause and CV mortality and risk of cancer.

Schüssler-Lenz M, Beuneu C, Menezes-Ferreira M, Jekerle V, Bartunek J, Chamuleau S, Celis P, Doevendans P, O'Donovan M, Hill J, Hystad M, Jovinge S, Kyselovič J, Lipnik-Stangelj M, Maciulaitis R, Prasad K, Samuel A, Tenhunen O, Tonn T, Rosano G, Zeiher A, Salmikangas P. Cell-based therapies for cardiac repair: a meeting report on scientific observations and European regulatory viewpoints. *Eur J Heart Fail.* 2016 Feb;18(2):133-1341.

In the past decade, novel cell-based products have been studied in patients with acute and chronic cardiac disease to assess whether these therapies are efficacious in improving heart function and preventing the development of end-stage heart failure. Cardiac indications studied include acute myocardial infarction (AMI), refractory angina, and chronic heart failure (CHF). Increased clinical activity, experience, and multiple challenges faced by developers have been recognized at the regulatory level. In May 2014, the Committee for Advanced Therapies (CAT) discussed in an expert meeting various cell-based medicinal products developed for cardiac repair, with a focus on non-manipulated bone marrow cells, sorted bone marrow or apheresis, and expanded cells, applied to patients with AMI or CHF. The intention was to share information, both scientific and regulatory, and to examine the challenges and opportunities in this field. These aspects were considered from the quality, and non-clinical and clinical perspectives, including current imaging techniques, with a focus on AMI and CHF. The scope of this overview is to present the European regulatory viewpoint on cell-based therapies for cardiac repair in the context of scientific observations Scuteri A, Di Daniele N.

Are Hemodynamic Factors Involved in Cognitive Impairment? *Hypertension.* 2015 Nov 16. [Epub ahead of print]

Seferovic PM, Pelliccia F, Zivkovic I, Ristic A, Lalic N, Seferovic J, Simeunovic D, Milinkovic I, Rosano G. Mineralocorticoid receptor antagonists, a class beyond spironolactone - Focus on the special pharmacologic properties of eplerenone. *Int J Cardiol.* 2015 Dec 1;200:3-7.

The renin-angiotensin-aldosterone system can be blocked at specific levels by using different classes of pharmacologic agents, including angiotensin-converting-enzyme inhibitors, angiotensin II receptor blockers and mineralocorticoid receptor antagonists. Broad use of the latter, such as spironolactone, has been limited by significant incidence of gynecomastia and other sex-related adverse effects. These problems can be overcome with use of eplerenone, a selective mineralocorticoid receptor antagonist. Eplerenone has been specifically developed to bind selectively to the mineralocorticoid receptors in order to minimize binding to the progesterone and androgen receptors. In the last decade, multiple scientific evidences have been accumulated showing the efficacy and safety of the drug in multiple clinical conditions, including heart failure and arterial hypertension. Eplerenone is generally well tolerated, with the most frequent adverse event being hyperkalemia, with sexual adverse events (i.e. gynecomastia) being more uncommon, due to the selectivity of eplerenone. This review focuses on the pharmacodynamic and pharmacokinetic

properties of eplerenone, thus providing the scientific basis to fully understand drug-to-drug interactions, in particular, and its efficacy and tolerability, in general. Noteworthy, the activity of eplerenone in special conditions and different patient populations is summarized.

Urbanet R, Nguyen Dinh Cat A, Feraco A, Venteclef N, El Mogrhabi S, Sierra-Ramos C, Alvarez de la Rosa D, Adler GK, Quilliot D, Rossignol P, Fallo F, Touyz RM, Jaisser F. Adipocyte Mineralocorticoid Receptor Activation Leads to Metabolic Syndrome and Induction of Prostaglandin D2 Synthase. *Hypertension.* 2015 Jul;66(1):149-157.

Metabolic syndrome is a major risk factor for the development of diabetes mellitus and cardiovascular diseases. Pharmacological antagonism of the mineralocorticoid receptor (MR), a ligand-activated transcription factor, limits metabolic syndrome in preclinical models, but mechanistic studies are lacking to delineate the role of MR activation in adipose tissue. In this study, we report that MR expression is increased in visceral adipose tissue in a preclinical mouse model of metabolic syndrome and in obese patients. In vivo conditional upregulation of MR in mouse adipocytes led to increased weight and fat mass, insulin resistance, and metabolic syndrome features without affecting blood pressure. We identified prostaglandin D2 synthase as a novel MR target gene in adipocytes and AT56, a specific inhibitor of prostaglandin D2 synthase enzymatic activity, blunted adipogenic aldosterone effects. Moreover, translational studies showed that expression of MR and prostaglandin D2 synthase is strongly correlated in adipose tissues from obese patients.

Volterrani M, Iellamo F. Eplerenone in chronic heart failure with depressed systolic function. *Int J Cardiol.* 2015 Dec 1;200:12-14.

Eplerenone is a selective mineralocorticoid receptor antagonist that has been recently included in the treatment of patients with chronic heart failure (CHF) and reduced systolic function. This brief review aims to summarize current evidence on the role of eplerenone in the therapy of patients with CHF. In the EPHEBUS trial, 6632 post-myocardial infarction patients with ejection fraction (EF) <40% and clinical HF signs were randomized to eplerenone or placebo added to standard therapy 3 to 14 days after the event. After a 16 month follow-up period, eplerenone given early (<7 days) reduced the primary endpoints of all-cause mortality by 15% and cardiovascular death or cardiovascular hospitalization by 13%. In the subsequent EMPHASIS-HF trial, the efficacy and tolerability of eplerenone were tested in patients with mild CHF (NYHA functional class II) and EF ≤ 30% or between 30 and 35% with QRS duration >130 ms. After a median follow-up of 21 months eplerenone significantly reduced (by 37%) the primary composite outcome of risk of death from CV causes and first hospitalization for HF. Based on the above findings, the addition of eplerenone to standard therapy, at doses to be titrated from 25 to 50mg per day, is currently recommended in CHF patients with functional classes II to IV closely resembling those enrolled in these large clinical trials, with adequate monitoring for side effects (mainly hyperkalemia and renal failure). Whether the same beneficial effects of eplerenone extend to CHF patients with mild symptoms and no additional risk factors are unknown.

Volterrani M, Iellamo F, Marazzi G, Pusineri E, Guarini P, Bonassi S, Caiazza F, Tamarin R, Chimini C, Proto C; SICOA (Società Italiana Cardiologia Ospedalità Accreditata) Investigators. Incidence and clinical presentation of myocardial ischemia in patients with chronic CAD in Italy: the ISPICA survey study. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2015 Dec 23. [Epub ahead of print]

This survey study was performed to provide an overall picture on the incidence of symptoms, with

or without typical angina, in the real-life clinical practice and to identify clinical factors associated with atypical presentations in an unselected population of consecutive outpatients with chronic coronary artery disease (CAD).

Thirty-six cardiology units located in different geographic areas of Italy enrolled a total of 1475 outpatients (73.6% men and 26.3% women; mean age 71 ± 10 and 67 ± 9 years in men and women, respectively) with a documented diagnosis of chronic CAD. Each patient underwent a medical history, with a detailed investigation as to the presence of typical angina or ischemic equivalents defined as sensation of chest pressure, or arm, neck, or jaw pain.

At admission, symptoms suggesting ischemic episodes were reported by 24.4% of patients. After an in-depth medical history collection by the specialist, the prevalence of combined typical or atypical myocardial ischemic episodes was ascertained in 39.3% of the overall population. Typical angina was reported by 13.6% of men and 22.7% of women ($P < 0.0001$), whereas ischemic equivalents were present in 7.3 and 12.9% of male and female patients, respectively ($P < 0.001$). Previous coronary artery bypass grafting (CABG; $P < 0.001$) and fewer medical visits by cardiologists ($P = 0.02$) were independent predictors of atypical presentations.

The ISPICA study shows that in an Italian population of real-world patients with chronic CAD, ischemic episodes, with both typical and atypical presentation, are still present in nearly 50% of patients, despite optimal medical therapy, and that atypical presentations of angina are linked to fewer visits by specialists and previous CABG. These findings would suggest to encourage patients with chronic CAD and general practitioners to consider more frequent cardiology specialist visits and to take into account the possibility of atypical presentations, particularly in patients with previous CABG.

Volterrani M, Iellamo F, Sposato B, Romeo F.
Uric acid lowering therapy in cardiovascular diseases.
Int J Cardiol. 2016 Jun 15;213:20-22.

Recent evidence would indicate that high serum uric acid (SUA) levels can be a significant and independent risk factor for hypertension and cardiovascular diseases, such as ischemic heart disease and heart failure. In the last few years an independent risk relationship between hyperuricemia, cardiovascular disease and mortality has also been reported. Hyperuricemia has been shown as an independent risk factor for acute myocardial infarction and an independent and conjoint association of either gout and SUA with total and cardiovascular mortality has been reported, with mortality impact in gout patients increasing with rising SUA concentrations, even for SUA levels in the normal to high range. These findings prompted a growing research interest on the possible benefits of uric acid lowering drugs in cardiovascular diseases. Indeed, clinical studies have reported on the beneficial effects of uric acid lowering drugs, in particular of xanthine oxidase inhibitors, in hypertension, ischemic heart disease and heart failure. Two main mechanisms have been claimed to explain the dangerous effects of hyperuricemia and, as a consequence, the benefits of uric acid lowering therapy: endothelial dysfunction and systemic inflammation. This brief review aims to summarize current evidence from human studies on the role of acid uric lowering therapy in cardiovascular diseases for practical and clinical purposes. The possible mechanisms underlying the benefits of acid uric lowering therapy are also addressed.

Aleandri M, Conte MP, Simonetti G, Panella S, Celestino I, Checconi P, Marazzato M, Longhi C, Goldoni P, Nicoletti M, Barnich N, Palamara AT, Schippa S, Nencioni L.
Influenza A Virus Infection of Intestinal Epithelial Cells Enhances the Adhesion Ability of Crohn's Disease Associated Escherichia coli Strains.
PloS One. 2015 Feb 23;10(2):e0117005.

Modifications of intestinal glycoreceptors expression, in particular CEACAM6, typically found in ileal Crohn's disease (CD), favor, among the commensal species of microbiota, the enrichment in

Escherichia coli. Removal of protein glycosidic residues by neuraminidase, a sialidase typical of influenza virus, increases adhesion ability of Escherichia coli to Caco-2 intestinal cells. In this study we investigated whether influenza virus infection of human intestinal epithelial cells could influence the adhesiveness of different Escherichia coli strains isolated from CD patients by altering surface glycoreceptors. Influenza virus infection of intestinal cells increased exposure of galactose and mannose residues on the cell surface. In particular, glycoreceptors Thomsen-Friedenreich and CEACAM6 were over-expressed in influenza virus infected cells. In the same experimental conditions, a significant increase in bacterial adhesiveness was observed, independently of their own adhesive ability. The increase was reverted by treatment with anti-TF and anti-CEACAM6 antibodies. Interestingly, influenza virus was able to efficiently replicate in human primary intestinal cells leading to TF exposure. Finally, intestinal infected cells produced high levels of pro-inflammatory cytokines compared to control. Overall these data suggest that influenza virus infection, could constitute an additional risk factor in CD patients.

Ambrosi C, Pompili M, Scribano D, Limongi D, Petrucca A, Cannavacciuolo S, Schippa S, Zagaglia C, Grossi M, Nicoletti M.
The Shigella flexneri OspB effector: an early immunomodulator.
Int J Med Microbiol. 2015 Jan;305(1):75-84.

Through the action of the type three secretion system (T3SS) Shigella flexneri delivers several effectors into host cells to promote cellular invasion, multiplication and to exploit host-cell signaling pathways to modulate the host innate immune response. Although much progress has been made in the understanding of many type III effectors, the molecular and cellular mechanism of the OspB effector is still poorly characterized. In this study we present new evidence that better elucidates the role of OspB as pro-inflammatory factor at very early stages of infection. Indeed, we demonstrate that, during the first hour of infection, OspB is required for full activation of ERK1/2 and p38 MAPKs and the cytosolic phospholipase A(2) (cPLA(2)). Activation of cPLA(2) ultimately leads to the production and secretion of PMN chemoattractant metabolite(s) uncoupled with release of IL-8. Moreover, we also present evidence that OspB is required for the development of the full and promptly inflammatory reaction characteristic of S. flexneri wild-type infection in vivo. Based on OspB and OspF similarity (both effectors share similar transcription regulation, temporal secretion into host cells and nuclear localization) we hypothesized that OspB and OspF effectors may form a pair aimed at modulating the host cell response throughout the infection process, with opposite effects. A model is presented to illustrate how OspB activity would promote S. flexneri invasion and bacterial dissemination at early critical phases of infection.

Botta G, Bizzarri BM, Garozzo A, Timpanaro R, Bisignano B, Amatore D, Palamara AT, Nencioni L, Saladino R.
Carbon nanotubes supported tyrosinase in the synthesis of lipophilic hydroxytyrosol and dihydrocaffeoyl catechols with antiviral activity against DNA and RNA viruses.
Bioorg Med Chem. 2015 Sep 1;23(17):5345-5351.

Hydroxytyrosol and dihydrocaffeoyl catechols with lipophilic properties have been synthesized in high yield using tyrosinase immobilized on multi-walled carbon nanotubes by the Layer-by-Layer technique. All synthesized catechols were evaluated against a large panel of DNA and RNA viruses, including Poliovirus type 1, Echovirus type 9, Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), Coxsackievirus type B3 (Cox B3), Adenovirus type 2 and type 5 and Cytomegalovirus (CMV). A significant antiviral activity was observed in the inhibition of HSV-1, HSV-2, Cox B3 and CMV. The mechanism of action of the most active dihydrocaffeoyl derivative was investigated against a model of HSV-1

Brundu S, Nencioni L, Celestino I, Coluccio P, Palamara AT, Magnani M, Fraternali A.

Validation of a Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography Method for the Simultaneous Analysis of Cysteine and Reduced Glutathione in Mouse Organs.

Oxidative Medicine and Cellular Longevity, Article ID 1746985 p. [Epub ahead of print]

A depletion of reduced glutathione (GSH) has been observed in pathological conditions and in aging. Measuring GSH in tissues using mouse models is an excellent way to assess GSH depletion and the potential therapeutic efficacy of drugs used to maintain and/or restore cellular redox potential. A high performance liquid chromatography (HPLC) method for the simultaneous determination of GSH and cysteine (Cys) in mouse organs was validated according to USA and European standards. The method was based on separation coupled with ultraviolet detection and precolumn derivatization with 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB). The required validation parameters, that are, selectivity, linearity, lower limit of quantification, precision, accuracy, recovery, and stability, were studied for spleen, lymph nodes, pancreas, and brain. The results showed that the lower limits of quantification were 0.313 μM and 1.25 μM for Cys and GSH, respectively. Intraday and interday precisions were less than 11% and 14%, respectively, for both compounds. The mean extraction recoveries of Cys and GSH from all organs were more than 93% and 86%, respectively. Moreover, the stability of both analytes during sample preparation and storage was demonstrated. The method was accurate, reliable, consistent, and reproducible and it was useful to determine Cys and GSH in the organs of different mouse strains.

Checconi P, Salzano S, Bowler L, Mullen L, Mengozzi M, Hanschmann EM, Lillig CH, Sgarbanti R, Panella S, Nencioni L, Palamara AT, Ghezzi P.

Redox proteomics of the inflammatory secretome identifies a common set of redoxins and other glutathionylated proteins released in inflammation, influenza virus infection and oxidative stress. PLoS One. 2015 May 18;10(5):e0127086. eCollection 2015.

Protein cysteines can form transient disulfides with glutathione (GSH), resulting in the production of glutathionylated proteins, and this process is regarded as a mechanism by which the redox state of the cell can regulate protein function. Most studies on redox regulation of immunity have focused on intracellular proteins. In this study we have used redox proteomics to identify those proteins released in glutathionylated form by macrophages stimulated with lipopolysaccharide (LPS) after pre-loading the cells with biotinylated GSH. Of the several proteins identified in the redox secretome, we have selected a number for validation. Proteomic analysis indicated that LPS stimulated the release of peroxiredoxin (PRDX) 1, PRDX2, vimentin (VIM), profilin1 (PFN1) and thioredoxin 1 (TXN1). For PRDX1 and TXN1, we were able to confirm that the released protein is glutathionylated. PRDX1, PRDX2 and TXN1 were also released by the human pulmonary epithelial cell line, A549, infected with influenza virus. The release of the proteins identified was inhibited by the anti-inflammatory glucocorticoid, dexamethasone (DEX), which also inhibited tumor necrosis factor (TNF)- α release, and by thiol antioxidants (N-butanoyl GSH derivative, GSH-C4, and N-acetylcysteine (NAC), which did not affect TNF-production. The proteins identified could be useful as biomarkers of oxidative stress associated with inflammation, and further studies will be required to investigate if the extracellular forms of these proteins has immunoregulatory functions.

Civitelli L, Marcocci ME, Celestino I, Piacentini R, Garaci E, Grassi C, De Chiara G, Palamara AT. Herpes simplex virus type 1 infection in neurons leads to production and nuclear localization of APP intracellular domain (AICD): implications for Alzheimer's disease pathogenesis. J Neurovirol. 2015 Oct;21(5):480-490.

Several data indicate that neuronal infection with herpes simplex virus type 1 (HSV-1) causes biochemical alterations reminiscent of Alzheimer's disease (AD) phenotype. They include

accumulation of amyloid- β (A β), which originates from the cleavage of amyloid precursor protein (APP), and hyperphosphorylation of tau protein, which leads to neurofibrillary tangle deposition. HSV-1 infection triggers APP processing and drives the production of several fragments including APP intracellular domain (AICD) that exerts transactivating properties. Herein, we analyzed the production and intracellular localization of AICD following HSV-1 infection in neurons. We also checked whether AICD induced the transcription of two target genes, neprilysin (nep) and glycogen synthase kinase 3 β (gsk3 β) whose products play a role in A β clearance and tau phosphorylation, respectively. Our data indicate that HSV-1 led to the accumulation and nuclear translocation of AICD in neurons. Moreover, results from chromatin immunoprecipitation assay showed that AICD binds the promoter region of both nep and gsk3 β . Time course analysis of NEP and GSK3 β expression at both mRNA and protein levels demonstrated that they are differently modulated during infection. NEP expression and enzymatic activity were initially stimulated but, with the progression of infection, they were down-regulated. In contrast, GSK3 β expression remained nearly unchanged, but the analysis of its phosphorylation suggests that it was inactivated only at later stages of HSV-1 infection. Thus, our data demonstrate that HSV-1 infection induces early upstream events in the cell that may eventually lead to A β deposition and tau hyperphosphorylation and further suggest HSV-1 as a possible risk factor for AD.

Manvar D, Pelliccia S, La Regina G, Famigliani V, Coluccia A, Ruggieri A, Anticoli S, Lee JC, Basu A, Cevik O, Nencioni L, Palamara AT, Zamperini C, Botta M, Neyts J, Leyssen P, Kaushik-Basu N, Silvestri R.

New 1-phenyl-5-(1H-pyrrol-1-yl)-1H-pyrazole-3-carboxamides inhibit hepatitis C virus replication via suppression of cyclooxygenase-2.

Eur J Med Chem. 2015 Nov 27;90:497-506.

We report here the synthesis and mechanism of inhibition of pyrazolecarboxamide derivatives as a new class of HCV inhibitors. Compounds 6, 7, 8 and 16 inhibited the subgenomic HCV replicon 1b genotype at EC50 values between 5 and 8 μM and displayed an even higher potency against the infectious Jc1 HCV 2a genotype. Compound 6 exhibited an EC50 of 6.7 μM and selectivity index of 23 against HCV 1b, and reduced the RNA copies of the infectious Jc1 chimeric 2a clone by 82% at 7 μM . Evaluation of the mode of anti-HCV activity of 6 revealed that it suppressed HCV-induced COX-2 mRNA and protein expression, displaying an IC50 of 3.2 μM in COX-2 promoter-linked luciferase reporter assay. Conversely, the anti-HCV activity of 6 was abrogated upon over-expression of COX-2. These findings suggest that 6 as a representative of these pyrazolecarboxamides function as anti-HCV agents via targeting COX-2 at both the transcription and translation levels.

Piacentini R, Li Puma DD, Ripoli C, Elena Marcocci M, De Chiara G, Garaci E, Palamara AT, Grassi C.

Herpes Simplex Virus type-1 infection induces synaptic dysfunction in cultured cortical neurons via GSK-3 activation and intraneuronal amyloid- β protein accumulation.

Sci Rep. 2015 Oct 21;5:15444.

Increasing evidence suggests that recurrent Herpes Simplex Virus type 1 (HSV-1) infection spreading to the CNS is a risk factor for Alzheimer's Disease (AD) but the underlying mechanisms have not been fully elucidated yet. Here we demonstrate that in cultured mouse cortical neurons HSV-1 induced Ca(2+)-dependent activation of glycogen synthase kinase (GSK)-3. This event was critical for the HSV-1-dependent phosphorylation of amyloid precursor protein (APP) at Thr668 and the following intraneuronal accumulation of amyloid- β protein (A β). HSV-1-infected neurons also exhibited: i) significantly reduced expression of the presynaptic proteins synapsin-1 and synaptophysin; ii) depressed synaptic transmission. These effects depended on GSK-3 activation and intraneuronal accumulation of A β . In fact, either the selective GSK-3 inhibitor, SB216763, or

a specific antibody recognizing A β (4G8) significantly counteracted the effects induced by HSV-1 at the synaptic level. Moreover, in neurons derived from APP KO mice and infected with HSV-1 A β accumulation was not found and synaptic protein expression was only slightly reduced when compared to wild-type infected neurons. These data further support our contention that HSV-1 infections spreading to the CNS may contribute to AD phenotype.

Pietropaolo V, Bellizzi A, Anzivino E, Iannetta M, Zingaropoli MA, Rodio DM, Morreale M, Pontecorvo S, Francia A, Vullo V, Palamara AT, Ciardi MR.

Human polyomavirus JC replication and non-coding control region analysis in multiple sclerosis patients under natalizumab treatment. *J Neurovirol.* 2015 Dec;21(6):653-665.

In the last years, the treatment of multiple sclerosis (MS) patients with natalizumab has been associated with the occurrence of progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) caused by human polyomavirus JC (JCV). Here, we have shown a significant correlation between patients with JC viremia and positive JC-specific antibody response and patients without JCV-specific antibodies after 1 year of natalizumab ($p=0.0006$). Furthermore, JCV-specific quantitative PCR on urine and plasma samples, collected at the enrollment (t0) and every 4 months (t1, t2, t3) in the first year and at two time points (t4 and t5) in the second year of natalizumab treatment, indicated the prevalence of JC viremia rather than JC viruria only in the second year of treatment ($p=0.04$). Moreover, the analysis of JCV non-coding control region (NCCR) sequences in peripheral blood mononuclear cells of patients with JC-specific antibodies after 12 natalizumab infusions (t3) revealed the presence of rearranged sequences, whereas the prevalence of genotypes 1A, 1B, and 4 was detected in these patients by VP1 sequence analysis. In summary, JC viruria evaluation seems to be useful to identify early those patients who do not already develop a humoral immune response against JCV. It may also be interesting to study the JCV NCCR rearrangements since they could give us new insights on the onset of neuro-invasive viral variants.

Shytaj IL, Nickel G, Arts E, Farrell N, Biffoni M, Pal R, Chung HK, LaBranche C, Montefiori D, Vargas-Inchaustegui D, Robert-Guroff M, Lewis MG, Sacha JB, Palamara AT, Savarino A.

A Two-year Follow-up of Macaques Developing Intermittent Control of the HIV Homolog SIVmac251 in the Chronic Phase of the Infection. *J Virol.* 2015 Aug;89(15):7521-7535.

Off-therapy control of viremia by HIV-infected individuals has been associated with two likely players: a restricted viral reservoir and an efficient cell-mediated immune response. We previously showed that a combination of highly suppressive antiretroviral therapy and two experimental drugs, i.e., auranofin and buthionine sulfoximine, was able to reduce the viral reservoir, elicit efficient cell-mediated antiviral responses, and induce intermittent posttherapy viral load control in chronically SIVmac251-infected macaques. We here show that the macaques that had received this drug combination and then stopped antiretroviral therapy were also able to maintain low numbers of activated CD4+ T cells at viral rebound. Moreover, these macaques consistently displayed low-level simian immunodeficiency virus (SIV) diversity, which was in line with the strong and broadly reactive cell-mediated immune responses against conserved Gag antigens. Extended follow-up showed that the two macaques that had received the complete drug combination remained healthy and did not develop AIDS in 2 years of follow-up after therapy suspension. This disease-free survival is longer than twice the average time of progression to AIDS in SIVmac251-infected rhesus macaques. These results suggest that limited numbers of activated T cells at viral rebound and subsequent development of broadly reactive cell-mediated responses may be interrelated in reducing the viral reservoir.

The HIV reservoir in CD4+ T cells represents one main obstacle to HIV eradication. Recent studies, however, show that a drastic reduction of this reservoir is insufficient for inducing a functional

cure of AIDS. In the present work, we thoroughly studied and subjected to long-term follow-up two macaques showing intermittent control of the virus following suspension of antiretroviral therapy plus an experimental antireservoir treatment, i.e., the gold salt auranofin and the investigational chemotherapeutic agent buthionine sulfoximine (BSO). We found that these drugs were able to decrease the number of activated CD4+ T cells, which are preferential targets for HIV infection. Then, efficient immune responses against the virus were developed in the macaques, which remained healthy during 2 years of follow-up. This result may furnish another building block for future attempts to cure HIV/AIDS.

Chimenti C, Scopelliti F, Vulpis E, Tafani M, Villanova L, Verardo R, De Paulis R, Russo MA, Frustaci A. Increased oxidative stress contributes to cardiomyocyte dysfunction and death in patients with fabry disease cardiomyopathy.

Hum Pathol. 2015;26(11):1760-1768.

Cardiac dysfunction of Fabry disease (FD) has been associated with myofilament damage and cell death as result of α -galactosidase A deficiency and globotriaosylceramide accumulation. We sought to evaluate the role of oxidative stress in FD cardiomyocyte dysfunction. Myocardial tissue from 18 patients with FD was investigated for the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and nitrotyrosine by immunohistochemistry. Western blot analysis for nitrotyrosine was also performed. Oxidative damage to DNA was investigated by immunostaining for 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), whereas apoptosis was evaluated by in situ ligation with hairpin probes. iNOS and nitrotyrosine expression was increased in FD hearts compared with hypertrophic cardiomyopathy and normal controls. Remarkably, immunostaining was homogeneously expressed in FD male cardiomyocytes, whereas it was only detected in the affected cardiomyocytes of FD females. Western blot analysis confirmed an increase in FD cardiomyocyte protein nitration compared with controls. 8-OHdG was expressed in 25% of cardiomyocyte nuclei from FD patients, whereas it was absent in controls. The intensity of immunostaining for iNOS/nitrotyrosine correlated with 8-OHdG expression in cardiomyocyte nuclei. Apoptosis of FD cardiomyocytes was 187-fold higher than in controls, and apoptotic nuclei were positive for 8-OHdG. Cardiac dysfunction of FD reflects increased myocardial nitric oxide production with oxidative damage of cardiomyocyte myofilaments and DNA, causing cell dysfunction and death.

Foglio E, Puddighinu G, Fasanaro P, D'Arcangelo D, Perrone GA, Mocini D, Campanella C, Coppola L, Logozzi M, Azzarito T, Marzoli F, Fais S, Pieroni L, Marzano V, Germani A, Capogrossi MC, Russo MA, Limana F.

Exosomal clusterin, identified in the pericardial fluid, improves myocardial performance following MI through epicardial activation, enhanced arteriogenesis and reduced apoptosis. *Int J Cardiol.* 2015 Oct 15;197:333-347.

We recently demonstrated that epicardial progenitor cells participate in the regenerative response to myocardial infarction (MI) and factors released in the pericardial fluid (PF) may play a key role in this process. Exosomes are secreted nanovesicles of endocytic origin, identified in most body fluids, which may contain molecules able to modulate a variety of cell functions. Here, we investigated whether exosomes are present in the PF and their potential role in cardiac repair. Early gene expression studies in 3day-infarcted mouse hearts showed that PF induces epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in epicardial cells. Exosomes were identified in PFs from non-infarcted patients (PFC) and patients with acute MI (PFMI). A shotgun proteomics analysis identified clusterin in exosomes isolated from PFMI but not from PFC. Notably, clusterin has a protective effect on cardiomyocytes after acute MI in vivo and is an important mediator of TGF β -induced. Clusterin addition to the pericardial sac determined an increase in epicardial cells expressing the EMT marker- α SMA and, interestingly, an increase in the number of epicardial cells ckit(+)/ α -SMA(+), 7days following MI. Importantly, clusterin treatment enhanced arteriolar length

density and lowered apoptotic rates in the peri-infarct area. Hemodynamic studies demonstrated an improvement in cardiac function in clusterin-treated compared to untreated infarcted hearts. Exosomes are present and detectable in the PFs. Clusterin was identified in PFMI-exosomes and might account for an improvement in myocardial performance following MI through a framework including EMT-mediated epicardial activation, arteriogenesis and reduced cardiomyocyte apoptosis.

Frustaci A, Morgante E, Russo MA, Scopelliti F, Grande C, Verardo R, Franciosa P, Chimenti C. Pathology and Function of Conduction Tissue in Fabry Disease Cardiomyopathy. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2015 Aug;8(4):799-805.

Cardiac arrhythmias are common in Fabry disease (FD) and may occur in prehypertrophic cardiomyopathy suggesting an early compromise of conduction tissue (CT). Therefore, FD X-linked and CT may be variously involved in male and female patients with FD cardiomyopathy, affecting CT function.

Among 74 patients with endomyocardial biopsy diagnosis of FD cardiomyopathy, 13 (6 men; 7 women; mean age, 50.1±13.5 years; maximal wall thickness, 16.7±3.7 mm) had CT included in histological specimens and 6 also at electron microscopy. CT glycolipid infiltration was defined as focal, moderate, extensive, or massive, if involved ≤30%, ≤50%, >50%, or 100% of cells; identified as loosely arranged small myocytes positive to HCN4 immunostaining, supplied by a centrally placed thick-walled arteriole. CT involvement was correlated with age, sex, and α-Gal gene mutation. CT function was evaluated by electrophysiological study and arrhythmias at Holter registration. CT infiltration was focal/moderate in 4 women with no arrhythmias and normal electrophysiological study, extensive in 3 women with atrial or ventricular arrhythmias and short HV interval, and massive in 6 men with atrial fibrillation or ventricular arrhythmias and short HV. Short PR/AH with increased refractoriness was additionally found in 3 patients with extensive/massive CT infiltration. A male patient with the shortest HV presented infra-Hissian block during decremental atrial stimulation. There was no correlation with age, maximal wall thickness, and type of gene mutation.

CT infiltration in FD cardiomyopathy is constant in men and variable in women because of skewed X-chromosome inactivation; its extensive/massive involvement causes accelerated conduction with prolonged refractoriness and electric instability.

Frustaci A, Russo MA, Morgante E, Scopelliti F, Aquilano K, Ciriolo MR, Grande C, Verardo R, Chimenti C. Oxidative myocardial damage in human cocaine-related cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2015 Mar;17(3):283-290.

The pathogenesis of cocaine-related cardiomyopathy (CCM) is still unclear. Oxidative damage from cocaine-generated reactive oxygen species (ROS) overcoming myocardial antioxidant reserve has been hypothesized by experimental studies.

Ten (2.3%) of 430 consecutive cases with dilated cardiomyopathy (DCM) were attributed to CCM. Endomyocardial biopsies from CCM were retrospectively investigated with histology, electron microscopy, immunohistochemistry (graded 0-3), and Western blot analysis for inducible nitric oxide synthase (iNOS) and nitrotyrosine. Oxidative damage to DNA was investigated by immunostaining for 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), while apoptosis and necrosis were evaluated by in situ ligation with hairpin probes. Myocardial anti-oxidant reserve was evaluated through assessment of superoxide dismutase (SOD1-2) and catalase (CT) activity in two frozen samples from each patient. Results were compared with idiopathic DCM and normal controls. Cardiomyocytes were bigger and myocardial fibrosis was more pronounced in CCM than in the DCM cohort. Contraction band necrosis was always detectable only in CCM with sparse lymphocytic infiltrates in three cases. Both iNOS and nitrotyrosine were significantly more expressed in CCM than in DCM.

Immunostaining for 8-OHdG, cardiomyocyte apoptosis, and necrosis were significantly increased in CCM compared with controls and DCM. Myocardial SOD1 and CT activity was significantly decreased compared with DCM and controls, and correlated with cell death and severity of left ventricular dysfunction.

Oxidative stress is a major mechanism of myocardial damage in human CCM. It concurs with calcium overload to myocyte dysfunction and death.

Germani A, Foglio E, Capogrossi MC, Russo MA, Limana F. Generation of cardiac progenitor cells through epicardial to mesenchymal transition. *J Mol Med (Berl)*. 2015 Jul;93(7):735-748.

The epithelial to mesenchymal transition (EMT) is a biological process that drives the formation of cells involved both in tissue repair and in pathological conditions, including tissue fibrosis and tumor metastasis by providing cancer cells with stem cell properties. Recent findings suggest that EMT is reactivated in the heart following ischemic injury. Specifically, epicardial EMT might be involved in the formation of cardiac progenitor cells (CPCs) that can differentiate into endothelial cells, smooth muscle cells, and, possibly, cardiomyocytes. The identification of mechanisms and signaling pathways governing EMT-derived CPC generation and differentiation may contribute to the development of a more efficient regenerative approach for adult heart repair. Here, we summarize key literature in the field.

Petrangeli E, Coroniti G, Brini AT, de Girolamo L, Stanco D, Niada S, Silecchia G, Morgante E, Lubrano C, Russo MA, Salvatori L. Hypoxia Promotes the Inflammatory Response and Stemness Features in Visceral Fat Stem Cells from Obese Subjects. *J Cell Physiol*. 2015 Jul 30. [Epub ahead of print]

Low-grade chronic inflammation is a salient feature of obesity and many associated disorders. This condition frequently occurs in central obesity and is connected to alterations of the visceral adipose tissue (AT) microenvironment. Understanding how obesity is related to inflammation may allow the development of therapeutics aimed at improving metabolic parameters in obese patients. To achieve this aim, we compared the features of two subpopulations of adipose-derived stem cells (ASC) isolated from both subcutaneous and visceral AT of obese patients with the features of two subpopulations of ASC from the same isolation sites of non-obese individuals. In particular, the behavior of ASC of obese versus non-obese subjects during hypoxia, which occurs in obese AT and is an inducer of the inflammatory response, was evaluated. Obesity deeply influenced ASC from visceral AT (obV-ASC); these cells appeared to exhibit clearly distinguishable morphology and ultrastructure as well as reduced proliferation, clonogenicity and expression of stemness, differentiation and inflammation-related genes. These cells also exhibited a deregulated response to hypoxia, which induced strong tissue-specific NF-κB activation and an NF-κB-mediated increase in inflammatory and fibrogenic responses. Moreover, obV-ASC, which showed a less stem-like phenotype, recovered stemness features after hypoxia. Our findings demonstrated the peculiar behavior of obV-ASC, their influence on the obese visceral AT microenvironment and the therapeutic potential of NF-κB inhibitors. These novel findings suggest that the deregulated hyper-responsiveness to hypoxic stimulus of ASC from visceral AT of obese subjects may contribute via paracrine mechanisms to low-grade chronic inflammation, which has been implicated in obesity-related morbidity.

Polletta L, Vernucci E, Carnevale I, Arcangeli T, Rotili D, Palmerio S, Steegborn C, Nowak T, Schutkowski M, Pellegrini L, Sansone L, Villanova L, Runci A, Pucci B, Morgante E, Fini M, Mai A, Russo MA, Tafani M. SIRT5 regulation of ammonia-induced autophagy and mitophagy.

Autophagy. 2015 Feb 20:0. [Epub ahead of print]

In liver the mitochondrial sirtuin, SIRT5, controls ammonia detoxification by regulating CPS1, the first enzyme of the urea cycle. However, while SIRT5 is ubiquitously expressed, urea cycle and CPS1 are only present in the liver and, to a minor extent, in the kidney. To address the possibility that SIRT5 is involved in ammonia production also in nonliver cells, clones of human breast cancer cell lines MDA-MB-231 and mouse myoblast C2C12, overexpressing or silenced for SIRT5 were produced. Our results show that ammonia production increased in SIRT5-silenced and decreased in SIRT5-overexpressing cells. We also obtained the same ammonia increase when using a new specific inhibitor of SIRT5 called MC3482. SIRT5 regulates ammonia production by controlling glutamine metabolism. In fact, in the mitochondria, glutamine is transformed in glutamate by the enzyme glutaminase, a reaction producing ammonia. We found that SIRT5 and glutaminase coimmunoprecipitated and that SIRT5 inhibition resulted in an increased succinylation of glutaminase. We next determined that autophagy and mitophagy were increased by ammonia by measuring autophagic proteolysis of long-lived proteins, increase of autophagy markers MAP1L-C3B, GABARAP, and GABARAPL2, mitophagy markers BNIP3 and the PINK1-PARK2 system as well as mitochondrial morphology and dynamics. We observed that autophagy and mitophagy increased in SIRT5-silenced cells and in WT cells treated with MC3482 and decreased in SIRT5-overexpressing cells. Moreover, glutaminase inhibition or glutamine withdrawal completely prevented autophagy. In conclusion we propose that the role of SIRT5 in nonliver cells is to regulate ammonia production and ammonia-induced autophagy by regulating glutamine metabolism.

Rashid MM, Runci A, Polletta L, Carnevale I, Morgante E, Foglio E, Arcangeli T, Sansone L, Russo MA, Tafani M.

Muscle LIM protein/CSRP3: A mechanosensor with a role in autophagy. *Cell Death Discovery*. 2015 08/03;1:15014. [Epub ahead of print]

Muscle LIM protein (MLP) is a microtubule-associated protein expressed in cardiac and muscle tissues that belongs to the cysteine-rich protein (CSRP/CRP) family. MLP has a central role during muscle development and for architectural maintenance of muscle cells. However, muscle cells rely on autophagy during differentiation and for structural maintenance. To study the role of MLP in autophagy, we have used C2C12 mouse myoblasts silenced or overexpressing MLP. Our results show that MLP contributes to the correct autophagosome formation and flux by interacting with LC3 as demonstrated by co-immunoprecipitation and PLA assay. In fact, MLP silencing results in decreased LC3-II staining and absent degradation of long-lived proteins. Moreover, MLP silencing impaired myoblasts differentiation as measured by decreased expression of MyoD1, MyoG1 and myosin heavy chain. Ultrastructural analysis revealed the presence of large empty autophagosomes in myoblasts and multimembranous structures in myotubes from MLP-silenced clones. Impaired autophagy in MLP-silenced cells resulted in increased susceptibility to apoptotic cell death. In fact, treatment of MLP-silenced C2C12 myoblasts and myotubes with staurosporine resulted in increased caspase-3 and PARP cleavage as well as increased percentage of cell death. In conclusion, we propose that MLP regulates autophagy during muscle cell differentiation or maintenance through a mechanism involving MLP/LC3-II interaction and correct autophagosome formation.

Rashid MM, Runci A, Russo MA, Tafani M.

Muscle Lim Protein (MLP)/CSRP3 at the crossroad between mechanotransduction and autophagy. *Cell Death Dis*. 2015 Oct 22;6:e1940.

Ravenna L, Salvatori L, Russo MA.

HIF3 α : the little we know.

FEBS J. 2015 Oct 28. doi: 10.1111/febs.13572. [Epub ahead of print]

Hypoxia-inducible factors (HIFs) are key regulators of the transcriptional response to hypoxic stress. Three inducible isoforms of HIF are present in mammals. HIF1 α and HIF2 α are the best characterized and structurally similar isoforms, while HIF3 α is the most distantly related and is less studied. The HIF3 α gene undergoes complex regulation and produces a large number of long and short mRNA splice variants, which are translated into different polypeptides. These molecules primarily act as negative regulators of HIF1 α and HIF2 α activity and transcriptional activators of target genes, according to the variant and the biological context. The present review provides an overview of the available, fragmented and sometimes contradictory information concerning the structure, expression and distinct roles of the HIF3 α variants, in both hypoxic adaptation and in hypoxia-unrelated activities. The pathological consequences of HIF3 α deregulation are also illustrated.

Russo MA, Morgante E, Russo A, van Rossum GD, Tafani M. Ouabain-Induced Cytoplasmic Vesicles and Their Role in Cell Volume Maintenance. *Biomed Res Int*. 2015;2015:487256. Epub 2015 Mar 19. Review.

Cellular swelling is controlled by an active mechanism of cell volume regulation driven by a Na(+)/K(+)-dependent ATPase and by aquaporins which translocate water along the osmotic gradient. Na(+)/K(+)-pump may be blocked by ouabain, a digitalic derivative, by inhibition of ATP, or by drastic ion alterations of extracellular fluid. However, it has been observed that some tissues are still able to control their volume despite the presence of ouabain, suggesting the existence of other mechanisms of cell volume control. In 1977, by correlating electron microscopy observation with ion and water composition of liver slices incubated in different metabolic conditions in the presence or absence of ouabain, we observed that hepatocytes were able to control their volume extruding water and recovering ion composition in the presence of ouabain. In particular, hepatocytes were able to sequester ions and water in intracellular vesicles and then secrete them at the bile canaliculus pole. We named this "vesicular mechanism of cell volume control." Afterward, this mechanism has been confirmed by us and other laboratories in several mammalian tissues. This review summarizes evidences regarding this mechanism, problems that are still pending, and questions that need to be answered. Finally, we shortly review the importance of cell volume control in some human pathological conditions.

Tafani M, Sansone L, Limana F, Arcangeli T, De Santis E, Polese M, Fini M, Russo MA.

The interplay of reactive oxygen species, hypoxia, inflammation, and sirtuins in cancer initiation and progression.

Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2015:Article ID 421023.

The presence of ROS is a constant feature in living cells metabolizing O₂. ROS concentration and compartmentation determine their physiological or pathological effects. ROS overproduction is a feature of cancer cells and plays several roles during the natural history of malignant tumor. ROS continuously contribute to each step of cancerogenesis, from the initiation to the malignant progression, acting directly or indirectly. In this review, we will (a) underline the role of ROS in the pathway leading a normal cell to tumor transformation and progression, (b) define the multiple roles of ROS during the natural history of a tumor, (c) conciliate many conflicting data about harmful or beneficial effects of ROS, (d) rethink the importance of oncogene and tumor suppressor gene mutations in relation to the malignant progression, and (e) collocate all the cancer hallmarks in a mechanistic sequence which could represent a "physiological" response to the initial growth of a transformed stem/pluripotent cell, defining also the role of ROS in each hallmark. We will provide a simplified sketch about the relationships between ROS and cancer. The attention will be focused on the contribution of ROS to the signaling of HIF, NF κ B, and Sirtuins as a leitmotif

of cancer initiation and progression.

Basello K, Pacifici F, Capuani B, Pastore D, Lombardo M, Ferrelli F, Coppola A, Donadel G, Arriga R, Sconocchia G, Bellia A, Rogliani P, Federici M, Sbraccia P, Lauro D, Della-Morte D. Serum- and Glucocorticoid-Inducible Kinase (SGK)1 delay the onset of Endothelial Senescence by Directly Interacting with hTERT. *Rejuvenation Res.* 2015 Jul 31. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 26230157.

Endothelial senescence is characteristic of vascular aging. Serum- and glucocorticoid-inducible kinase (SGK)1 belongs to a family of serine/threonine kinases regulated by various external stimuli. SGK1 has been shown to be protective against reactive oxygen species (ROS) production and to be involved in processes regulating aging. However, data on the direct relationship between SGK1 and senescence are sparse. In the present study, we sought to investigate the role of SGK1 in cellular aging by using human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) infected with different constructs. Senescence was measured at different cellular stages by senescence-associated β -galactosidase (SA- β -gal) activity, human telomerase reverse transcriptase (hTERT) activity, p21 protein levels, and ROS production. HUVECs over-expressing full-length SGK1 (wild-type SGK1 [SGK1WT]) showed a decrease in SA- β -gal and p21 expression and a corresponding increase in hTERT activity in the early stages of aging. Moreover, SGK1WT presented lower levels of ROS production. A direct interaction between SGK1WT and hTERT was also shown by co-immunoprecipitation. The SGK1 Δ 60 isoform, lacking the amino-terminal 60 amino acids, did not show interaction with hTERT, suggesting a pivotal role of this protein site for the SGK1 anti-aging function. The results from this study may be of particular importance, because SGK1WT over-expression by activating telomerase and reducing ROS levels may delay the processes of endothelial senescence.

Cacciatore F, Della-Morte D, Basile C, Curcio F, Liguori I, Roselli M, Gargiulo G, Galizia G, Bonaduce D, Abete P. Butyryl cholinesterase is related to muscle mass and strength. A new biomarker to identify elderly subjects at risk of sarcopenia. *Biomark Med.* 2015 Jul;9(7):669-678.

To determine the relationship between Butyryl-cholinesterase (α -glycoprotein synthesized in the liver, b-CHE) and muscle mass and strength. Muscle mass by bioimpedentiometer and muscle strength by grip strength were evaluated in 337 elderly subjects (mean age: 76.2 ± 6.7 years) admitted to comprehensive geriatric assessment. b-CHE levels were lower in sarcopenic than in nonsarcopenic elderly subjects ($p < 0.01$). Linear regression analysis demonstrated that b-CHE is linearly related with grip strength and muscular mass both in men and women ($r = 0.45$ and $r = 0.33$, $p < 0.01$; $r = 0.55$ and $r = 0.39$, $p < 0.01$; respectively). Multivariate analysis confirms this analysis. b-CHE is related to muscle mass and strength in elderly subjects. Thus, b-CHE may be considered to be a fair biomarker for identifying elderly subjects at risk of sarcopenia.

Capuani B, Della-Morte D, Donadel G, Caratelli S, Bova L, Pastore D, De Canio M, D'Aguanno S, Coppola A, Pacifici F, Arriga R, Bellia A, Ferrelli F, Tesauro M, Federici M, Neri A, Bernardini S, Sbraccia P, Di Daniele N, Sconocchia G, Orlandi A, Urbani A, Lauro D. Liver protein profiles in insulin receptor-knockout mice reveal novel molecules involved in the diabetes pathophysiology. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2015 May 1;308(9):E744-55.

Liver has a principal role in glucose regulation and lipids homeostasis. It is under a complex control by substrates such as hormones, nutrients, and neuronal impulses. Insulin promotes glycogen

synthesis, lipogenesis, and lipoprotein synthesis and inhibits gluconeogenesis, glycogenolysis, and VLDL secretion by modifying the expression and enzymatic activity of specific molecules. To understand the pathophysiological mechanisms leading to metabolic liver disease, we analyzed liver protein patterns expressed in a mouse model of diabetes by proteomic approaches. We used insulin receptor-knockout (IR(-/-)) and heterozygous (IR(+/-)) mice as a murine model of liver metabolic dysfunction associated with diabetic ketoacidosis and insulin resistance. We evaluated liver fatty acid levels by microscopic examination and protein expression profiles by orthogonal experimental strategies using protein 2-DE MALDI-TOF/TOF and peptic nLC-MS/MS shotgun profiling. Identified proteins were then loaded into Ingenuity Pathways Analysis to find possible molecular networks. Twenty-eight proteins identified by 2-DE analysis and 24 identified by nLC-MS/MS shotgun were differentially expressed among the three genotypes. Bioinformatic analysis revealed a central role of high-mobility group box 1/2 and huntigtin never reported before in association with metabolic and related liver disease. A different modulation of these proteins in both blood and hepatic tissue further suggests their role in these processes. These results provide new insight into pathophysiology of insulin resistance and hepatic steatosis and could be useful in identifying novel biomarkers to predict risk for diabetes and its complications.

De Luca C, Guadagni F, Sinibaldi-Vallebona P, Sentinelli S, Gallucci M, Hoffmann A, Schumann GG, Spadafora C, Sciamanna I. Enhanced expression of LINE-1-encoded ORF2 protein in early stages of colon and prostate transformation. *Oncotarget.* 2015 Dec 26.. [Epub ahead of print]

LINE-1 (L1) retrotransposons are a source of endogenous reverse transcriptase (RT) activity, which is expressed as part of the L1-encoded ORF2 protein (L1-ORF2p). L1 elements are highly expressed in many cancer types, while being silenced in most differentiated somatic tissues. We previously found that RT inhibition reduces cell proliferation and promotes differentiation in neoplastic cells, indicating that high endogenous RT activity promotes cancer growth. Here we investigate the expression of L1-ORF2p in several human types of cancer. We have developed a highly specific monoclonal antibody (mAb chA1-L1) to study ORF2p expression and localization in human cancer cells and tissues. We uncover new evidence for high levels of L1-ORF2p in transformed cell lines and staged epithelial cancer tissues (colon, prostate, lung and breast) while no or only basal ORF2p expression was detected in non-transformed cells. An in-depth analysis of colon and prostate tissues shows ORF2p expression in preneoplastic stages, namely transitional mucosa and prostate intraepithelial neoplasia (PIN), respectively. Our results show that L1-ORF2p is overexpressed in tumor and in preneoplastic colon and prostate tissues; this latter finding suggests that ORF2p could be considered as a potential early diagnostic biomarker.

De Marchis ML, Barbanti P, Palmirota R, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Piroso S, Ialongo C, Della-Morte D, D'Andrea G, Ferroni P, Guadagni F. Look beyond Catechol-O-Methyltransferase genotype for catecholamines derangement in migraine: the BioBIM rs4818 and rs4680 polymorphisms study. *J Headache Pain.* 2015 Dec;16(1):520. Epub 2015 Apr 30.

The study of COMT gene polymorphisms in migraine could be of particular interest since impaired catecholaminergic neurotransmission, namely chronic dopaminergic and noradrenergic hypofunction, is a peculiar migraine trait. In this study, for the first time, we focused on the role of COMT rs4818 genetic variant, the polymorphism most strongly affecting COMT activity, in migraine. This study was conducted in a cohort of carefully clinical characterized Caucasian migraineurs recruited in a specifically dedicated migraine biobank, providing also a replication study on rs4680 polymorphism. Genotyping of rs4680 and rs4818 Catechol-O-Methyltransferase gene polymorphisms was performed on 380 unrelated migraine patients, and 132 healthy subjects

matched for age, gender and race-ethnicity, with no clinical evidence or family history of migraine or other neurological diseases. The rs4680 and rs4818 genotypic frequencies did not deviate from those expected for a population in Hardy-Weinberg equilibrium and did not correlate with demographics or clinical migraine features, even when considering migraine subtypes such as dopaminergic migraine, menstrual migraine, and menstrually related migraine.

COMT genotype does not influence migraine susceptibility or phenotype, even considering rs4818 polymorphism and peculiar clinical subtypes. This finding prompts to go over COMT to explain catecholamine derangement in migraine, exploring enzymes involved in catecholamines synthesis and catabolism, such as monoamine-oxidase, dopamine beta-hydroxylase, tyrosine-hydroxylase or tyrosine-decarboxylase, among others.

Della-Morte D, Riondino S, Ferroni P, Palmirotta R, Pastore D, Lauro D, Guadagni F, Roselli M. Impact of VEGF gene polymorphisms in elderly cancer patients: clinical outcome and toxicity. *Pharmacogenomics*. 2015 Jan;16(1):61-78.

Vascular endothelial growth factors (VEGFs) are the key regulators in angiogenesis and have been shown to play a significant role in the progression and prognosis of angiogenesis-related diseases, such as cancer. VEGF inhibitors are a current pharmacological tumoral strategy. However, despite the strong association between aging and cancer incidence and progression, recent findings suggest impaired angiogenesis accompanied by a reduced expression of VEGF in cells derived from aging subjects. Specific variations of VEGF genes have been demonstrated to be genetic determinants for susceptibility, outcome and therapy response, especially for the solid tumors. Considering the complications present in frail elderly patients, analysis of VEGF genetic polymorphisms in these subjects may further help in tailoring an angiogenic pharmacological strategy, and in improving our ability to better understand prognosis during therapy-related to cancer.

D'Ambrosio D, Tomaselli V, Gargiulo G, Roselli M, Della-Morte D, Abete P. Evans syndrome presented with marginal zone lymphoma and duodenal neuroendocrine tumor in an elderly woman. *International Journal of Gerontology* 2014 [Epub ahead of print]

Evans syndrome (ES) is an autoimmune disorder characterized by simultaneous or sequential development of autoimmune hemolytic anemia, immune thrombocytopenia, and/or neutropenia. ES can be classified as a primary (idiopathic) or secondary (associated with an underlying disease) syndrome. We report a case of ES in an elderly patient in the presence of multiple trigger factors such as recent influenza vaccine, marginal zone lymphoma, and neuroendocrine tumor G1. Whether this association is casual or causal remains a matter of speculation. It is however necessary to have a thorough work-up in a newly diagnosed ES and a more accurate search of miscellaneous factors especially in elderly patients.

di Grezia F, di Panzillo EA, Russo S, Gargiulo G, Della-Morte D, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P. Prognostic role of lactate on mortality in younger and older patients with cardio-respiratory failure admitted to an acute intensive care unit. *Aging Clin Exp Res*. 2015 Aug 8. [Epub ahead of print]

Acidosis is able to induce negative changes of different organs that increase progressively with aging. At present it is not known whether the levels of lactate may differently influence the prognosis of younger and older patients. Thus, the aim of this study is to evaluate the prognostic value of lactate levels after admission of younger and older patients to an acute intensive care unit.

Younger (<65 years, n = 118) and older (≥ 65 years, n = 165) patients admitted to an acute intensive care unit were prospectively enrolled and classified according to diagnosis of acute heart or/and respiratory failure. For each patient, APACHE II score, time of hospitalization and mortality, blood levels of lactate were collected.

Both in-hospital mortality and lactate >2.5 mmol/L at the admission was higher in the older than in the younger patients (42.4 vs. 20.3 %, $p < 0.01$ and 57.8 vs. 31.9 %, $p < 0.01$, respectively). Lactate level was higher in older than in the younger patients both at admission and after 24 h (3.9 ± 3.4 vs. 2.4 ± 2.2 mmol/L and 2.4 ± 2.0 vs. 1.4 ± 1.3 mmol, $p < 0.01$, respectively). Accordingly, multivariate analysis shows that lactate was predictive of mortality in younger (OR = 2.65, 95 % CI 1.62-5.24, $p = 0.03$) and even more in the older (OR = 4.74, 95 % CI 2.10-6.70, $p < 0.01$) patients. Lactate concentration increase is associated with increased mortality in younger patients but, even more so, in older patients admitted to an acute intensive care unit. These results confirm the experimental evidence showing acidosis has a greater effect of leading to organ failure and higher mortality with increasing age.

Dong C, Della-Morte D, Beecham A, Wang L, Cabral D, Blanton SH, Sacco RL, Rundek T. Genetic variants in LEKR1 and GALNT10 modulate sex-difference in carotid intima-media thickness: A genome-wide interaction study. *Atherosclerosis*. 2015 Apr 16;240(2):462-467.

There is an established sex-difference in carotid artery intima-media thickness (cIMT), a recognized marker of subclinical atherosclerosis. However, the genetic underpinnings of sex-differences in gene-IMT associations are largely unknown.

With a multistage design using 731,037 single nucleotide polymorphisms (SNP), a genome wide interaction study was performed in a discovery sample of 931 unrelated Hispanics, followed by replication in 153 non-Hispanic whites and 257 non-Hispanic blacks. Assuming an additive genetic model, we tested for sex-SNP interactions on cIMT using regression analysis.

We did not identify any genome-wide significant SNPs but identified 14 loci with suggestive significance. Specifically, SNP-by-sex interaction was found for rs7616559 within LEKR1 gene ($P = 3.5E-06$ in Hispanic discovery sample, $P = 0.018$ in White, and $P = 1.3E-06$ in combined analysis) and for rs2081015 located within GALNT10 gene ($P = 4.5E-06$ in Hispanic discovery sample, $P = 0.042$ in Blacks, and $P = 5.3E-07$ in combined analysis). For rs7616559 within LEKR1, men had greater cIMT than women in G allele carriers (beta \pm SE: 0.044 ± 0.007 , $P = 4.2E-09$ in AG carriers; beta \pm SE: 0.064 ± 0.007 , $P = 6.2E-05$ in GG carriers). For rs2081015 within GALNT10, men had greater cIMT than women in C allele carriers (beta \pm SE: 0.022 ± 0.007 , $P = 0.002$ in CT carriers; beta \pm SE: 0.051 ± 0.008 , $P = 3.1E-10$ in CC carriers).

Our genome-wide interaction analysis reveals multiple loci that may modulate sex difference in cIMT. Of them, genetic variants on LEKR1 and GALNT10 genes have been associated with control of adiposity and weight. Given the consistent findings across different-ethnic groups, further studies are warranted to perform investigations of functional genetic variants in these regions.

Dong C, Della-Morte D, Cabral D, Wang L, Blanton SH, Seemant C, Sacco RL, Rundek T. Sirtuin/uncoupling protein gene variants and carotid plaque area and morphology. *Int J Stroke*. 2015 Dec;10(8):1247-1252.

Sirtuins and uncoupling proteins have been implicated in cardiovascular diseases by controlling oxidative stress.

We sought to investigate the association of sirtuins and uncoupling proteins single nucleotide polymorphisms with total carotid plaque area and morphology measured by ultrasonographic gray scale median.

We analyzed 1356 stroke-free subjects (60% women, mean age = 68 ± 9 years) from the Northern Manhattan Study. Multiple linear regression models were used to evaluate the association of 85

single nucleotide polymorphisms in 11 sirtuins/uncoupling protein genes with total plaque area and gray scale median after controlling for demographics, vascular risk factors (RFs), and population stratification. We investigated effect modifications of these relationship by gender and RFs and performed stratified analysis if the interaction effect had $P < 0.005$.

Among individuals with present plaque (55%), the mean total plaque area was $20.3 \pm 20.8 \text{ mm}^2$ and gray scale median 90 ± 29 . After adjustment, SIRT6 rs107251 was significantly associated with total plaque area ($\beta = 0.30$ per copy of T allele increase, Bonferroni-corrected $P = 0.005$). T allele carriers of rs1430583 in UCP1 showed a decreased gray scale median in women but not in men. The minor allele carriers of rs4980329 and rs12363280 in SIRT3 had higher gray scale median in men but not in women. Variants in UCP3 gene were significantly associated with higher mean gray scale median in individuals with dyslipidemia.

Our findings suggest that polymorphisms in SIRT6/UCP1 genes may be important for increased carotid plaque burden and echodensity, but translation of these findings to an individual risk of cerebrovascular events needs further investigation. Significant associations of rs1430583 in women, rs12363280 in men, and rs1685354 in those with dyslipidemia also deserve further investigations.

Ferroni P, Palmirotta R, Riondino S, De Marchis ML, Nardecchia A, Formica V, Guadagni F, Roselli M.

VEGF gene promoter polymorphisms and risk of VTE in chemotherapy-treated cancer patients. *Thromb Haemost.* 2015 Sep 3;115(1). [Epub ahead of print]

Among the possible genetic contributors to cancer-related venous thromboembolism (VTE), vascular endothelial growth factor (VEGFA) could play an important role, as an imbalance of the VEGFA system (either disease-related or drug-induced) may result in a disturbance of vascular homeostasis. Thus, this study was designed to investigate the predictive role of eight different VEGFA gene promoter single nucleotide polymorphisms (SNPs) for a first VTE episode in cancer out-patients undergoing chemotherapy. To this purpose, VEGFA gene promoter polymorphisms were analysed in 297 cancer patients using polymerase chain reaction amplification and direct DNA sequencing analysis. One hundred forty unrelated healthy subjects from the same geographical area were also analysed in order to evaluate and compare genotype/haplotype frequencies in our ethnicity. VTE occurred in 26 (9%) of cancer patients with a median time-to-event of 3.4 months. Association analyses showed that -1154G/A polymorphism was significantly associated with the risk of chemotherapy-triggered VTE, with the A allele exerting a protective role both in the overall population (hazard ratio [HR]: 0.21; 95% confidence interval [CI]: 0.07-0.58) or in bevacizumab-treated metastatic patients (HR: 0.09, 95%CI: 0.01-0.86) in whom VEGFA -1154AA genotype also conferred a reduced risk of early progression (HR: 0.58, 95%CI: 0.34-0.98). These results suggest that VEGFA may represent a candidate gene contributing to VTE development in chemotherapy treated cancer patients and that -1154G/A SNP might provide useful clinical information on the efficacy and toxicity of bevacizumab in metastatic patients. Validation studies are needed for translation into clinical practice.

Ferroni P, Riondino S, Buonomo O, Palmirotta R, Guadagni F, Roselli M.

Type 2 diabetes and breast cancer: The interplay between impaired glucose metabolism and oxidant stress.

Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2015 06/11; Epub 2015 Jun 11.

Metabolic disorders, especially type 2 diabetes and its associated complications, represent a growing public health problem. Epidemiological findings indicate a close relationship between diabetes and many types of cancer (including breast cancer risk), which regards not only the dysmetabolic condition, but also its underlying risk factors and therapeutic interventions. This review discusses the advances in understanding of the mechanisms linking metabolic disorders

and breast cancer. Among the proposed mechanisms to explain such an association, a major role is played by the dysregulated glucose metabolism, which concurs with a chronic proinflammatory condition and an associated oxidative stress to promote tumour initiation and progression. As regards the altered glucose metabolism, hyperinsulinaemia, both endogenous due to insulin-resistance and drug-induced, appears to promote tumour cell growth through the involvement of innate immune activation, platelet activation, increased reactive oxygen species, exposure to protumorigenic and proangiogenic cytokines, and increased substrate availability to neoplastic cells. In this context, understanding the relationship between metabolic disorders and cancer is becoming imperative, and an accurate analysis of these associations could be used to identify biomarkers able to predict disease risk and/or prognosis and to help in the choice of proper evidence-based diagnostic and therapeutic protocols.

Ferroni P, Riondino S S, Formica V, Cereda V, Tosetto L, La Farina F, Valente MG, Vergati M, Guadagni F, Roselli M.

Venous thromboembolism risk prediction in ambulatory cancer patients. Clinical significance of neutrophil/lymphocyte ratio and platelet/lymphocyte ratio.

Int J Cancer. 2015 Mar 1;136(5):1234-1240.

Neutrophil/lymphocyte (NLR) and platelet/lymphocyte (PLR) ratios might represent a yet unrecognized risk factor for venous thromboembolism (VTE) in cancer out-patients receiving chemotherapy. Accordingly, this study was aimed at analyzing the significance of these novel markers in the risk prediction of a first VTE episode in a population representative of a general practice cohort. To this purpose, a mono-institutional cohort study was conducted to retrospectively analyze NLR and PLR in 810 consecutive cancer out-patients with primary or relapsing solid cancer at the start of a new chemotherapy regimen. Over a median follow-up of 9.2 months, VTE occurred in 6.7% of patients. Incidental VTE was diagnosed at time of restaging in 47% of cases. Median pre-chemotherapy NLR ($p = 0.015$) and PLR ($p = 0.040$) were significantly higher in patients with intermediate risk class who developed symptomatic VTE with a twofold increased VTE risk for both inflammation-based markers (NLR: $p = 0.022$; PLR: $p = 0.037$) and a worst 1-year VTE-free survival for patients with high NLR or PLR. However, only PLR (HR = 2.4, $p = 0.027$) confirmed to be an independent predictor of future VTE in patients in the intermediate risk class in multivariate analysis, together with ECOG performance status (HR = 3.4, $p = 0.0002$) and bevacizumab use (HR = 4.7, $p = 0.012$). We may, thus, conclude that PLR, but to a lesser extent NLR, could represent useful clinical predictors of VTE, especially in selected categories of patients such as those in the intermediate risk class in whom the assessment of PLR could allow a better risk stratification of VTE without additional costs to the national health systems.

Lauro D, Pastore D, Capuani B, Pacifici F, Palmirotta R, Abete P, Roselli M, Bellia A, Federici M, Di Daniele N, Sbraccia P, Guadagni F, Lauro R, Della-Morte D.

Role of Serum and Glucocorticoid-Inducible Kinase (SGK)-1 in Senescence: a Novel Molecular Target against Age-Related Diseases.

Curr Med Chem. 2015 Aug 12. [Epub ahead of print]

Senescence is a phenomenon characterized by a progressive decline of body homeostasis. Premature senescence acts when the cellular system is not able to adequately respond to noxious stimuli by synthesis of stressor molecules. Among those, serum-and-glucocorticoid-inducible kinase-1 (SGK-1) dramatically increases under typical physiopathological conditions, such as glucocorticoid or mineralcorticoids exposure, inflammation, hyperglycemia, and ischemia. SGK-1 has been implicated in mechanism regulating oxidative stress, apoptosis, and DNA damage, which are all leading to a state of accelerating aging. Moreover, SGK-1-sensitive ion channels participate in the regulation of renal Na^+/K^+ regulation, blood pressure, gastric acid secretion, cardiac action potential, and neuroexcitability. Recently, we demonstrated in endothelial cells as

an increase in SGK-1 activity and expression reduces oxidative stress, improves cell survival and restores insulin-mediated nitric oxide production after hyperglycemia. Moreover, we showed as SGK-1 delays the onset of senescence by increasing telomerase activity, significantly decreasing reactive oxygen species (ROS) production, and by directly interacting with hTERT. Therefore, SGK-1 may represent a specific target to further develop novel therapeutic options against chronic diseases such as diabetes typical of aging. SGK-1 has been also associated with cancer, neurodegenerative diseases, and cardiovascular disease, among other age-related diseases. However, to date, the data available on SGK-1 and aging, are sparse, controversial, and only from *C. elegans* experimental models. In this review we sought to discuss the possible implication of SGK-1 in mechanisms regulating senescence and age-related diseases. Moreover, we aimed to discuss and identify the possible role of SGK-1 as possible molecular target to counteract and prevent aging.

Palmirotta R, Barbanti P, Ialongo C, De Marchis ML, Alessandrini J, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Valente MG, Ferroni P, Della-Morte D, Guadagni F. Progesterone receptor gene (PROGINS) polymorphism correlates with late onset of migraine. *DNA Cell Biol.* 2015 Mar;34(3):208-212.

Progesterone influences central neuronal excitability, a key event in migraine pathophysiology. Progesterone receptor gene (PGR) rs1042838 (G/T - Val660Leu) variant is indicative of PROGINS haplotype and associated to a reduced PGR activity. With the aim of investigating whether any type of association existed between this genetic variant and migraine pathophysiology, genotyping was performed in 380 consecutive migraine patients and 185 age-, sex-, and race-ethnicity-matched healthy controls from Interinstitutional Multidisciplinary BioBank (BioBIM) of IRCCS San Raffaele Pisana, Rome, Italy. rs1042838 genotypes did not correlate with demographics or clinical migraine features. However, TT (Leu) genotype was significantly associated with a later age of migraine onset: Patients affected by migraine with aura showed a linear relationship between copy number of the T allele carried by the individual and the age of migraine onset. Our data suggest that the PROGINS PGR polymorphism does not directly predispose to migraine but significantly delays migraine onset probably via a reduction in brain neuronal excitability.

Pastore D, Della-Morte D, Coppola A, Capuani B, Lombardo MF, Pacifici F, Ferrelli F, Arriga R, Mammi C, Federici M, Bellia A, Di Daniele N, Tesauro M, Donadel G, Noto D, Sbraccia P, Sconocchia G, Lauro D. SGK-1 protects kidney cells against apoptosis induced by ceramide and TNF- α . *Cell Death Dis.* 2015 Sep 17;6:e1890. doi: 10.1038/cddis.2015.232.

Ceramide regulates several different cellular responses including mechanisms leading to apoptosis. Serum- and glucocorticoid-inducible protein kinase (SGK)-1 is a serine threonine kinase, which activates survival pathways in response to stress stimuli. Recently, we demonstrated an anti-apoptotic role of SGK-1 in human umbilical endothelial cells treated with high glucose. In the present study, since ceramide induces apoptosis by multiple mechanisms in diabetes and its complication such as nephropathy, we aimed to investigate whether SGK-1 may protect even against apoptosis induced by ceramide in kidney cells. Human embryonic kidney (HEK)-293 cells stable transfected with SGK-1 wild type (SGK-1wt) and its dominant negative gene (SGK-1dn) have been used in this study. Apoptotic stimuli were induced by C2-ceramide and TNF- α to increase endogenous synthesis of ceramide. Upon activation with these stimuli, SGK-1wt transfected cells have a statistically significant reduction of apoptosis compared with SGK-1dn cells ($P < 0.001$). This protection was dependent on activation of caspase-3 and Poly-ADP-ribose-polymerase-1 (PARP-1) cleavage. SGK-1 and AKT-1 two highly homologous kinases differently reacted to ceramide treatment, since SGK-1 increases in response to apoptotic stimulus while AKT-1 decreases. This enhancement of SGK-1 was dependent on p38-mitogen-activated-protein kinases (p38MAPK), cyclic-adenosine-monophosphate/protein kinase A (cAMP/PKA) and phosphoinositide-3-kinase

(PI3K) pathways. Especially, by using selective LY294002 inhibitor, we demonstrated that the most involved pathway in the SGK-1 mediated process of protection was PI3K. Treatment with inhibitor of SGK-1 (GSK650394) significantly enhanced TNF- α -dependent apoptosis in HEK-293 cells overexpressing SGK-1wt. Caspase-3, -8 and -9 selective inhibitors confirmed that SGK-1 reduced the activation of caspase-dependent apoptosis, probably by both intrinsic and extrinsic pathways. In conclusion, we demonstrated that in kidney cells, overexpression of SGK-1 is protective against ceramide-induced apoptosis and the role of SGK-1 can be potentially explored as a therapeutic target in conditions like diabetes, where ceramide levels are increased.

Raparelli V, Basili S, Ferroni P. Platelet Function: the Janus face of haemostasis in cirrhosis. *Thromb Res.* 2015 Jun;135(6):1224-1225.

Riondino S, Ferroni P, Spila A, Alessandrini J, D'Alessandro R, Formica V, Della-Morte D, Palmirotta R, Nanni U, Roselli M, Guadagni F. Ensuring Sample Quality for Biomarker Discovery Studies - Use of ICT Tools to Trace Biosample Life-cycle. *Cancer Genomics Proteomics.* 2015 11-12;12(6):291-299.

The growing demand of personalized medicine marked the transition from an empirical medicine to a molecular one, aimed at predicting safer and more effective medical treatment for every patient, while minimizing adverse effects. This passage has emphasized the importance of biomarker discovery studies, and has led sample availability to assume a crucial role in biomedical research. Accordingly, a great interest in Biological Bank science has grown concomitantly. In biobanks, biological material and its accompanying data are collected, handled and stored in accordance with standard operating procedures (SOPs) and existing legislation. Sample quality is ensured by adherence to SOPs and sample whole life-cycle can be recorded by innovative tracking systems employing information technology (IT) tools for monitoring storage conditions and characterization of vast amount of data. All the above will ensure proper sample exchangeability among research facilities and will represent the starting point of all future personalized medicine-based clinical trials.

Riondino S, Nanni U, Betsou F, Rossetti L, Fiorentino R, Palmirotta R, Ferroni P, Roselli M, Guadagni F. Sample PReanalytical code for labeling of biospecimens: An analysis of specimen labeling protocols. *Journal of Biorepository Science for Applied Medicine.* 2015; Volume 2015:3(1)15-21.

The suitability of samples for a given research depends on many variables, among which, the best preanalytical conditions for the type of test that should be carried out. Thus, standardization and harmonization of processing conditions for samples entering a particular study should be highly pursued to facilitate research collaborations among different institutions and biological banks, allowing specimen comparison both for sample sharing and for the development of large-scale clinical trials. In this study, we review some issues and scenarios related to the adoption of the Sample PReanalytical Code, which deserve attention for a proper management of the samples and, ultimately, for maximizing the efficiency of the consistent investments required to set up biobanking resources.

Rundek T, Gardener H, Della-Morte D, Dong C, Cabral D, Tiozzo E, Roberts E, Crisby M, Cheung K, Demmer R, Elkind MS, Sacco RL, Desvarieux M. The relationship between carotid intima-media thickness and carotid plaque in the Northern Manhattan Study. *Atherosclerosis.* 2015 Jun 3;241(2):364-370.

Carotid intima-media thickness (cIMT) and carotid plaque (CP) are proposed biomarkers of sub-clinical atherosclerosis associated with stroke risk. Whether cIMT and CP are distinct phenotypes or single traits at different stages of atherosclerotic development is unclear. We explored the relationship between these markers in the population-based Northern Manhattan Study.

We used high-resolution ultrasound and validated imaging protocols to study the cross-sectional (N = 1788 stroke-free participants) and prospective relationship (N = 768 with follow-up scan; mean years between examinations = 3.5) between CP and cIMT measured in plaque-free areas. The mean age was 66 ± 9 (40% male, 19% black, 17% white, 61% Hispanic). The mean baseline cIMT was 0.92 ± 0.09 mm, 0.94 ± 0.09 mm among the 58% with prevalent plaque, 0.90 ± 0.08 mm among the 42% without prevalent plaque ($p < 0.0001$). Each 0.1 mm increase in baseline cIMT was associated with a 1.72-fold increased odds of plaque presence (95%CI = 1.50-1.97), increased plaque thickness (effect on the median = 0.46 mm, $p < 0.0001$), and increased plaque area (effect on the median = 3.45 mm², $p < 0.0001$), adjusting for demographics and vascular risk factors. Elevated baseline cIMT was associated with an increased risk of new plaque in any location at follow-up, but after adjusting for demographics and vascular risk factors this association was no longer present. No association was observed in carotid segment-specific analyses. Increased cIMT was associated with baseline prevalent plaque but did not predict incident plaque independent of other vascular risk factors. This finding suggests that increased cIMT is not an independent predictor of plaque development although these atherosclerotic phenotypes often coexist and share some common vascular determinants.

Sardella G, Calcagno S, Mancone M, Lucisano L, Pennacchi M, Stio RE, Placentino F, Di Roma A, Cavallo E, Palmirota R, Guadagni F, Fedele F.

Comparison of therapy with Ticagrelor, Prasugrel or high Clopidogrel dose in PCI patients with high on treatment platelet reactivity and genotype variation. TRIPLETE RESET trial. *Int J Cardiol.* 2015 May 15;194:60-62.

LINEA 3

SVILUPPO DI SISTEMI INNOVATIVI PER IL MONITORAGGIO ED IL CONTROLLO DELLA RISPOSTA AL TRATTAMENTO RIABILITATIVO

Caratterizzazione fenotipica dei deficit cognitivi e delle alterazioni metaboliche nei disturbi del neurosviluppo in età evolutiva e confronti con le psicosi in età adulta

Le gravi psicosi sia dell'età evolutiva (autismo) che di quella adulta (schizofrenia) presentano delle sovrapposizioni fenomenologiche, sia a livello fenotipico (deficit cognitivo) che nei possibili modelli fisiopatologici (deficit di connettività neurale). Pertanto appare utile studiare entrambe le patologie sia da un punto di vista genetico che da quello della ricerca di biomarcatori periferici, al fine sia di effettuare una diagnosi sempre più precoce sia di individuare nuovi bersagli terapeutici. Il progetto si prefigge di indagare il contributo della configurazione genetica alla patogenesi dell'autismo e della schizofrenia con particolare riferimento alle abilità cognitive. Ci si prefigge inoltre di individuare i possibili biomarcatori periferici sia nell'autismo che nella schizofrenia, utili sia per una diagnosi precoce che per una personalizzazione del trattamento.

Sono state effettuate: revisioni sistematiche e meta-analisi sul ruolo del danno ossidativo nell'autismo; analisi sul genoma di soggetti autistici e confronto con controlli sani; analisi di metaboliti periferici in autistici e controlli. Reclutamento dopo consenso informato di pazienti affetti da schizofrenia, raccolta di campioni ematici, e di informazioni clinico-demografiche, estrazione ed analisi del DNA, sequenziamento genomico ed analisi di eventuali relazioni con le caratteristiche cliniche.

Si è concluso il reclutamento dei pazienti schizofrenici (totale 145; 68 reclutati presso Villa dei Fiori, gruppo San Raffaele, Roma; 77 reclutati presso l'Ospedale San Filippo Neri, Roma). Per ciascun paziente è stato ottenuto un campione di sangue che è stato aliquotato e conservato a -80 C°; da una di queste aliquote per ogni paziente è stato estratto il DNA. Inoltre tutti i pazienti sono stati caratterizzati secondo un approccio multidimensionale che prevede la raccolta di informazioni socio-demografiche, anamnestiche e sintomatologiche, con particolare riferimento alla funzionalità cognitiva.

Sono state realizzate collaborazioni con università a livello nazionale ed internazionale:

- Istituto di Psichiatria dell'Università di Bologna e Dipartimento di Neuroscienze dell'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri di Milano; nello specifico, sono state inviate, in forma anonimizzata aliquote di DNA di pazienti con psicosi schizofrenica corredate, sempre in forma anonimizzata, da informazioni clinico-epidemiologiche; ciò allo scopo di effettuare una genotipizzazione relativa ad alcuni geni candidati e ad individuare eventuali relazioni con dimensioni sintomatologiche e funzionalità cognitiva. I campioni di DNA di pazienti schizofrenici entreranno in un pool internazionale di campioni che verranno analizzati tramite PsychChip, una nuova piattaforma per analisi genome-wide sviluppata da Illumina in collaborazione con Psychiatric Genetics Consortium (PGC). PsychChip è disegnato per individuare le varianti genetiche sia rare che comuni, specifiche per la genetica psichiatrica.
- Laboratorio del Department of Psychiatry and Human Behaviour della University of California, Irvine, CA-USA; nello specifico sono state inviate, in forma anonimizzata, aliquote di DNA di pazienti con psicosi schizofrenica; questi campioni sono stati avviati alla genotipizzazione per mezzo della Illumina Express platform.
- È stata avviata una collaborazione con il Laboratorio di Biogerontologia - CEMI, Dipartimento di Geriatria, Neuroscienze ed Ortopedia, Università Cattolica del Sacro Cuore per uno studio caso-controllo sui telomeri in pazienti schizofrenici. I telomeri sono dei complessi DNA-proteine cruciali per il mantenimento dell'integrità cromosomica; situati all'estremità cromosomica pro-

teggono dalla perdita di DNA cromosomico e nel mantenimento della stabilità genomica. La lunghezza dei telomeri declina con la divisione cellulare e con l'età. Il DNA dei 145 pazienti schizofrenici (122 valutabili) verrà confrontato con DNA di controlli non psichiatrici appaiati per età e genere al fine di evidenziare differenze nella lunghezza dei telomeri. Per i controlli sono stati ottenuti 144 campioni di sangue intero (122 valutabili) dalla collaborazione con la Biobanca Interistituzionale Multidisciplinare, BioBIM, dell'IRCCS San Raffaele Pisana. Completata l'estrazione del DNA e terminata la misurazione delle lunghezze telomeriche i dati sono attualmente in corso di valutazione ed i risultati sono previsti per i primi mesi del 2016.

Sono state condotte revisioni sistematiche di letteratura e meta-analisi sul danno ossidativo nell'autismo infantile, con pubblicazione su riviste internazionali.

Sono state condotte revisioni sistematiche di letteratura su biomarcatori periferici nella schizofrenia (proteina S100B nel siero).

Sono state condotte analisi di letteratura al fine di individuare nuove ipotesi di indagine molecolare sulla schizofrenia in prospettiva di disturbo del neuro-sviluppo, in particolare sui micro-RNA e sui telomeri.

La Tabella che segue riporta i dati descrittivi della popolazione in esame e il valore medio della lunghezza telomerica nei controlli e nei pazienti con diagnosi di schizofrenia.

Variabili	Gruppo	N	Media+SD
Lunghezza telomerica	sk	122	0.63+0.32
	ctr	122	0.62+0.34
Sesso	M	53.7%	
	F	46.3%	
Età al prelievo	sk		48.71+13.6
	ctr		48.77+13.4
Smoking habit	si	42%	
	no	58%	
Sigarette al giorno	sk		22.20+10.81
	ctr		13.56+8.94
Anni di Scolarità	sk		10.97+3.11
	ctr		13.96+4.36
Livello istruzione	Elementare e medie	28.6%	
	Superiori	32.9%	
	Laurea	21.2%	
	Non riportato	17.3%	

La Tabella 2 riporta i dati grezzi della lunghezza telomerica in soggetti non affetti da schizofrenia e in soggetti affetti da schizofrenia.

ID_controlli	LunghezzaTelomerica_Rel_T/S	ID_pazienti	LunghezzaTelomerica_Rel_T/S
1	0,56	1	0,44
2	0,79	2	0,33
3	0,27	3	0,36

4	0,66	4	0,81
5	0,78	5	0,59
6	1,23	6	0,47
7	0,11	7	0,55
8	0,76	8	1,37
9	0,35	9	0,24
10	0,62	10	1,09
11	1,19	11	0,28
12	1,38	12	0,66
13	1,48	13	0,73
14	1,49	14	1,32
15	0,76	15	0,59
16	1,44	16	0,22
17	0,70	17	0,57
18	1,09	18	0,47
19	0,16	19	0,59
20	0,50	20	0,33
21	0,54	21	0,42
22	1,21	22	0,32
23	0,31	23	0,59
24	1,75	24	0,76
25	1,35	25	0,68
26	0,98	26	0,12
27	0,34	27	0,19
28	0,40	28	0,73
29	0,83	29	0,45
30	0,15	30	0,22
31	0,18	31	0,35
32	0,45	32	0,44
33	0,30	33	0,46
34	0,35	34	0,81
35	0,51	35	0,84
36	1,13	36	0,76
37	0,56	37	0,34
38	1,15	38	0,50
39	0,36	39	0,54
40	0,40	40	0,35
41	1,14	41	0,58
42	0,57	42	0,41
43	1,27	43	0,33
44	0,42	44	0,48
45	0,71	45	0,51
46	0,93	46	1,07
47	0,59	47	0,59
48	0,96	48	1,61
49	1,06	49	0,44
50	0,74	50	0,42

51	0,82	51	0,38
52	0,68	52	0,38
53	0,78	53	0,38
54	0,30	54	0,36
55	0,68	55	0,66
56	0,55	56	0,71
57	0,39	57	0,67
58	0,52	58	0,45
59	0,19	59	1,91
60	0,48	60	1,30
61	0,29	61	0,78
62	0,25	62	0,59
63	0,35	63	0,54
64	0,33	64	0,45
65	0,44	65	0,29
66	0,41	66	0,24
67	0,41	67	0,22
68	0,24	68	0,59
69	0,39	69	0,95
70	1,26	70	0,37
71	0,83	71	0,75
72	0,30	72	0,76
73	0,36	73	1,26
74	0,51	74	0,93
75	0,59	75	0,52
76	0,18	76	0,88
77	0,30	77	0,80
78	0,63	78	1,23
79	0,62	79	0,31
80	0,64	80	0,52
81	1,04	81	0,44
82	0,41	82	0,35
83	0,59	83	1,00
84	0,47	84	0,12
85	1,11	85	1,03
86	0,55	86	0,54
87	0,50	87	0,87
88	0,40	88	0,53
89	0,62	89	0,24
90	0,48	90	0,23
91	0,67	91	0,81
92	0,43	92	0,98
93	0,02	93	0,54
94	0,50	94	0,50
95	0,76	95	0,62
96	0,39	96	0,64
97	0,42	97	0,32
98	0,34	98	0,72

99	0,70	99	0,80
100	0,39	100	1,09
101	0,48	101	0,88
102	0,41	102	0,57
103	0,30	103	0,33
104	0,78	104	1,00
105	0,73	105	0,73
106	1,03	106	1,27
107	0,71	107	0,51
108	0,29	108	0,66
109	0,41	109	0,76
110	0,48	110	0,54
111	0,55	111	0,57
112	0,76	112	0,45
113	0,92	113	0,33
114	0,31	114	0,23
115	0,78	115	1,06
116	0,50	116	1,23
117	0,62	117	0,87
118	0,43	118	0,78
119	0,41	119	1,18
120	0,74	120	0,81
121	0,13	121	0,19
122	0,54	122	0,67

La Tabella 3 riporta le dosi cliniche equivalenti di antipsicotici per ogni singolo paziente, in accordo a International Consensus Study of Antipsychotic Dosing (Gardner et al., Am J Psychiatry 167:686-693; 2010).

ID_pz	Olanzapina (N05AH03)EQ (mg/day)*	Clorpromazina(N05AA01/2) EQ (mg/day)**
1	0,5	15
2	5,495	163,16
3	0,025	0,75
4	16,8	72
5	4,22	126,67
6	18	108
7	20,031	600,009
8	1,103	33,08
9	40,1933	1205,72
10	0,839	25,14
11	20,3213	609,62
12	2,2233	66,6
13	0,497	14,9
14	0,0243	0,723
15	2	48,75
16	0,0544	1,633
17	2,025	60,74
18	2,22	66,5
19	1,206	36,183
20	0,2565	7,7
21	1,608	480,025
22	10,0055	300,16
23	2	60
24	20,0055	600,16
25	10,0108	300,32
26	0,0069	0,208

27	3,62296	108,6816
28	1	30
29	0,004	0,119
30	0,043	1,312
31	20,0027	600,083
32	2,2227	66,583
33	12,4018	372,053
34	1,5	45
35	1,00275	30,0833
36	0,0145	1,488
37	0,4031	12,093
38	5,0005	150,16
39	2,4	72
40	0,586	17,537
41	1,2	36
42	1,25	37,5
43	2,49	75
44	2,231	66,83
45	4,8066	144,2
46	24,05	721,5
47	26,9655	161,09
48	0,7325	21,875
49	7,2216	216,64
50	10,555	316,6
51	16,095	483,333
52	32,25	643,5
53	35,23	1057,79
54	0,0841	2,515
55	0,0187	0,562
56	2	60
57	20,1305	603,91
58	2,7805	83,49
59	4,8	144
60	2,2255	66,66
61	2,0055	60,16
62	0,025	0,791
63	0,025	0,75
64	0,025	0,75
65	10,5	315
66	1,6698	50,146
67	0,8027	24,0833
68	0,0108	0,32
69	12	360
70	2	60
71	0,05	1,5
72	0,037	1,125
73	3,33	100

74	0,025	0,75
75	0,05	1,5
76	0,05	1,5
77	3,363	101
78	3,33	100
79	0,06	1,8
80	1,48	44,46
81	0,031	0,93
82	0,0449	1,347
83	2,3	68,9
84	1,6825	50,375
85	0,116	3,5
86	0,05	1,5
87	20,075	602,25
88	0,0543	1,628
89	2	60
90	2,022	60,667
91	3	90
92	1	30
93	1	30
94	1,05	31,5
95	0,125	3,75
96	3,17	95
97	2,0375	61,125
98	3,33	100
99	2,22	66,6
100	2	60
101	3	90
102	3,33	100
103	3,33	100
104	3,33	100
105	2,22	66,6
106	3,3408	100,32
107	1	30
108	2	60
109	3,33	100
110	0,67	20
111	2,0288	60,853
112	3,33	100
113	0,0312	0,93
114	3,33	100
115	1,48	44,46
116	0,555	16,6
117	2	60
118	2	60
119	1	30
120	0,003	0,468
121	1,665	50
122	2	60

*: OLANZAPINA (N05AH03) EQ (MG/DAY) - DOSE CONSIGLIATA (MG/DAY 10-20; MEDIANA DOSE MAX 30)
 **: CLORPROMAZINA (N05AA01/2) EQ (MG/DAY) - DOSE CONSIGLIATA (MG/DAY 300-600; MEDIANA MAX 800)

Nel corso del 2016 si provvederà ad elaborare i dati delle analisi genetiche ed alla diffusione dei risultati tramite pubblicazioni su riviste scientifiche internazionali.

Caratterizzazione genotipica e fenotipizzazione molecolare della Bronco-Pneumopatia-Cronico-Ostruttiva (BPCO). Fase II: "Monitoraggio e valutazione degli effetti della riabilitazione respiratoria: applicazione di un approccio di System Medicine per l'implementazione di una piattaforma di informazioni cliniche, epidemiologiche e campioni biologici relativi all'eziologia, alla patogenesi e al trattamento di pazienti con insufficienza respiratoria"

Oggi in Italia e in Europa, le malattie del sistema respiratorio costituiscono la terza causa di morte dopo i tumori e le malattie cardiocircolatorie. Per la loro elevata incidenza e prevalenza, rappresentano una delle più frequenti cause di malattia e invalidità, comportando un notevole carico assistenziale per la società. Nel 2020, 11.9 milioni di decessi su 68 milioni a livello mondiale saranno causati da malattie polmonari (4.7 da BPCO, 2.5 da polmonite, 2.4 da TB e 2.3 da carcinoma polmonare).

Il progetto prevedeva la costruzione di una piattaforma per la raccolta di dati complessi relativi ai pazienti ricoverati dal 2005 con diagnosi di insufficienza respiratoria presso i reparti di Pneumologia Riabilitativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana, della Casa di Cura San Raffaele Cassino e della Casa di Cura San Raffaele Montecompatri. Lo scopo della piattaforma riabilitativa è di implementare un database unico di informazioni cliniche volto al monitoraggio delle attività dei reparti. La grande disponibilità di dati consente di indagare e migliorare le prestazioni cliniche incentrando l'attenzione sui benefici della riabilitazione in termini di maggiore autonomia e maggiori capacità funzionali dei pazienti.

Le attività di ricovero dei reparti di Pneumologia Riabilitativa delle strutture San Raffaele accolgono in totale circa 700 pazienti/anno con diagnosi di insufficienza respiratoria che vengono sottoposti a un programma di terapia riabilitativa respiratoria standard della durata di circa 30 giorni. Su tutti i pazienti dimessi si raccolgono, in modo sistematico e automatico, informazioni demografiche, epidemiologiche e cliniche, associate a un registro di dati laboratoristici standard e campioni biologici umani per la ricerca. I dati clinici e di funzionalità respiratoria dei pazienti relativi alla riabilitazione respiratoria, provengono dalla cartella clinica, da strumentazioni (pletismografo, emogasanalizzatore) e dal Sisweb (Sistema Informativo Sanitario Web su cui si basa l'acquisizione dei dati del sistema informatico del San Raffaele S.p.A.). È, inoltre, previsto il prelievo di un campione di sangue aggiuntivo (15 ml) che sarà eseguito in fase di ingresso.

La piattaforma multi-level San Raffaele per le malattie non trasmissibili (SR- NCD), attivata nel gennaio 2013, raccoglie e archivia informazioni cliniche e campioni biologici ottenuti da tutti i pazienti con malattie croniche ammessi alla riabilitazione fisica sia nelle strutture di Roma del San Raffaele che in altre strutture cliniche regionali e università.

Materiale raccolto: plasma
 Questionario: epidemiologico

QUESTIONARIO EPIDEMIOLOGICO	
Dati Sensibili	8
Dati del paziente	18
Storia Professionale	19
Abitudine al fumo	58
Dieta/Spare time/Altro	31
Storia familiare	105
Reliability	5
TOTALE VAR. QUEST.EPID	244

Dati clinici: tutte le malattie respiratorie fatta eccezione del cancro al polmone.

LABORATORIO DI PATOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE

Ruolo dell'attività fisica e delle sirtuine nella prevenzione e nel rallentamento della progressione tumorale

È noto che l'esercizio fisico previene e riduce il rischio di sviluppare tumori come quello della mammella, del colon, nei tumori ematologici e del polmone. I meccanismi molecolari che regolano questo fenomeno sono del tutto oscuri. Una risposta a tale interrogativo potrebbe derivare dallo studio di una nuova classe di proteine, le Sirtuine, che ha un ruolo centrale nella regolazione della risposta cellulare e tissutale a stimoli di stress di varia natura.

Le Sirtuine (SIRT) comprendono 7 membri (SIRT1-SIRT7) che, tramite la loro attività deacetilasi, regolano la funzione di numerosi fattori di trascrizione, la sopravvivenza cellulare a stimoli apoptotici, necrotici e autofagici, il differenziamento cellulare, l'aging e il metabolismo del glucosio e dei lipidi.

L'ipotesi è che nelle cellule tumorali l'attivazione delle Sirtuine in seguito ad attività fisica potrebbe attivare meccanismi in grado di bloccare o rallentare la formazione e/o la progressione del tumore. Infatti, recenti studi hanno evidenziato un ruolo nella formazione e nella progressione tumorale di alcune sirtuine. Altri studi effettuati in modelli murini di cancro invece hanno evidenziato un'azione anti-tumorale di SIRT-1. In questi modelli una ridotta espressione di SIRT-1 coincide con una maggiore insorgenza di tumori e viceversa. Anche per SIRT-3 è stata dimostrata un'azione pro-e anti-tumorale. SIRT-3 facilita i processi proapoptotici deacetilando proteine coinvolte nell'apoptosi e aumentando l'espressione di enzimi antiossidanti. Inoltre, topi KO per SIRT-3 presentano una maggiore instabilità genomica e sviluppano tumori. Allo stesso tempo dati contrastanti derivanti da altri studi indicano che i livelli proteici di SIRT-3 sono aumentati nel tumore della mammella caratterizzato da linfonodi positivi. In altri studi è stata osservata una diminuzione dei livelli proteici di SIRT-3 nel tumore della mammella. Anche SIRT-5, SIRT-6 e SIRT-7 potrebbero avere un ruolo di prevenzione nell'insorgenza del cancro.

Questo progetto si prefigge di:

- Studiare se l'esercizio fisico sia in grado di incrementare l'attività delle Sirtuine e conseguentemente di ridurre la produzione di ROS e RNS nei pazienti oncologici.
- Studiare in vivo e in vitro se l'espressione delle Sirtuine e la loro attività siano importanti per facilitare l'apoptosi nelle cellule tumorali in seguito ad attività fisica e/o trattamento con chemioterapici.
- Studiare i livelli di Sirtuine nelle biopsie tumorali dei pazienti e confrontarle con i dati dei follow-up in presenza e assenza di attività fisica.

Lo studio dell'attività delle Sirtuine e della loro espressione è effettuato su campioni di sangue ottenuti da pazienti oncologici prima e dopo (1 mese almeno) di attività fisica moderata. Tali valori sono comparati con quelli ottenuti da pazienti oncologici che non svolgono attività fisica. Ad ogni paziente viene prelevato sangue periferico (3-6ml). Dall'anello linfomonocitario ottenuto da ciascun prelievo vengono estratti mRNA per analisi di real time-PCR e proteine per analisi in Western blotting delle varie Sirtuine e dei markers tumorali. Inoltre sono effettuati saggi di attività sirtuinica.

I livelli di RNS e ROS sono misurati mediante saggi ELISA o citofluorimetrici con sonde specifiche. Per gli studi in vivo topi nudi in cui sono state iniettate cellule tumorali (MDA-MB-231, PC3 e BCPAP) sotto cute e nella vena caudale sono lasciati a riposo o sottoposti ad esercizio fisico (corsa su treadmill ad una velocità costante (10m/min circa) per un periodo di circa 20 minuti per una settimana). Gli animali vengono successivamente sacrificati per ottenere sangue e biopsie tumorali da cui estrarre mRNA e proteine per analisi in Real Time-PCR e Western blotting. E' inoltre valutato nei due gruppi la dimensione del tumore primario e il numero delle metastasi in un periodo di tempo di 4-6 settimane. Questi valori numerici sono comparati con l'attività sirtuinica misurata nel sangue e nelle biopsie tumorali. Per gli studi in vitro le linee cellulari MDA-MB231, PC3, BCPAP, HeLa e SW48 sono transfettate per overesprimere o silenziare le diverse Sirtuine. I cloni ottenuti sono studiati per la loro capacità tumorigenica. Inoltre la resistenza agli stress dei vari cloni viene testata trattando le cellule con specifici chemioterapici. La valutazione della capacità metastatica è effettuata mediante misurazione dell'attività delle metalloproteasi, della capacità di migrazione e invasione mediante kit specifici della Chemicon e mediante il saggio del wound healing.

Lo studio condotto su ratti ha dimostrato che lo sforzo fisico induce un aumento dell'espressione dell'mRNA e della proteina di SIRT1 e SIRT7 nel cuore e nel muscolo scheletrico. Inoltre, è stato osservato un aumento dell'espressione della proteina pro-apoptotica protein bax e una diminuzione dell'espressione della proteina antiapoptotica bcl-2. Analisi statistiche hanno evidenziato che esiste una correlazione significativa tra l'espressione di SIRT1 e SIRT7 e quella di bax e bcl-2. Lo studio condotto sugli atleti ha mostrato che l'espressione proteica di SIRT1 è bassa nelle cellule dell'anello linfomonocitario dei donatori e diminuisce ulteriormente negli atleti. Al contrario l'espressione proteica di SIRT3, SIRT6 e SIRT7 non mostra una differenza significativa tra controlli e atleti. Anche se non sono state osservate significative differenze per l'espressione delle sirtuine, è stato misurato un significativo aumento della attività acetilasi totale negli atleti rispetto ai donatori.

LABORATORIO DI EPIDEMIOLOGIA CLINICA E MOLECOLARE

Creazione e validazione di una Piattaforma per sviluppare e studiare modelli innovativi di patologia umana non trasmissibili [BPCO, cancro (NSCLC), leucemie e malattie neurologiche geriatriche (Alzheimer)]

Negli ultimi decenni si è assistito a un incremento senza precedenti delle possibilità offerte dalle tecnologie "high throughput" in termini di qualità e quantità (oltre che ottimizzazione) della "misura" molecolare e cellulare a livello, soprattutto, genomico e proteomico. Lo sviluppo, in specifico, di tecnologie di analisi sempre più sensibili e sofisticate (genetica, profili, funzionalità, ecc.) richiede la disponibilità di materiale biologico raccolto e trattato secondo tecniche standardizzate sempre più definite ed affidabili in accordo alle attuali procedure europee. Alla luce di queste indicazioni viene realizzata una raccolta di campioni biologici (siero, plasma, linfociti, sangue in toto, urine) umani provenienti da pazienti affetti da malattie non trasmissibili quali, ad esempio BPCO, allo scopo di facilitare la traslazione delle informazioni di biologia, in particolare di omica, alla pratica clinica, di permettere una rapida risposta a quesiti sperimentali di potenziale valenza (terapia e/o diagnosi) garantendo la qualità e la quantità di campioni utilizzabili per queste pratiche.

La piattaforma permette di ottimizzare e personalizzare le strategie terapeutiche riabilitative dei

pazienti. vengono studiati metodi per l'individuazione di nuovi farmaci o terapie, marcatori prognostici e di risposta, e test tossicologici e funzionali.

Materiali e metodi:

– Campioni biologici: È stata organizzata presso il laboratorio di Epidemiologia clinica e molecolare" dell'IRCCS San Raffaele Pisana la criopreservazione di campioni biologici umani provenienti da pazienti affetti da BPCO e disturbi neurologici (quali Parkinson e/o Alzheimer). I campioni sono prelevati in accordo alle normative europee e come descritto in Curr Pharm Des. 2014;20(38):5945-5956.

– Somministrazione del questionario;

– Raccolta dati relativi ai pazienti: età, sesso, diagnosi clinica - inclusa presenza di BPCO - diagnosi istologica, tipo di intervento, follow-up (in accordo ai centri di provenienza), terapia, eventuale riabilitazione respiratoria pre o post intervento, risultati del questionario in accordo a Curr Pharm Des. 2014;20(38):5945-5956.

– La bio-repository è allestita presso l'IRCCS San Raffaele Pisana e provvede alla conservazione ed al management del materiale di provenienza umana in accordo alle Good Laboratory Practices (GLPs) come definito nella Convenzione di Oviedo e regolato dalla normativa nazionale di riferimento. I dati relativi all'identità del paziente vengono anonimizzati. Ad ogni aliquota vengono associati i dati clinici di riferimento in un archivio computerizzato.

– Valutazione critica della letteratura presente.

– E' stata definita la piattaforma. E' stata costruita la rete iniziale degli istituti coinvolti (Università Cattolica del Sacro Cuore, AFAR, IRCCS San Raffaele Pisana, Centro per la cura e la diagnosi del Parkinson).

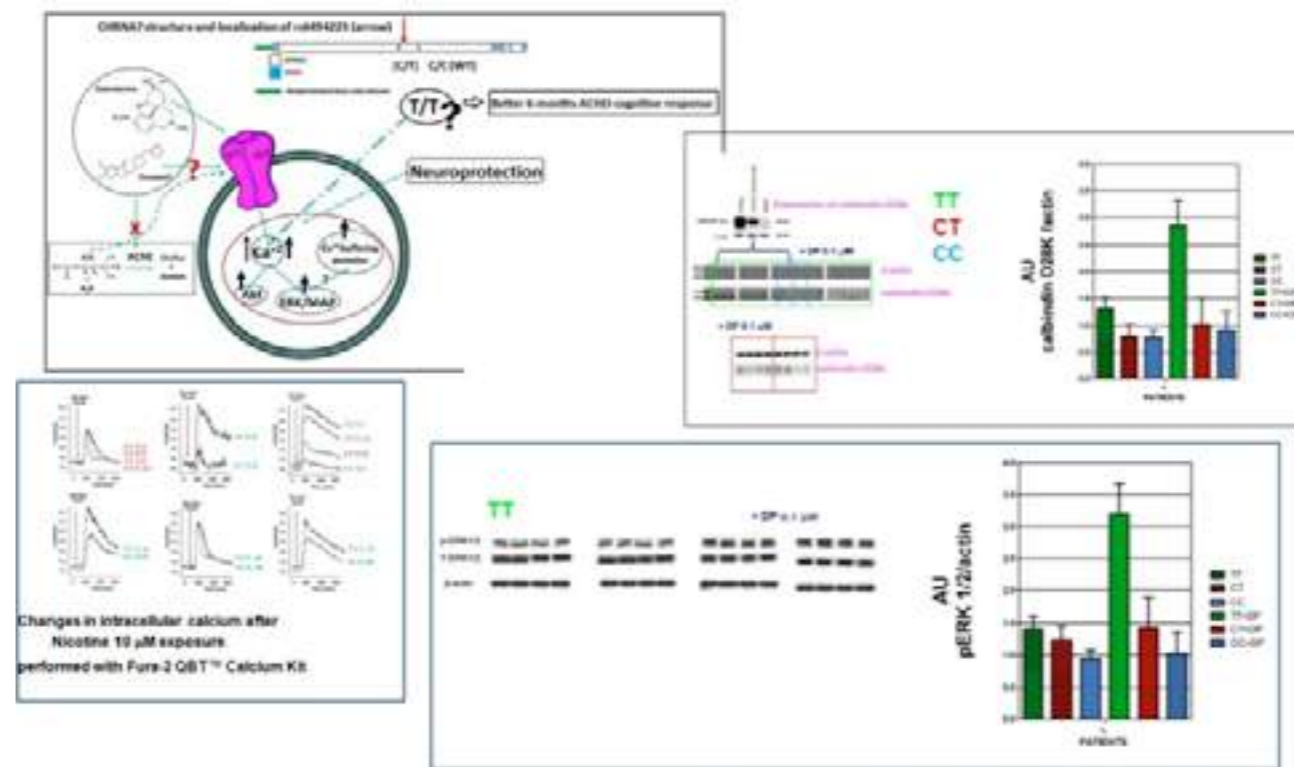
– Descrizione delle procedure operative

– Raccolta e criopreservazione di 106 campioni provenienti da pazienti affetti da BPCO, prelievi in entrata ed in uscita (plasma, siero, linfociti). Raccolta e criopreservazione di 10 campioni di BAL.

– Valutazione critica del ruolo delle varianti geniche del recettore nicotinic nell'aumento di rischio per dipendenza, insorgenza di tumore e ruolo nella terapia per la cessazione dal fumo di sigaretta. Varianti nei geni codificanti le sub-unità alfa 3-5 (rs1051730 e rs16969968) sono specificamente associate alla dipendenza da nicotina, al maggiore rischio di insorgenza di tumore e influiscono la risposta ai farmaci utilizzati per la terapia per la cessazione dal fumo quali Bupropione e Vareniclina.

– Valutazione critica del ruolo della variante rs6494223 del gene codificante per il recettore nicotinic sub-unità alfa-7 e risposta ai farmaci anticolinesterasici Donepezil e Galantamina in pazienti affetti da Alzheimer:

È possibile ipotizzare che la correlazione positiva tra la variante rs6494223 del gene CHRNA7 e la migliore risposta a donepezil o galantamina non è strettamente legata ad una attività diretta sul recettore alfa7 (anche se per galantamina non può essere escluso un effetto diretto). L'osservazione che rs6494223 in soggetti carrier del genotipo TT o CT mostri una tendenza ad un maggiore "uptake" di Calcio dopo stimolazione con nicotina rispetto ai CC può essere una possibile spiegazione. DP o galantamina inibendo AChE può aumentare la quantità disponibile di ACh che a sua volta attiva nAChR; questo percorso di attivazione può essere più efficiente nei soggetti TT o CT rispetto ai CC e spiegare la risposta migliore a AChEI in questi soggetti in modo indipendente da una interazione diretta di DP o galantamina con il recettore. All'aumento della concentrazione di calcio corrisponde una maggiore fosforilazione di ERK ed un aumento della espressione di calbindina 28K. Questa proteina è coinvolta nella riparazione del danno via attivazione di alfa7-nAChR. Attualmente, la conoscenza delle concentrazioni plasmatiche di un dato AChEI non è nota per ogni paziente in trattamento; solo pochi studi correlano concentrazione del farmaco con l'eterogeneità di risposta alla terapia di AChEI [Vedasi figura].



– Valutazione critica della letteratura selezionata dell'attività dei farmaci antitumorali di origine marina. I metaboliti secondari prodotti dai Cyanobacteria products sono il prototipo dal quale possono essere sviluppati nuovi farmaci.

– Valutazione critica della letteratura selezionata dell'attività dei farmaci di origine naturale per terapia di Alzheimer. Galantamina e rivastigmina sono attualmente in terapia. La terapia con nicotina ha dato risultati promettenti e sono in corso studi per valutare il suo potenziale terapeutico.

– Valutazione della letteratura selezionata dei farmaci per terapia di Alzheimer aventi come bersaglio il recettore alpha7 nicotinic. Diversi farmaci entrati in Fase II non sono passati alla fase III umana. I risultati sperimentali dimostrano che il Donepezil aumenta l'espressione proteica di alpha7 in linfociti umani e in cellule staminali neuronali umane.

– Valutazione critica della letteratura selezionata dei farmaci aventi come bersaglio i recettori nicotinic di tipo alpha9 e 10 come antidolorifici. Rg1A and Vc1.1 due peptidi originati dal Conus (cono peptidi) inducono analgesia sia a breve che a lungo termine attraverso i meccanismi della risposta immune ed infiammatoria.

– Definizione critica del ruolo della nicotina in angiogenesi, proliferazione e apoptosi. La nicotina stimola gli eventi di angiogenesi e proliferazione ed inibisce i processi di apoptosi interagendo con i recettori nicotinic di tipo alpha-7 presenti anche sulle cellule non neuronali (epiteliali, endoteliali).

– Valutazione critica di una letteratura selezionata su meccanismi genetici quali varianti geniche coinvolte nell'insorgenza di BPCO, NSCLC e malattie geriatriche, e ruolo nella risposta alla terapia.

– Valutazione critica della letteratura sul processo di "ageing".

Dati preliminari di associazione di alcuni SNPs con parametri clinici alla baseline e con la risposta clinica in 60 pazienti con BPCO che entravano con prescrizione di terapia con glucocorticoidi e sottoposti ad un trattamento riabilitativo di tre settimane presso l'IRCCS San Raffaele Pisana:

1. Identificazione dei parametri della risposta clinica
2. Screening preliminare degli SNPs più interessanti
3. Associazione degli SNPs evidenziati con la risposta clinica al trattamento riabilitativo

4. Associazione tra SNPs e dati clinici alla baseline ottenuti da 19 pazienti (per dati spirometrici) o da 33 pazienti (per dati di 6MWT)
 5. Relazioni tra % di eosinofilie e il polimorfismo del gene GLCCL1.

1. Identificazione dei parametri della risposta clinica

Per garantire una valutazione della risposta basata su un parametro più globale rispetto alla FEV1, è stato utilizzato il 6 minutes walking test (6MWT). Sono stati considerati responders al trattamento riabilitativo condotto nel corso di tre settimane presso l'IRCCS San Raffaele Pisana coloro che dopo il trattamento aumentavano la loro performance nel 6MWT di almeno 30 metri, come indicato in un lavoro di Polkey et al., (ECLIPSE) Six-minute-walk test in chronic obstructive pulmonary disease: minimal clinically important difference for death or hospitalization. Am J Respir Crit Care Med. 2013, 187:382-6).

2. Screening preliminare degli SNPs più interessanti

Lo screening è stato effettuato tra i dati di 6 differenti SNPs noti per la loro associazione con la risposta ai glucocorticoidi. In base ai risultati della tabella che segue, si è deciso di proseguire le elaborazioni solamente con i tre SNPs evidenziati in neretto.

Tabella 1. Selezione preliminare degli SNPs di maggiore interesse per predire la risposta alla terapia riabilitativa

Ratin g	SNP	-2 Log(Verosimiglianza)	Pr> LR	Pr> Score	Pr> Wald	Akaike's AIC	Schwarz's SBC
1	fkbp5 (rs4713916)	68,762	0,002	0,039	0,078	74,762	93,428
2	glccl1 (rs37972)*	67,267	0,005	0,250	0,412	75,267	100,022
3	mdr1 (rs2032582)	67,219	0,010	0,399	0,557	77,219	108,328
4	NR3C1 (rs6190)	71,307	0,011	0,255	0,423	77,307	95,873
5	NR3C1 (rs6189)	71,912	0,016	0,396	0,583	77,912	96,478
6	NR3C1 bd2 (rs41423247)	70,262	0,024	0,658	0,743	78,262	103,017

Akaike's Information Criterion (AIC) = - 2 X model log-likelihood + 2 x number of model parameters was computed and used to compare each SNP genetic model in responders vs non-responders. The most parsimonious model can be easily identified as that having the lowest AIC value.
 * Tantisira KG et al. Genomewide association between GLCCL1 and response to glucocorticoid therapy in asthma. N Engl J Med. 2011 Sep 29;365(13):1173-83. doi: 10.1056/NEJMoa0911353. Epub 2011 Sep 26.

3. Associazione degli SNPs evidenziati con la risposta clinica.

L'unica associazione significativa con Chi2 e confermata con regressione logistica alla risposta clinica è stata quella dello SNP del FKBP5. Va tuttavia evidenziato che i pazienti entravano già in trattamento con glucocorticoidi (quindi non naive) e il percorso clinico includeva una serie di terapie di varia natura. Per cui la risposta al successivo percorso clinico non è una risposta al trattamento con glucocorticoidi, bensì una risposta ad una terapia riabilitativa personalizzata. È interessante notare come (indipendentemente dalla significatività statistica) i 4 portatori del genotipo TT per lo SNP del GLCCL1 (notoriamente associato ad una peggiore risposta clinica al trattamento con glucocorticoidi) risultano tutti "responder" alla terapia. Questo dato potrebbe essere importante per definire un trattamento di questi pazienti che da letteratura non rispondono ai glucocorticoidi. Per quanto riguarda le variazioni nelle scale di BORG e MRC in funzione di ciascun polimorfismo, si conferma anche qui un possibile ruolo dello SNP di FKBP5 (delta MRC migliore nei pazienti con genotipo GA).

Tab.2. χ^2 and logistic regression tests for FKBP5*

FKBP5	Responders	Freq.	χ^2	p value	
GA	0	1	4.505	0.034	
	1	11			
GG	0	20			
	1	29			
Logistic regression		OR	Std err	95% CI	p value
GA		1	0.142	0.016 - 1.103	0.062
GG		0.132	11.489	1.420 - 85.200	0.022

Tab.3. χ^2 tests for MDR1

MDR1	Responders	Freq.	χ^2	p value
GA	0	0	3.319	0.345
	1	3		
GG	0	10		
	1	12		
GT	0	5		
	1	14		
TT	0	6		
	1	11		

Tab.4. χ^2 tests for GLCCL1

GLCCL1	Responders	Freq.	χ^2	p value
CC	0	7	3.164	0.206
	1	16		
CT	0	14		
	1	19		
TT	0	0		
	1	4		

Tabella 5. Variazione in percentuale delle variabili di dispnea (% Δ BORG e Δ MRC) in relazione a ciascun SNP di interesse

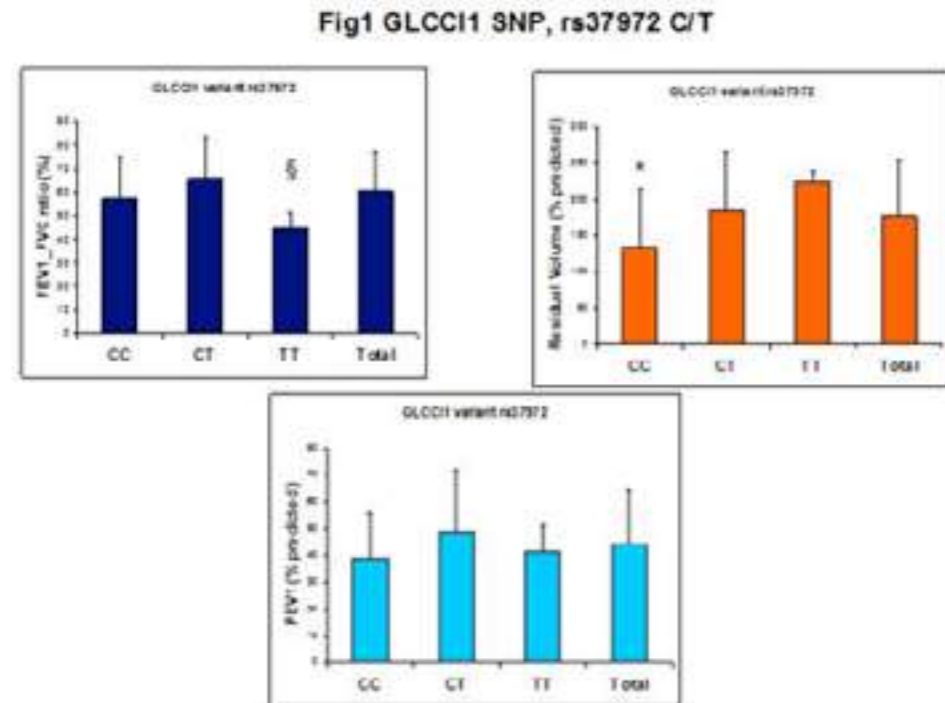
SNP	Δ BORG (mediana uscita-entrata) %	Δ MRC (mediana uscita-entrata) %
GLCCL1 rs37972		
CC	-42.8	-25.0
CT	-37.5	-25.0
TT	-57.1	-25.0
P value	0.092	0.332
MDR-1 rs2032582		
GG	-30.9	0.0
GT	-44.4	-25.0
GA	-57.1	-25.0
TT	-28.6	-25.0
P value	0.196	0.244
FKBP5 rs4713916*		
GG	-37.5	0.00
GA	-56.3	-25.0
P value	0.071	0.019

Le significatività sono state valutate con test non parametrici Kruskal-Wallis Test e Mann-Whitney test
 *Note: La presenza dell'allele FKBP5 rs4713916 A da la risposta migliore al trattamento con glucocorticoidi in Crohn, ma non nella colite ulcerativa. Inoltre, dalle analisi del haplotipo FKBP5 composto da 3 SNPs: rs3800373 T>G - rs4731916 G>A - rs1360780 C>T si evince che quando è presente allele T (haplotipo TAT) non c'è più l'effetto rispondente ai glucocorticoidi. Ref: Maltese P et al. Glucocorticoid resistance in Crohn's disease and ulcerative colitis: an association study investigating GR and FKBP5 gene polymorphisms. Pharmacogenomics J. 2012 Oct;12(5):432-8. doi: 10.1038/tj.2011.26. Epub 2011 Jul 26.

4. Associazione tra SNPs e dati clinici alla baseline ottenuti da 19 pazienti (per dati di spirometria) o 33 pazienti (per dati di 6MWT solo in pazienti in grado di camminare).

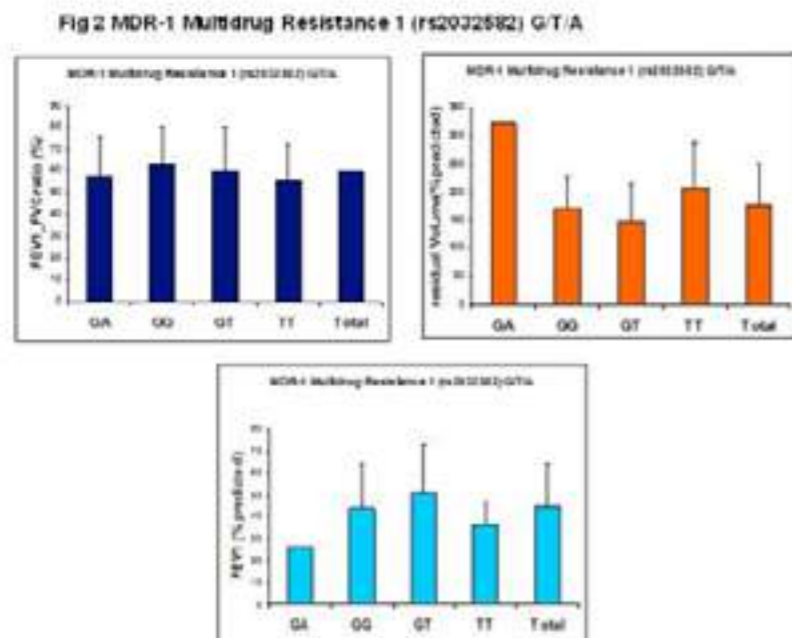
È di particolare interesse il basso valore di FEV1 nei TT dello SNP di GLCCL1 (Fig.1) e il più basso valore di RV nei CC (Fig.1), con un andamento crescente passando progressivamente dai CC ai CT e infine ai TT. Appare inoltre che i portatori dell'allele T hanno un risultato peggiore al 6MWT rispetto ai CC (Fig.4). In base alla letteratura dovrebbero essere i TT i pazienti che rispondono meno alla terapia con glucocorticoidi (con i CT che mostrano comunque una risposta peggiore dei CC).

(5) GLCCL1 SNP e dati spirometrici



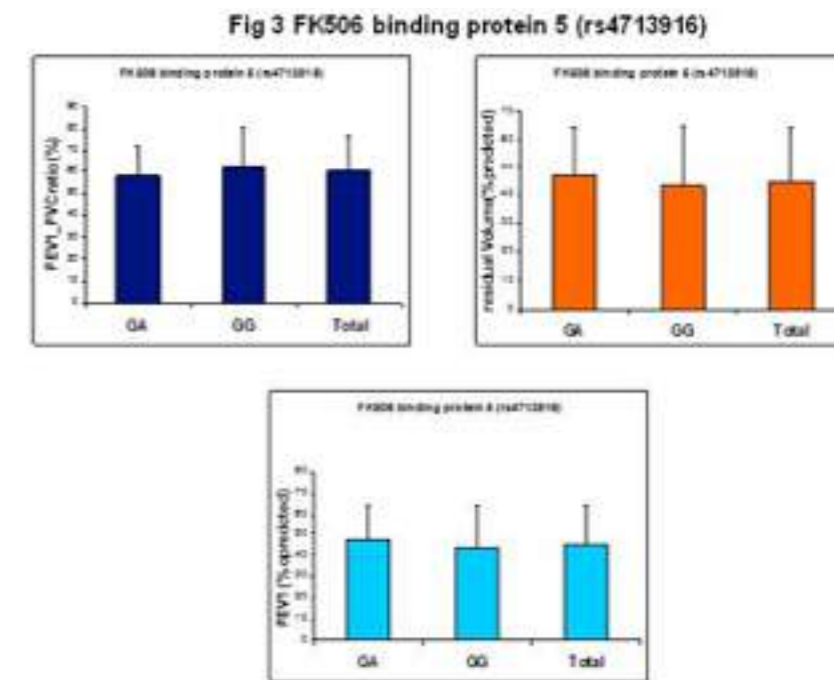
Numero pazienti BCPO =19

*p<0.05 rispetto ai genotipi CC e CT; *p<0.05 rispetto ai genotipi CT and TT dopo un'analisi ANCOVA correggendo per età, sesso, BMI e somministrazione di antibiotici MDR1 e dati spirometrici:



Numero pazienti BCPO =19

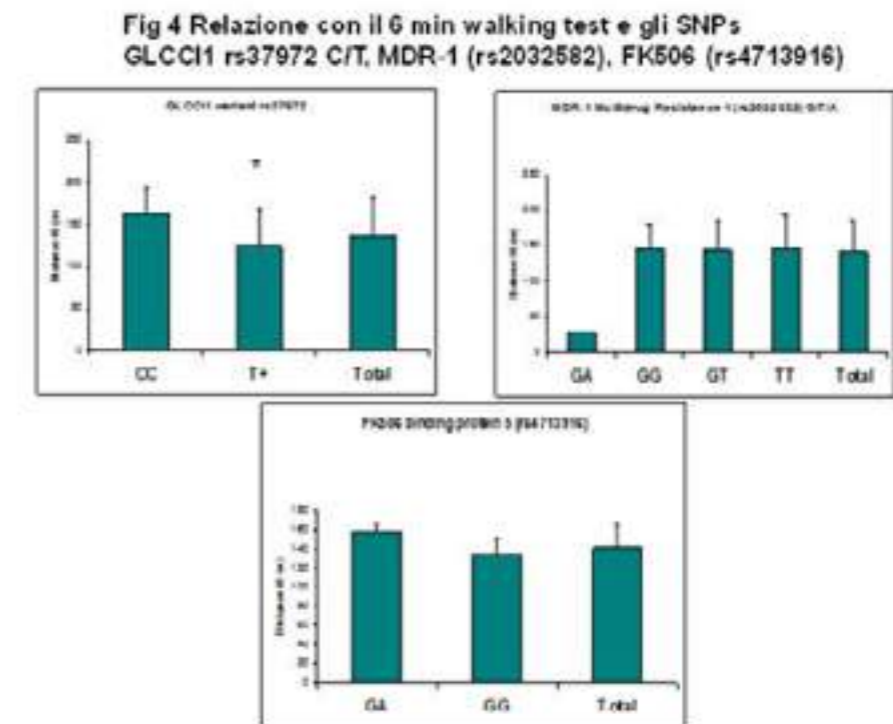
Analisi ANCOVA correggendo per età, sesso, BMI e somministrazione di antibiotici FKBP5 e dati spirometrici:



Numero pazienti BCPO =19

Analisi ANCOVA correggendo per età, sesso, BMI e somministrazione di antibiotici

Relazione di GLCCL1, DR1 e FKBP5 con la distanza percorsa al 6 min walking test al baseline



N=33 pazienti BPCO; *p<0.05; Analisi ANCOVA correggendo per età e sesso

5. Relazioni tra la percentuale di eosinofili e il polimorfismo del gene GLCCL1. Poiché in base a studi precedentemente pubblicati i pazienti maggiormente responsivi al trattamento con

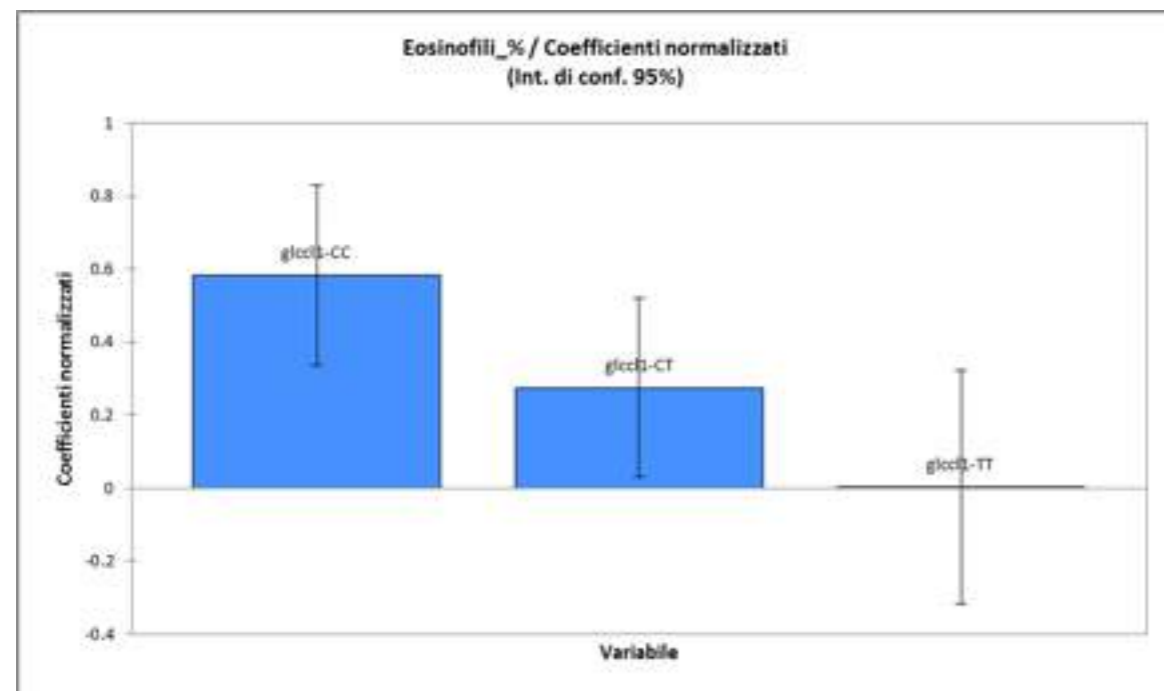
glucocorticoidi sembrano quelli con la maggiore percentuale di eosinofili nel sangue, si è cercata una potenziale relazione tra le due variabili (% di eosinofili e polimorfismo del GLCCL1). Dalle analisi effettuate (Tab.6-7 e Fig.5) emerge effettivamente la possibilità che esista una relazione tra questi due parametri. In base a questi dati preliminari, i TT potrebbero essere meno responsivi ai glucocorticoidi per via della loro ridotta percentuale di eosinofili rispetto agli altri genotipi e i CT avrebbero una % di eosinofili intermedia tra i TT e i CC.

Tab. 6. Confronto della % di eosinofili del sangue tra TT e gli altri genotipi del GLCCL1

Variabile	Osservazioni	Minimo	Massimo	Media	Dev. std.
Eosinofili % (CC/CT)	32	0,010	3,700	0,861	1,032
Eosinofili % (TT)	3	0,010	0,010	0,010	0,000

* p = 0.022 con Mann-Whitney U test

Fig. 5. Coefficienti normalizzati da analisi di regressione della variabile eosinofili % nei diversi genotipi



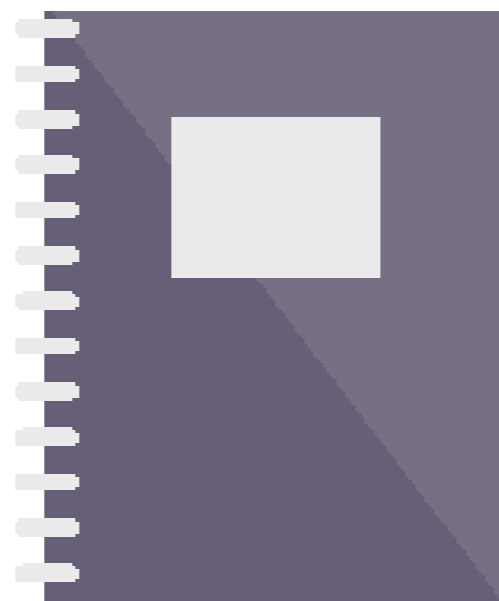
Tab. 7. Analisi di regressione (eosinofili % vs GLCCL1 SNP) con i coefficienti normalizzati:

Fonte	Valore	Errore standard	t	Pr > t	Limite inferiore (95%)	Limite superiore (95%)
glccl1-CC	0,583	0,120	4,840	< 0,0001	0,338	0,829
glccl1-CT	0,275	0,120	2,282	0,029	0,029	0,520
glccl1-TT	0,003	0,156	0,018	0,986	-0,316	0,321

Dalle analisi effettuate FKBP5 non è stato trovato associato con la percentuale di eosinofili.

Risultati attesi:

- Raccolta e criopreservazione dei campioni
- Raccolta dati relativi ai pazienti: età, sesso, diagnosi clinica inclusa presenza di BPCO, diagnosi istologica, tipo intervento, follow-up (in accordo ai centri di provenienza), terapia, eventuale riabilitazione respiratoria pre o post intervento, risultati del questionario.
- Valutazione critica di una letteratura selezionata su meccanismi genetici quali varianti geniche coinvolte nell'insorgenza di BPCO, NSCLC e malattie geriatriche, e ruolo nella risposta alla terapia.
- Valutazione critica del ruolo svolto dai recettori colinergici neuronali e non neuronali (nicotinici e/o muscarinici) nell'insorgenza di malattie quali BPCO, NSCLC e patologie neuro-degenerative.
- Valutazione critica di una letteratura selezionata su nuovi farmaci antitumorali.
- Sviluppo di nuovi farmaci targeted-oriented verso il sistema colinergico per la terapia antitumorale e/o neurodegenerativa.
- Come risultati significativi per un centro di ricerca avanzato centrato sulla riabilitazione e il recupero funzionale di pazienti si avranno: creazione della piattaforma per NSCLC; utilizzo di campioni umani per sperimenti di omica; uraslazionalità immediata; strategie terapeutiche; avanzamento delle conoscenze in campo medico e clinico relativo a malattie umane.



Brunetti ND, Scalvini S, Acquistapace F, Parati G, Volterrani M, Fedele F, Molinari G. Telemedicine for cardiovascular disease continuum: A position paper from the Italian Society of Cardiology Working Group on Telecardiology and Informatics. *Int J Cardiol.* 2015 Feb 25;184C:452-458. [Epub ahead of print]

Telemedicine is the provision of health care services, through the use of information and communication technology, in situations where the health care professional and the patient, or 2 health care professionals, are not in the same location. It involves the secure transmission of medical data and information, through text, sound, images, or other forms needed for the prevention, diagnosis, treatment, and follow-up of a patient. First data on implementation of telemedicine for the diagnosis and treatment of acute myocardial infarction date from more than 10 years ago. Telemedicine has a potential broad application to the cardiovascular disease continuum and in many branches of cardiology, at least including heart failure, ischemic heart disease and arrhythmias. Telemedicine might have an important role as part of a strategy for the delivery of effective health care for patients with cardiovascular disease. In this document the Working Group on Telecardiology and Informatics of the Italian Society of Cardiology intends to remark some key-points regarding potential benefit achievable with the implementation of telemedicine support in the continuum of cardiovascular disease.

Ambrosini A, Iezzi E, Perrotta A, Kisialiou A, Nardella A, Berardelli A, Pierelli F, Schoenen J. Correlation between habituation of visual-evoked potentials and magnetophosphene thresholds in migraine: A case-control study. *Cephalalgia.* 2015 Jun 8. [Epub ahead of print]

In migraine most studies report an interictal deficit of habituation of visual-evoked potentials (VEP-hab) and reduced thresholds for phosphene induction (PT) by transcranial magnetic stimulation (TMS). We searched for a possible correlation between VEP-hab and PT in migraine patients and healthy controls to test whether they reflect the same pathophysiological abnormality. We assessed PT and VEP-hab measured as the percentage change of N1/P1 amplitude over six blocks of 100 responses in 15 healthy volunteers (HV) and in 13 episodic migraineurs without aura (MO) between attacks. Results were compared using Mann-Whitney U test. Interrelationships were examined using Spearman's correlation.

In MO patients VEP-hab was reduced compared to HV ($p=0.001$), while PT were not significantly different between HV and MO. There was no correlation between PT and VEP-hab in either group of participants.

We confirm that in interictal migraine VEP habituation is deficient, but magnetophosphene threshold normal. VEP-hab and PT were not correlated with each other in healthy controls or in migraineurs. This finding suggests that they index different facets of cortical excitability in migraine, i.e. a punctual normal measure of the cortical activation threshold for PT and a dynamic response pattern to repeated stimuli for VEP habituation.

Berthiller J, Straif K, Agudo A, Ahrens W, Bezerra Dos Santos A, Boccia S, Cadoni G, Canova C, Castellsague X, Chen C, Conway D, Curado MP, Dal Maso L, Daudt AW, Fabianova E, Fernandez L, Franceschi S, Fukuyama EE, Hayes RB, Healy C, Herrero R, Holcatova I, Kelsey K, Kjaerheim K, Koifman S, Lagiou P, La Vecchia C, Lazarus P, Levi F, Lissowska J, Macfarlane T, Mates D, McClean M, Menezes A, Merletti F, Morgenstern H, Muscat J, Olshan AF, Purdue M, Ramroth H, Rudnai P, Schwartz SM, Serraino D, Shangina O, Smith E, Sturgis EM, Szeszenia-Dabrowska N, Thomson P, Vaughan TL, Vilensky M, Wei Q, Winn DM, Wunsch-Filho V, Zhang ZF, Znaor A, Ferro G, Brennan P, Boffetta P, Hashibe M, Lee YA.

Low frequency of cigarette smoking and the risk of head and neck cancer in the INHANCE consortium pooled analysis.

Cigarette smoking is a major risk factor for head and neck cancer (HNC). To our knowledge, low cigarette smoking (<10 cigarettes per day) has not been extensively investigated in fine categories or among never alcohol drinkers.

We conducted a pooled analysis of individual participant data from 23 independent case-control studies including 19660 HNC cases and 25566 controls. After exclusion of subjects using other tobacco products including cigars, pipes, snuffed or chewed tobacco and straw cigarettes (tobacco product used in Brazil), as well as subjects smoking more than 10 cigarettes per day, 4093 HNC cases and 13416 controls were included in the analysis. The lifetime average frequency of cigarette consumption was categorized as follows: never cigarette users, >0-3, >3-5, >5-10 cigarettes per day.

Smoking >0-3 cigarettes per day was associated with a 50% increased risk of HNC in the study population [odds ratio (OR)=1.52, 95% confidence interval (CI): (1.21, 1.90)]. Smoking >3-5 cigarettes per day was associated in each subgroup from OR=2.01 (95% CI: 1.22, 3.31) among never alcohol drinkers to OR=2.74 (95% CI: 2.01, 3.74) among women and in each cancer site, particularly laryngeal cancer (OR=3.48, 95% CI: 2.40, 5.05). However, the observed increased risk of HNC for low smoking frequency was not found among smokers with smoking duration shorter than 20 years. Our results suggest a public health message that low frequency of cigarette consumption contributes to the development of HNC. However, smoking duration seems to play at least an equal or a stronger role in the development of HNC.

Boccia S, Miele L, Panic N, Turati F, Arzani D, Cefalo C, Amore R, Bulajic M, Pompili M, Rapaccini G, Gasbarrini A, La Vecchia C, Grieco A.

The Effect of CYP, GST, and SULT Polymorphisms and Their Interaction with Smoking on the Risk of Hepatocellular Carcinoma.

Biomed Res Int. 2015;2015:179867. Epub 2015 Jan 14.

Aim. The aim of our study was to assess whether selected single nucleotide polymorphisms of CYP1A1 and 2E1, GSTM1, GSTT1, and SULT1A1 influence susceptibility towards HCC, considering their interaction with cigarette smoking. Methods. We recruited HCC cases and controls among patients admitted to the hospital "Agostino Gemelli," from January 2005 until July 2010. Odds ratios (OR) of HCC were derived from unconditional multiple logistic regression. Gene-gene and gene-smoking interaction were quantified by computing the attributable proportion (AP) due to biological interaction. Results. The presence of any CYP2E1 (*) 5B variant allele (OR: 0.23; 95% CI: 0.06-0.71) and CYP2E1 (*) 6 variant allele (OR: 0.08; 95% CI: 0.01-0.33) was inversely related to HCC. There was a borderline increased risk among carriers of combined CYP1A1 (*) 2A and SULT1A1 variant alleles (OR: 1.67; 95% CI: 0.97-3.24). A significant biological interaction was observed between GSTT1 and smoking (AP = 0.48; 95% CI: 0.001-0.815), with an OR of 3.13 (95% CI: 1.69-5.82), and borderline significant interaction was observed for SULT1A1 and smoking (AP = 0.36; 95% CI: -0.021-0.747), with an OR of 3.05 (95% CI: 1.73-5.40). Conclusion. CYP2E1 (*) 5B and CYP2E1 (*) 6 polymorphisms have a favourable effect on the development of HCC, while polymorphisms of GSTT1 and SULT1A1 might play role in increasing the susceptibility among smokers.

Bolognesi C, Bonassi S, Knasmueller S, Fenech M, Bruzzone M, Lando C, Ceppi M.

Clinical application of micronucleus test in exfoliated buccal cells: A systematic review and meta-analysis.

Mutation Research/Reviews in Mutation Research 2015 [Epub ahead of print]

The micronucleus assay in uncultured exfoliated buccal mucosa cells, involving minimally invasive sampling, was successfully applied to evaluate inhalation and local exposure to genotoxic agents,

impact of nutrition and lifestyle factors. The potential use of the assay in clinics to monitor the development of local oral lesions and as an early biomarker for tumors and different chronic disorders was also investigated. A systematic review of the literature was carried out focusing on the clinical application of the assay. The literature search updated to January 2015 allowed to retrieve 42 eligible articles. Fifty three percent of investigations are related to oral, head and neck cancer, and premalignant oral diseases. Our analysis evidences a potential usefulness of the MN assay applied in buccal exfoliated cells in the prescreening and in the follow up of precancerous oral lesions. A significant excess of MN, in patients compared with matched controls was observed for subgroups of oral and neck cancer (meta-MR of 2.40, 95% CI: 2.02-2.85) and leukoplakia (meta-MR 1.88, 95% CI: 1.51-2.35). The meta-analysis of studies available on other tumors (meta-MR 2.00; 95% CI:1.66-2.41) indicates that the MN frequency in buccal cells could reflect the chromosomal instability of other organs. Increased MN frequency was also observed in small size studies on patients with chronic diseases, with Alzheimer's disease and with Down syndrome. The application of the cytome approach providing information of genotoxic, cytotoxic and cytostatic effects is suggestive of the possibility of an improvement in the predictive value of the assay and this deserves further investigations.

Bolognesi C, Migliore L, Lista F, Caroli S, Patriarca M, De Angelis R, Capocaccia R, Amadori S, Pulliero A, Balia C, Colognato R, La Gioia V, Bonassi S, Izzotti A.

Biological monitoring of Italian soldiers deployed in Iraq. Results of the SIGNUM project. Int J Hyg Environ Health. 2015 Aug 4. pii: S1438-4639(15)00102-9. [Epub ahead of print]

Leukemia/lymphoma cases reported in 2001 among United Nation soldiers or peacekeepers deployed to the Balkans aroused alert on the exposure to depleted uranium. Recent epidemiological studies carried out in different European countries among peacekeepers who served in the Balkans failed to demonstrate a higher than expected risk of all cancers but, mostly due to their limitations in size and follow up time, leave open the debate on health risk of depleted uranium. The aim of SIGNUM (Study of the Genotoxic Impact in Military Units) was to identify potential genotoxic risk associated with the exposure to depleted uranium or other pollutants in the Italian Army military personnel deployed in Iraq.

Blood and urine samples were collected before and after the deployment from 981 Italian soldiers operating in Iraq in 2004-2005. As, Cd, Mo, Ni, Pb, U, V, W, and Zr were determined in urine and serum. DNA-adducts, 8-hydroxy-2'-deoxyguanine and micronuclei frequency were evaluated in blood lymphocytes. Three different genetic polymorphisms, GSTM1, XRCC1, OGG1 were analyzed.

Significant T0-T1 reduction in the total concentration of uranium, increases for Cd, Mo, Ni, Zr, and decreases for As, Pb, W, and V in urine and plasma were observed. Increases in oxidative alterations and in micronuclei frequency, included in the range of values of non-occupationally exposed populations, were observed at the end of the period of employment.

Our results did not detect any toxicologically relevant variation of DNA-damage biomarkers related to the deployment in the operational theater.

Braido F, Melioli G, Cazzola M, Fabbri L, Blasi F, Moretta L, Canonica GW; AIACE Study Group.

Sub-lingual administration of a polyvalent mechanical bacterial lysate (PMBL) in patients with moderate, severe, or very severe chronic obstructive pulmonary disease (COPD) according to the GOLD spirometric classification: A multicentre, double-blind, randomised, controlled, phase IV study (AIACE study: Advanced Immunological Approach in COPD Exacerbation).

Pulm Pharmacol Ther. 2015 Aug;33:75-80.

Polyvalent mechanical bacterial lysates (PMBLs) have been shown to reduce the number of infectious episodes in patients with recurrent infections of the respiratory tract. Some previous investigations have also shown the effectiveness of PMBLs in reducing exacerbations of chronic

obstructive pulmonary disease (COPD). The AIACE study, which was developed according to criteria of evidence-based medicine, evaluated whether the administration of PMBLs to COPD patients, in addition to the recommended treatment, was able to reduce the number of exacerbations by 25%. Two hundred eighty-eight patients with moderate to very severe COPD were recruited and randomly assigned to either placebo or PMBLs. The placebo or PMBLs were administered according to the standard scheme. The primary outcome of the study was not achieved. However, the number of days with fever (21 days per year versus 40.15; $p < 0.001$), the days of hospitalisation (65 days vs 162 days; $p < 0.001$), the interval between the first and second exacerbations (123.89 days vs 70.36; $p = 0.03$) and the number of days in poor health (109 days/year vs 171 days/year; $p < 0.001$) were significantly better in the PMBL group than in the placebo group. In conclusion, the results of this trials showed that lsmigen, in addition to guideline-suggested treatment, could not significantly reduce the number of exacerbations in the considered population; nevertheless, the secondary outcome results demonstrated potential benefits of this compound for relevant clinical outcomes.

Ciaparrone M, Caspiani O, Bicciolo G, Signorelli D, Simonelli I, de Campora L, Mazzarella G, Mezzozzi A, Pianelli C, Camaioni A, Catalano P, Pasqualetti P, Fabiano A, Radici M, Marmiroli L, Corsi DC.

Predictive Role of ERCC1 Expression in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Patients Treated with Surgery and Adjuvant Cisplatin-Based Chemoradiation.

Oncology. 2015;89(4):227-234.

ERCC1 (excision repair cross-complementation group 1) expression predicts survival in patients with locally advanced head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) treated with chemoradiation. In order to evaluate the predictive role in the adjuvant setting, we investigated ERCC1 expression in radically resected HNSCC patients who underwent surgery and cisplatin chemoradiation.

ERCC1 expression levels were determined by immunohistochemistry in primary tumor tissues from 48 patients with stage III-IV cancers. The median follow-up was 38.5 months (range: 5-121). High ERCC1 expression was observed in 36 (75%) patients. Univariate analysis showed that patients with high levels of ERCC1 had significantly worse disease-free survival and overall survival (OS) than patients with low levels (HR = 7.15; 95% CI, 1.68-30.35; $p = 0.008$ and HR = 9.90; 95% CI, 1.33-73.96; $p = 0.025$, respectively). In the multivariate analysis, high ERCC1 expression (HR = 7.36; 95% CI, 1.72-31.4; $p = 0.007$) together with high-risk category (HR = 2.69; 95% CI, 1.01-7.18; $p = 0.048$) were the best predictors for relapse. High ERCC1 expression was the only unfavorable independent determinant for OS (HR = 9.53; 95% CI, 1.27-71.35; $p = 0.028$).

This investigation suggests that ERCC1 expression might be useful to predict prognosis in radically resected HNSCC patients treated with surgery and chemoradiation.

Conti V, Paone G, Mollica C, Sebastiani A, Mannocci A, La Torre G, Cardaci V, Cammarella I, Puglisi G, Brunetti G, Alma MG, Terzano C.

Predictors of outcome for patients with severe respiratory failure requiring non invasive mechanical ventilation.

Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2015 Oct;19(20):3855-3860.

Failure to identify patients in whom non-invasive ventilation (NIV) would be unsuccessful may cause inappropriate delay in intubation. Aim of this study was to determine predictors of NIV failure. We retrospectively evaluated COPD patients, undergoing NIV for at least 12h because of hypercapnic acute respiratory failure. Univariable and multivariable analyses were performed on: age, gender, APACHE II and GCS, gas exchange at admission, during NIV and at discharge/death, length of stay. ROC analysis for pH START and APACHE II were performed.

Among 201 individuals enrolled, NIV failed in 50. In the logistic regression model only APACHE II was found to have an independent effect on the outcome ($p < 0.0001$, OR 1.179, 95% CI 1.101-

-1.263 as quantitative variable; $p < 0.0001$, OR 3.753, 95% CI 1.798-7.835, as qualitative variable, > 20.5).

APACHE II may be a crucial parameter in predicting NIV failure; further multicentric studies are needed to better define NIV indications.

Kim CH, Lee YA, Hung RJ, Boffetta P, Xie D, Wampfler JA, Cote ML, Chang SC, Ugolini D, Neri M, Le Marchand L, Schwartz AG, Morgenstern H, Christiani DC, Yang P, Zhang ZF.

Secondhand tobacco smoke exposure and lung adenocarcinoma in situ/minimally invasive adenocarcinoma (AIS/MIA).

Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2015 Dec;24(12):1902-6.

The aim of this study was to estimate the effect of exposure to secondhand tobacco smoke on the incidence of lung adenocarcinoma in situ/minimally invasive adenocarcinoma (AIS/MIA). Data from seven case-control studies participating in the International Lung Cancer Consortium (ILCCO) were pooled, resulting in 625 cases of AIS/MIA and 7,403 controls, of whom 170 cases and 3,035 controls were never smokers. Unconditional logistic regression was used to estimate adjusted ORs (OR_{adj}) and 95% confidence intervals (CI), controlling for age, sex, race, smoking status (ever/never), and pack-years of smoking. Study center was included in the models as a random-effects intercept term. Ever versus never exposure to secondhand tobacco smoke was positively associated with AIS/MIA incidence in all subjects (OR_{adj} = 1.48; 95% CI, 1.14-1.93) and in never smokers (OR_{adj} = 1.45; 95% CI, 1.00-2.12). There was, however, appreciable heterogeneity of OR_{adj} across studies ($P = 0.01$), and the pooled estimates were largely influenced by one large study (40% of all cases and 30% of all controls). These findings provide weak evidence for an effect of secondhand tobacco smoke exposure on AIS/MIA incidence. Further studies are needed to assess the impact of secondhand tobacco smoke exposure using the newly recommended classification of subtypes of lung adenocarcinoma.

Landi D, Maggio P, Lupoi D, Palazzo P, Altamura C, Falato E, Altavilla R, Vollaro S, Coniglio AD, Tibuzzi F, Passarelli F, Silvestrini M, Pasqualetti P, Vernieri F.

Cortical Ischemic Lesion Burden Measured by DIR Is Related to Carotid Artery Disease Severity. Cerebrovasc Dis. 2015 Dec 24;39(1):23-30.

Over time, exposure to cerebrovascular risk factors and carotid artery disease may cause multiple asymptomatic brain cortical and subcortical microinfarcts, which are commonly found at brain autopsy. So far, lack of convenient neuroimaging tools limited the investigation of grey matter ischemic damage in vivo. We applied the Double Inversion Recovery (DIR) sequence to explore the impact of carotid artery disease on intracortical ischemic lesion load in vivo, taking into account the impact of demographic characteristics and vascular risk factors.

DIR was acquired in 62 patients with common cerebrovascular risk factors stratified in three groups according to carotid artery disease severity. Intracortical lesions scored on DIR (DIRIns) were classified by vascular territory, lobe and hemisphere. White matter hyperintensities (WMHs) volume was also quantified on Fluid Attenuated Inversion Recovery sequence (FLAIR).

Among demographic characteristics and cerebrovascular risk variables explored, General Linear Model indicated that age and carotid artery disease were significantly associated to DIRIns. After correcting for age, DIRIns load was found to be significantly dependent on carotid artery stenosis severity ($F(2, 58) = 5.56$, $p = 0.006$). A linear positive correlation between DIRIns and WMHs was found after correcting for age ($p = 0.003$).

Carotid disease severity is associated with DIRIns accrual. Microembolism and impaired cerebral hemodynamics may act as physiopathological mechanisms underlying cortical ischemic damage. The role of other factors, such as small vessel disease and the possible interaction with carotid disease, remains to be further explored.

Leoncini E, Vukovic V, Cadoni G, Pastorino R, Arzani D, Bosetti C, Canova C, Garavello W, La

Vecchia C, Maule M, Petrelli L, Pira E, Polesel J, Richiardi L, Serraino D, Simonato L, Ricciardi W, Boccia S.

Clinical features and prognostic factors in patients with head and neck cancer: Results from a multicentric study.

Cancer Epidemiol. 2015 Jun;39(3):367-374.

The purpose of this study is to evaluate whether demographics, lifestyle habits, clinical data and alcohol dehydrogenase polymorphisms rs1229984 and rs1573496 associated with first primary head and neck (HNC) are associated with overall survival, recurrence, and second primary cancer (SPC).

We conducted a follow-up study in five centres including 801 cases. Hazard ratios (HRs) and 95% confidence intervals (CIs) were estimated for overall survival, recurrence and SPC.

Five-years overall survival was 62% for HNC cases, 55% for oral cavity, 53% for oropharynx, 41% for hypopharynx, and 71% for larynx. Predictors of survival were older ages (HR=1.18 for 5 years increase; CI: 1.07-1.30), higher tumour stage (HR=4.16; CI: 2.49-6.96), and high alcohol consumption (HR=3.93; CI: 1.79-8.63). A combined therapy (HR=3.29; CI: 1.18-9.13) was associated with a worst prognosis for oral cavity cancer. The only predictor was higher tumour stage (HR=2.25; CI: 1.26-4.03) for recurrence, and duration of smoking (HR=1.91; CI: 1.00-3.68) for SPC. ADH1B rs1229984 polymorphism HRs for HNC and oesophageal cancer death and for alcohol related cancer death were 0.67 (95% CI: 0.42-1.08), and 0.64 (95% CI: 0.40-1.03), respectively.

The survival expectation differs among HNC sites. Increasing age and stage, and high alcohol consumption were unfavourable predictors of HNC survival overall. Duration of tobacco consumption before the first primary tumour was a risk factor for SPC.

Lococo F, Cafarotti S, Cesario A, Dall'Armi V, Cusumano G, Lauriola L, Frederic M, Evoli A, Margaritora S, Granone P.

Prognostic grading after complete resection for thymic malignancies.

Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2015 Aug;19(15):2882-2891.

Despite the World Health Organization (WHO) and Masaoka classifications have been widely accepted as the main descriptors of prognosis determinants in thymic malignancies, so far, these have been considered independently from one another. We have reviewed our single-centre 40-year results after surgical treatment of thymic malignancies evaluating the inter-relationships between the clinical, surgical and pathological variables and investigating their prognostic impact in completely resected patients.

A surgical series of 347 patients was reviewed and, of these, 305 with complete resection enrolled. Long-term and disease-free survival (LTS, DFS) analyses were performed. Kaplan-Meier curves for WHO histotypes and Masaoka-stages were inspected and matched with the log-rank test; the Cox regression analysis was adopted in a multivariable approach.

Considered independently, the WHO-histotypes did not differentiate clearly from one to another in terms of LTS and DFS; however, types A-AB-B1-B2 and B3-C clustered in 2, statistically different, malignancy groups (LTS, DFS: Cox-p < 0.001). Masaoka staging was confirmed to be a relevant prognostic determinant, even if no evident difference between stages I vs II and stages III vs IV emerged when the Masaoka-classification was factored in. Thus, when investigating 13 surgical and pathological factors of invasiveness, these showed a clustering in 2 groups according to the presence/absence of pathological proven infiltration in the peri-thymic structures (LTS, DFS: Cox-p < 0.001). By matching the WHO-malignancy clusters and infiltration clusters, 4 classes may be identified, which proved to have a distinct prognostic significance: (LTS-Cox: stage-I vs stage-II, p = 0.003; III: p < 0.001, IV: p < 0.001; DFS-Cox: stage-I vs stage-II, p < 0.001; III: p < 0.001; IV: p < 0.001). When analyzing the long-term outcome of patients underwent complete resection for thymic malignancies, the combination between pathological and surgical variables showed accurate prognosis predictability.

Lococo F, Cesario A, Del Bufalo A, Ciarrocchi A, Prinzi G, Mina M, Bonassi S, Russo P. Novel Therapeutic Strategy in the Management of COPD: A Systems Medicine Approach. Curr Med Chem. 2015;22(32):3655-3675.

Respiratory diseases including chronic-obstructive-pulmonary-disease (COPD) are globally increasing, with COPD predicted to become the third leading cause of global mortality by 2020. COPD is a heterogeneous disease with COPD-patients displaying different phenotypes as a result of a complex interaction between various genetic, environmental and life-style factors. In recent years, several investigations have been performed to better define such interactions, but the identification of the resulting phenotypes is still somewhat difficult, and may lead to inadequate assessment and management of COPD (usually based solely on the severity of airflow limitation parameter FEV1). In this new scenario, the management of COPD has been driven towards an integrative and holistic approach. The degree of complexity requires analyses based on large datasets (also including advanced functional genomic assays) and novel computational biology approaches (essential to extract information relevant for the clinical decision process and for the development of new drugs). Therefore, according to the emerging "systems/network medicine", COPD should be re-evaluated considering multiple network(s) perturbations such as genetic and environmental changes. Systems Medicine (SM) platforms, in which patients are extensively characterized, offer a basis for a more targeted clinical approach, which is predictive, preventive, personalized and participatory ("P4-medicine"). It clearly emerges that in the next future, new opportunities will become available for clinical research on rare COPD patterns and for the identification of new biomarkers of comorbidity, severity, and progression. Herein, we overview the literature discussing the opportunity coming from the adoption of SMapproaches in COPD management, focusing on proteomics and metabolomics, and emphasizing the identification of disease sub-clusters, to improve the development of more effective therapies.

Mariani S, Ventriglia M, Simonelli I, Bucossi S, Siotto M, Donno S, Vernieri F, Squitti R. Association between sex, systemic iron variation and probability of Parkinson's Disease. Int J Neurosci. 2015 May 22:1-20. [Epub ahead of print]

Iron homeostasis appears altered in Parkinson's disease (PD). Recent genetic studies and meta-analyses have produced heterogeneous and inconclusive results. In order to verify the possible role of iron status in PD, we have screened some of the main metal gene variants, evaluated their effects on iron systemic status, and checked for possible interactions with PD.

In 92 PD patients and 112 healthy controls, we screened the D544E and R793H variants of the ceruloplasmin gene (CP), the P589S variant of the transferrin gene (TF), and the H63D and C282Y variants of the HFE gene, encoding for homologous proteins, respectively. Furthermore, we analyzed serum concentrations of iron, copper and their related proteins.

The genetic investigation revealed no significant differences in allelic and genotype distributions between patients and controls. Two different multivariable forward stepwise logistic models showed that, when the effect of sex is considered, an increase of the probability of having PD is associated with low iron concentration and Tf-saturation.

This study provides new evidence of the involvement of iron metabolism in PD pathogenesis and reveals a biological effect of sex.

Massimo L, Rossoni N, Mattei F, Bonassi S, Caprino D. Needs and expectations of adolescent in-patients: The experience of Gaslini Children's hospital. Int J Adolesc Med Health 2015. [Epub ahead of print]

Adolescents affected by a severe disease who undergo high-risk treatment may experience stress, pain, extreme frustration, depression, and anger. In this large spectrum of emotions, several situations must be considered carefully. To improve coping and quality of services offered to

adolescents in paediatric hospitals, we elaborated a semi-structured interview and a short questionnaire (Quality of life-adolescent-Istituto Giannina Gaslini, QoL-adol-IGG scale) to investigate the quality of life, the needs and expectations of adolescent in-patients.

The study sample includes 117 in-patients aged between 10 and 20 years coming from several Italian regions who were admitted to the G. Gaslini Research Children's Hospital for a period of 10 days or more, regardless of the disease. The QoL-adol-IGG scale was administered - after obtaining informed consent from the children and their parents - in one single encounter by trained psychologist. The distribution of the answers was evaluated after stratification by patient's age, gender, area of residence, and clinical diagnosis. Continuous data were compared using the Kruskal-Wallis, while the χ^2 -test was used for categorical data.

Seventy-two percent had difficulty practicing normal daily activities during their stay in the hospital, not only because of the disease (40%), but also because of the poor organization within the hospital, the lack of proposals/activities and space for spare time, and the limited access to technologies. Adolescents ≥ 15 years were more frequently dissatisfied than youngsters concerning the access to Internet and other technologies, the possibility to make new friends and to take part in social activities.

The results of this study, which evaluated the hospital's organization, but also psychological functioning in a representative sample of patients, may contribute to optimize internal procedures of clinical departments where adolescent in-patients are present, on the basis of their requests and taking into account their age.

Matera MG, Cardaci V, Cazzola M, Rogliani P.
Safety of inhaled corticosteroids for treating chronic obstructive pulmonary disease.
Expert Opin Drug Saf. 2015 Apr;14(4):533-541.

The frequent use of inhaled corticosteroids (ICSs), especially at higher doses, has been accompanied by concern about both systemic and local side effects. Patients suffering from chronic obstructive pulmonary disease (COPD) are more at risk from side effects, likely because of the use of higher doses of ICS in COPD to overcome corticosteroid unresponsiveness.

There is considerable concern about increased incidence of pneumonia, osteoporosis and hyperglycemia in diabetic patients and cataracts. The local side effects of ICSs, such as hoarseness and pharyngeal discomfort, oral and oropharyngeal candidiasis, cough during inhalation, and a sensation of thirst, are not usually serious but are of clinical importance because they may lead to patients discontinuing therapy.

The possibility that ICSs induce adverse side effects should not lead us to avoid their use in patients in whom clinical evidence suggests that they may be helpful. However, clinicians should balance the potential benefits of ICSs in COPD against their potential side effects and always consider using the lowest possible dose to achieve the best possible management.

Mendes A, Papoila AL, Carreiro-Martins P, Bonassi S, Caires I, Palmeiro T, Aguiar L, Pereira C, Neves P, Mendes D, Botelho MA, Neuparth N, Teixeira JP.

The impact of indoor air quality and contaminants on respiratory health of older people living in long-term care residences in Porto.

Age Ageing. 2015 Nov 11. pii: afv157. [Epub ahead of print]

Persons who are 65 years or older often spend an important part of their lives indoors thus adverse indoor climate might influence their health status.

The aim of the study is to evaluate the influence of indoor air quality and contaminants on older people's respiratory health.

Design: cross-sectional study.

Setting: 21 long-term care residences (LTC) in the city of Porto, Portugal.

SUBJECTS: older people living in LTC with ≥ 65 years old.

The Portuguese version of BOLD questionnaire was administered by an interviewer to older residents able to participate (n = 143). Indoor air contaminants (IAC) were measured twice, during winter and summer in 135 areas. Mixed effects logistic regression models were used to study the association between the health questionnaire results and the monitored IAC, adjusted for age, smoking habits, gender and number of years living in the LTC.

Cough (23%) and sputum (12%) were the major respiratory symptoms, and allergic rhinitis (22%) the main self-reported illness. Overall particulate matter up to 2.5 micrometres in size median concentration was above the reference levels both in winter and summer seasons. Peak values of particulate matter up to 10 micrometres in size (PM10), total volatile organic compounds, carbon dioxide, bacteria and fungi exceeded the reference levels. Older people exposed to PM10 above the reference levels demonstrated higher odds of allergic rhinitis (OR = 2.9, 95% CI: 1.1-7.2).

High levels of PM10 were associated with 3-fold odds of allergic rhinitis. No association was found between indoor air chemical and biological contaminants and respiratory symptoms.

Milic M, Frustaci A, Del Bufalo A, Sánchez-Alarcón J, Valencia-Quintana R, Russo P, Bonassi S.
DNA damage in non-communicable diseases: A clinical and epidemiological perspective.
Mutat Res. 2015 Jun;776:118-127.

Non-communicable diseases (NCDs) are a leading cause of death and disability, representing 63% of the total death number worldwide. A characteristic phenotype of these diseases is the accelerated aging, which is the result of phenomena such as accumulated DNA damage, telomere capping loss and subcellular irreversible/nonrepaired oxidative damage. DNA damage, mostly oxidative, plays a key role in the development of most common NCDs. The present review will gather some of the most relevant knowledge concerning the presence of DNA damage in NCDs focusing on cardiovascular diseases, diabetes, chronic obstructive pulmonary disease, and neurodegenerative disorders, and discussing a selection of papers from the most informative literature. The challenge of comorbidity and the potential offered by new systems approaches for introducing these biomarkers into the clinical decision process will be discussed. Systems Medicine platforms represent the most suitable approach to personalized medicine, enabling to identify new patterns in the pathogenesis, diagnosis and prognosis of chronic diseases.

Neri M, Frustaci A, Milic M, Valdiglesias V, Fini M, Bonassi S, Barbanti P.
A meta-analysis of biomarkers related to oxidative stress and nitric oxide pathway in migraine.
Cephalalgia. 2015 Sep;35(10):931-937

Oxidative and nitrosative stress are considered key events in the still unclear pathophysiology of migraine.

Studies comparing the level of biomarkers related to nitric oxide (NO) pathway/oxidative stress in the blood/urine of migraineurs vs. unaffected controls were extracted from the PubMed database. Summary estimates of mean ratios (MR) were carried out whenever a minimum of three papers were available. Nineteen studies were included in the meta-analyses, accounting for more than 1000 patients and controls, and compared with existing literature.

Most studies measuring superoxide dismutase (SOD) showed lower activity in cases, although the meta-analysis in erythrocytes gave null results. On the contrary, plasma levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), an aspecific biomarker of oxidative damage, showed a meta-MR of 2.20 (95% CI: 1.65-2.93). As for NOs, no significant results were found in plasma, serum and urine. However, higher levels were shown during attacks, in patients with aura, and an effect of diet was found. The analysis of glutathione precursor homocysteine and asymmetric dimethylarginine (ADMA), an NO synthase inhibitor, gave inconclusive results.

The role of the oxidative pathway in migraine is still uncertain. Interesting evidence emerged for TBARS and SOD, and concerning the possible role of diet in the control of NOx levels.

Neri M, Milazzo D, Ugolini D, Milic M, Campolongo A, Pasqualetti P, Bonassi S. Worldwide interest in the comet assay: a bibliometric study. *Mutagenesis*. 2015 Jan;30(1):155-163.

The comet assay is a rapid, sensitive and relatively simple method for measuring DNA damage. A bibliometric study was performed to evaluate temporal and geographical trends, research quality and main areas of interest in scientific production in this field. A PubMed search strategy was developed and 7674 citations were retrieved in the period 1990-2013. Notably, the MeSH (Medical Subject Headings) term 'comet assay', officially introduced in 2000, is used by indexers only in two thirds of papers retrieved. Articles on the comet assay were published in 78 countries, spread over the 5 continents. The EU contributed the greatest output, producing >2900 articles with IF (42.0%) and totalling almost 10000 IF points, and was followed by USA. In the new millennium, research with this assay reached a plateau or slow decline in the most industrialised areas (USA, Germany, UK, Italy), while its use has boomed in emerging countries, with increases of 5- to 7-fold in the last 10 years in China, India and Brazil, for instance. This transition resulted in a slow decrease of scientific production quality, as the countries that increased their relative weight typically had lower mIFs. The most common MeSH terms used in papers using the comet assay referred to wide areas of interest, such as DNA damage and repair, cell survival and apoptosis, cancer and oxidative stress, occupational and environmental health. Keywords related to humans, rodents and cell culture were also frequently used. The top journal for the comet assay articles was found to be *Mutation Research*, followed by *Mutagenesis*. Most papers using the comet assay as a biomarker were published in genetic and toxicology journals, with a stress on environmental and occupational disciplines.

Onder G, Marengoni A, Russo P, Degli Esposti L, Fini M, Monaco A, Bonassi S, Palmer K, Marocco W, Pozzi G, Sangiorgi D, Buda S, Marchionni N, Mammarella F, Bernabei R, Pani L, Pecorelli S; Geriatrics Working Group of the Italian Medicines Agency (Agenzia Italiana del Farmaco, AIFA); Medicines Utilization Monitoring Center Health Database Network. Advanced Age and Medication Prescription: More Years, Less Medications? A Nationwide Report From the Italian Medicines Agency. *J Am Med Dir Assoc*. 2015 Sep 30. [Epub ahead of print]

In older adults co-occurrence of multiple diseases often leads to use of multiple medications (polypharmacy). The aim of the present study is to describe how prescription of medications varies across age groups, with specific focus on the oldest old. We performed a cross-sectional study using 2013 data from the OsMed Health-DB database (mean number of medicines and defined daily doses prescribed in 15,931,642 individuals). There were 3,378,725 individuals age 65 years or older (21.2% of the study sample). The mean number of prescribed medications progressively rose from 1.9 in the age group <65 years to 7.4 in the age group 80-84 years and then declined, with a more marked reduction in the age group 95 years or older with a mean number of 2.8 medications. A similar pattern was observed for the mean number of defined daily doses. Among participants age ≥65 years, proton pump inhibitors were the most commonly prescribed medication (40.9% of individuals ≥65 years), followed by platelet aggregation inhibitors (32.8%) and hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (26.1%). A decline in prescription was observed among individuals age 90 years or older, but this reduction was less consistent for medications used to treat acute conditions (ie, antibiotics and glucocorticoids) rather than preventive medicines commonly used to treat chronic diseases (ie, antihypertensive medications and hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors). The burden of medication treatment progressively increases till age 85 and substantially declines after age of 90 years. Patterns of medication prescription widely vary across age groups.

Pozzi G, Frustaci A, Tedeschi D, Solaroli S, Grandinetti P, Di Nicola M, Janiri L. Coping strategies in a sample of anxiety patients: factorial analysis and associations with psychopathology. *Brain Behav*. 2015 Aug;5(8):e00351. Epub 2015 Jun 24.

The relationship between coping styles and mental disorders has received considerable attention and instruments have been developed to assess coping strategies. The measurement by means of category systems has been criticized and a functional hierarchy of action types linked to the adaptive processes is preferred. We aimed to determine which factors may exist within the Brief-COPE (Brief Coping Orientation to Problems Experienced--COPE--Inventory) in an Italian sample of patients with anxiety disorders; and if these factors correlate with the severity of psychopathology or with other characteristics. A total sample of 148 patients was recruited. The Brief-COPE inventory, the Symptom Check List 90-Revised, the Penn State Worry Questionnaire, the Zung Anxiety Status Inventory and the Zung Self-Rating Anxiety Scale were administered. Factor analysis of the Brief-COPE yielded nine factors accounting for 65.48% of the variance. Patients scored higher on Searching Support, followed by Acceptance, Changing Perspective, and Problem Solving. Associations between measures of psychopathology and factors of coping strategies, mostly Searching support and Avoidance, were found. Data of the present study support a nine-factor structure of the Brief-COPE that includes five broad dimensions of coping. Psychopathology was mostly related to Searching support and Avoidance factors, showing that these strategies may reflect ineffective ways of coping; Problem solving and Changing perspective could be a valid approach to moderate anxiety/depression symptoms and psychopathology in general.

Russo P, Del Bufalo A, Fini M. Deep sea as a source of novel-anticancer drugs: Update on discovery and preclinical/clinical evaluation in a systems medicine perspective. *EXCLI Journal*. 2015;14:228-236.

The deep-sea habitat is a source of very potent marine-derived agents that may inhibit the growth of human cancer cells "in vitro" and "in vivo". Salinosporamide-A, Marizomib, by *Salinispora* species is a proteasome inhibitor with promising anticancer activity (Phase I/II trials). Different deep-sea-derived drugs are under preclinical evaluation. Cancer is a complex disease that may be represented by network medicine. A simple consequence is the change of the concept of target entity from a single protein to a whole molecular pathway and or cellular network. Deep-sea-derived drugs fit well to this new concept.

Russo P, Del Bufalo A. Conopeptides in addiction disorders treatment. *IJARCS* 2:37-42, 2015.

Marine cone snails produce venoms (Conotoxins: CT) that have attracted interest as leads in drug design. CT are small peptides containing one or more disulfide bonds. α -CT specifically target different isoforms of nicotinic acetylcholine receptors (nAChR). In view of the important role of nAChR in normal and disease physiology such as addiction disorders, specific targeting of the relevant nAChR subtypes is an attractive pharmaceutical strategy. In this review the potential of α -CT against addiction disorders will be referred and discussed.

Russo P, Kisialiou A, Lamonaca P, Moroni R, Prinzi G, Fini M. New Drugs from Marine Organisms in Alzheimer's Disease.

Alzheimer's disease (AD) is a multifactorial neurodegenerative disorder. Current approved drugs may only ameliorate symptoms in a restricted number of patients and for a restricted period of time. Currently, there is a translational research challenge into identifying the new effective drugs and their respective new therapeutic targets in AD and other neurodegenerative disorders. In this review, selected examples of marine-derived compounds in neurodegeneration, specifically in AD field are reported. The emphasis has been done on compounds and their possible relevant biological activities. The proposed drug development paradigm and current hypotheses should be accurately investigated in the future of AD therapy directions although taking into account successful examples of such approach represented by Cytarabine, Trabectedin, Eribulin and Ziconotide. We review a complexity of the translational research for such a development of new therapies for AD. Bryostatin is a prominent candidate for the therapy of AD and other types of dementia in humans.

Russo P, Kisialiou A, Moroni R, Prinzi G, Fini M.
Effect of Genetic Polymorphisms (SNPs) in CHRNA7 Gene on Response to Acetylcholinesterase Inhibitors (AChEI) in Patients with Alzheimer's Disease.
Curr Drug Targets. 2015 Oct 1. [Epub ahead of print]

Sanchez-Flores M, Pàsaro E, Bonassi S, Laffon B, Vadiglesias V.
 γ H2AX assay as DNA damage biomarker for human population studies: defining experimental conditions.
Toxicol SC. 2015 Jan 22. [Epub ahead of print]

H2AX histone phosphorylation represents an early event in the cellular response against DNA double-strand breaks (DSBs), and plays a central role in sensing and repairing DNA damage. Therefore the analysis of H2AX phosphorylated (γ H2AX) may be possibly used as biomarker of genotoxicity and genomic instability with a number of applications in human epidemiology. However, the lack of an experimental standard leads to a wide heterogeneity in the results obtained and their interpretation, affecting the reliability of the assay. To address the most critical issues limiting the use of the γ H2AX assay in human population studies, a flow cytometry analysis was performed to establish differences in γ H2AX levels between fresh or cryopreserved peripheral blood lymphocytes, and to assess the influence of phytohemagglutinin (PHA) stimulation. To this purpose, cells were treated with 4 known genotoxic chemicals with different mechanisms of DSB induction, ie, bleomycin, methyl methanesulfonate, camptothecin and actinomycin. According to our results, both unstimulated and stimulated fresh lymphocytes can be efficiently employed to evaluate γ H2AX levels, but the sensitivity of the assay is depending upon the kind of damage observed. On the other hand, cryopreserved lymphocytes require PHA stimulation since unstimulated cells showed too high basal damage. Consequently, the protocol conditions will depend on the expected mechanism of production of DSB and the characteristics of the study design (sample collection and storage conditions, type of epidemiological study). Further studies are required to standardize the protocol of γ H2AX assay to be employed as biomarker of genotoxicity or genomic instability in human population studies.

Smolková B, Bonassi S, Buociková V, Dušinská M, Horská A, Kuba D, Džupinková Z, Rašlová K, Gašparovič J, Slíž I, Ceppi M, Vohnout B, Wsóllová L, Volkovová K.
Genetic determinants of quantitative traits associated with cardiovascular disease risk.
Mutat Res. 2015 8;778(0):18-25.

Established risk factors for cardiovascular diseases (CVD) may be moderated by genetic variants. In 2403 unrelated individuals from general practice (mean age 40.5 years), we evaluated

the influence of 15 variants in 12 candidate genes on quantitative traits (QT) associated with CVD (body mass index, abdominal obesity, glucose, serum lipids, and blood pressure). Prior to multiple testing correction, univariate analysis associated APOE rs429358, rs7412 and ATG16L1 rs2241880 variants with serum lipid levels, while LEPR rs1137100 and ATG16L1 rs2241880 variants were linked to obesity related QTs. After taking into account confounding factors and correcting for multiple comparisons only APOE rs429358 and rs7412 variants remained significantly associated with risk of dyslipidemia. APOE rs429358 variant almost tripled the risk in homozygous subjects (OR = 2.97; 95% CI 1.09-8.10, $p < 0.03$) and had a lesser but still highly significant association also in heterozygous individuals (OR = 1.67; 95% CI 1.24-2.10; $p < 0.001$). Associations with hypertension, diabetes mellitus, and metabolic syndrome were not significant after Bonferroni correction. The influence of genetic variation is more evident in dyslipidemia than in other analyzed QTs. These results may contribute to strategic research aimed at including genetic variation in the set of data required to identify subjects at high risk of CVD.

Tunesi S, Ferrante D, Mirabelli D, Andorno S, Betti M, Fiorito G, Guarrera S, Casalone E, Neri M, Ugolini D, Bonassi S, Matullo G, Dianzani I, Magnani C.
Gene-asbestos interaction in malignant pleural mesothelioma susceptibility.
Carcinogenesis. 2015 Oct;36(10):1129-35.

Asbestos exposure is the main risk factor for malignant pleural mesothelioma (MPM), a rare aggressive tumor. Nevertheless, on average less than 10% of subjects highly exposed to asbestos develop MPM, suggesting the possible involvement of other risk factors. To identify the genetic factors that may modulate the risk of MPM, we conducted a gene-environment interaction analysis including asbestos exposure and 15 single nucleotide polymorphisms (SNPs) previously identified through a genome-wide association study on Italian subjects. In the present study, we assessed gene-asbestos interaction on MPM risk using relative excess risk due to interaction and synergy index for additive interaction and V index for multiplicative interaction. Generalized multifactor dimensionality reduction (GMDR) analyses were also performed. Positive deviation from additivity was found for six SNPs (rs1508805, rs2501618, rs4701085, rs4290865, rs10519201, rs763271), and four of them (rs1508805, rs2501618, rs4701085, rs10519201) deviated also from multiplicative models. However, after Bonferroni correction, deviation from multiplicative model was still significant for rs1508805 and rs4701085 only. GMDR analysis showed a strong MPM risk due to asbestos exposure and suggested a possible synergistic effect between asbestos exposure and rs1508805, rs2501618 and rs5756444. Our results suggested that gene-asbestos interaction may play an additional role on MPM susceptibility, given that asbestos exposure appears as the main risk factor.

Valdiglesias V, Bonassi S, Dell'Armi V, Settanni S, Celi M, Mastropalo S, Antocicco M, Fini M, Onder G.
Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and frailty status in elderly. A lack of association with clinical features.
Mutat Res. 2015 Jul 29;780:47-54.

Frailty is a condition of vulnerability that carries an increased risk of poor outcome in elder adults. Frail individuals show fatigue, weight loss, muscle weakness, and a reduced physical function, and are known to frequently experience disability, social isolation, and institutionalization. Identifying frail people is a critical step for geriatricians to provide timely geriatric care and, eventually, to improve the quality of life in elderly. The aim of the present study is to investigate the association between frailty status and micronucleus (MN) frequency, a known marker of genomic instability, in a sample of elder adults. Several clinical features were evaluated and their possible association with MN frequency was tested. Criteria proposed by Fried were used to identify frail subjects. Overall, 180 elder adults entered the study, 93 of them (51.7%) frail. No association between MN frequency and frailty status was found under the specific conditions tested in this study (mean

ratio=1.06; 95% CI 0.96-1.18). The inclusion of MN frequency in the Fried's frailty scale minimally improved the classification of study subjects according to the multidimensional prognostic index (MPI). The presence of genomic instability in the ageing process and in most chronic diseases, demands further investigation on this issue.

LINEA 4

STUDIO DELLE DISABILITÀ DELLO SVILUPPO E NEURORIABILITAZIONE PEDIATRICA

Dall'analisi del movimento secondo la prospettiva biomeccanica all'analisi e allo studio del movimento "come funzione cognitiva"

Questo progetto si colloca nella valutazione del movimento al fine di determinare le strategie di controllo motorio che caratterizzano i pazienti con disabilità intellettiva ed in particolare nei pazienti con sindrome di Down (DS).

Al fine di avere dati utili alla spiegazione del controllo motorio sono stati definiti set-up sperimentali sviluppati ad hoc grazie alla collaborazione con il Laboratorio "Luigi Divieti" del Dipartimento di Elettronica, Informazione e Bioingegneria, del Politecnico di Milano, testati dapprima su soggetti sani, e poi trasferiti ai soggetti con patologia.

L'obiettivo del progetto è principalmente quello di utilizzare l'analisi biomeccanica del movimento per comprendere meglio le strategie di controllo motorio tipiche dei pazienti con disabilità intellettiva e identificare percorsi riabilitativi più adeguati alla loro situazione. Gli scopi specifici dello studio sono i seguenti: (1) definire ed applicare dei set up sperimentali per la valutazione quantitativa dei diversi aspetti di controllo e della esecuzione motoria durante task funzionali in soggetti adulti con DS; (2) a partire dagli output motori, definire alcune ipotesi riguardo alle funzioni cognitive che regolano tali output e riguardo a quali siano i deficit principali nella DS. (3) indagare con un particolare tipo di meccanismo feedforward, le reazioni pre-programmate.

Sono stati analizzati dati relativi a 37 soggetti con Sindrome di Down e a 43 soggetti sani.

Lo svolgimento del lavoro ha richiesto dapprima una revisione della letteratura relativa all'analisi motoria nel paziente con Sindrome di Down e alla valutazione motoria per la determinazione di strategie legate al controllo motorio.

A seguito di ciò si è evidenziato il tipo di protocollo sperimentale più adatto alla valutazione dei meccanismi di controllo motorio dei pazienti con Sindrome di Down, elemento che conferisce al progetto caratteristica di originalità.

Lo studio ha analizzato l'integrazione percettivo-motoria nella DS durante l'esecuzione di due task funzionali (cammino in presenza di un ostacolo e tapping di arto superiore con ostacolo), utilizzando l'analisi quantitativa multifattoriale del movimento. Inoltre, lo studio ha analizzato le reazioni pre-programmate in presenza di una perturbazione dell'arto superiore mediante elettromiografia.

I risultati dei primi due esperimenti hanno evidenziato che: (1) mentre le persone con DS sembrano utilizzare correttamente l'informazione sensoriale, tale informazione non è utilizzata in maniera pre-programmata per pianificare il movimento in anticipo, (2) il movimento delle persone con DS è altamente dipendente da meccanismi di feedback, mentre i soggetti di controllo fanno più affidamento a meccanismi di tipo feedforward, (3) i soggetti con DS sono in grado di completare i task sebbene con minor efficienza del movimento.

Questi risultati evidenziano alcuni importanti quesiti clinici: getti con DS?

Rispondere a queste domande è di notevole importanza per lo sviluppo di strategie riabilitative mirate. Una parziale risposta a queste domande viene fornita dai dati relativi all'analisi elettromiografica delle reazioni pre-programmate. Queste reazioni avvengono senza controllo volontario e sono quindi meno affette da problemi di decision-making. Per questo motivo tali reazioni permettono di studiare un particolare tipo di meccanismo feedforward riducendo l'effetto dei deficit decisionali. Inoltre, queste reazioni sono alcune tra le più "primitive" reazioni feedforward che si sono sviluppati nelle prime fasi di vita. I risultati aiuteranno a capire meglio il ruolo

del feedforward nei soggetti con DS, e permetteranno di definire alcune linee guida per una riabilitazione più focalizzata al trattamento dei deficit motori nella DS.

Studio delle anomalie bioelettriche nei bambini con disturbi specifici dell'apprendimento e/o con disabilità intellettiva durante l'esecuzione di test per lo studio delle prassie grafo-motorie

Nella valutazione delle abilità cognitive e motorie vengono comunemente utilizzati dei test nei quali viene chiesto ai soggetti di scrivere un testo o disegnare alcune semplici figure. Questi gesti grafo-motori vengono denominati movimenti fini e prevedono la coordinazione di piccoli movimenti muscolari a livello delle dita e della mano; rappresentano quindi l'integrazione tra task motorio e task cognitivo. Tali movimenti possono caratterizzare la natura di molteplici patologie che comportano disturbi a livello cognitivo e a livello motorio, dando un valido aiuto in fase decisionale per la scelta di una riabilitazione adeguata. Queste analisi, inoltre, permettono ai clinici di misurare il livello della maturazione percettivo-motoria in quanto un gesto grafico poco accurato si può considerare come la manifestazione di un disturbo mentale e comportamentale. Attualmente, nella pratica clinica, la maggior parte di queste valutazioni si basa sull'osservazione del risultato del gesto grafico e quindi su criteri qualitativi, oppure sull'utilizzo di una tavoletta grafica, che permette solamente l'analisi della traccia e non della postura del soggetto durante il gesto grafico.

Questo lavoro è nato dall'esigenza di analizzare con una valutazione quantitativa ed esaustiva l'esecuzione di un task motorio che coinvolge sia aspetti cognitivi sia aspetti motori dei bambini con sindrome di Down per poi estendere tale valutazione anche ad altre patologie.

La sindrome di Down è considerata una delle più importanti cause di disabilità mentale, e determina un ritardo nello sviluppo motorio, in particolare un ritardo nell'acquisizione del controllo del tronco, della postura eretta e della deambulazione, che può essere attribuito all'ipotonia, al deficit nei meccanismi dell'equilibrio e alla lassità legamentosa che, a loro volta, sarebbero legati alla presenza dell'ipoplasia cerebellare. Il deficit peculiare a livello motorio nei bambini con sindrome di Down è la lentezza dei movimenti, deficit che permane anche in età adulta. In generale, anche se i bambini con sindrome di Down imparano a camminare, a raggiungere e a prendere gli oggetti, i loro movimenti mancano di precisione, di coordinazione e sono meno efficienti dei movimenti dei bambini che hanno avuto un normale sviluppo. Inoltre, queste persone presentano un atteggiamento "goffo" ed uno scarso controllo nella programmazione di molteplici movimenti che coinvolgono le diverse articolazioni. In questo studio, sono stati analizzati 22 soggetti con sindrome di Down di età compresa tra i 7 e i 25 anni, tali soggetti sono stati confrontati con 13 bambini con un normale sviluppo mentale e motorio di età compresa tra i 6 e i 12 anni. Nel set-up sperimentale è stato chiesto ai soggetti l'esecuzione di tre tipologie di task differenti che riguardavano il disegno di tre semplici figure geometriche: un cerchio, una croce ed un quadrato. La scelta del tipo di test è stata determinata dai test clinici che normalmente vengono proposti. Per l'acquisizione del movimento del soggetto è stato utilizzato un sistema optoelettronico (SMART D BTS, IT). Tale sistema ha permesso l'acquisizione delle coordinate tridimensionali dei marker posizionati in particolari punti di reperi del soggetto e sulla penna; questo ha consentito di rilevare il loro movimento, così da ricostruire la traccia del disegno ed anche il movimento dell'arto superiore e del capo del soggetto durante il gesto grafico. Ogni prova è composta da due fasi: una acquisizione statica ed una acquisizione dinamica. Nella prima fase sono stati acquisiti i marker posti secondo un determinato modello sulla penna e sul foglio. Durante questa fase viene determinata la posizione della punta della penna rispetto al sistema di riferimento locale della penna stessa, costruito mediante i marker posti sul suo cappuccio. Nella seconda fase i marker sono stati posizionati sulla testa, sulle spalle e sul braccio dominante del soggetto in modo tale da acquisire il suo movimento durante il gesto ed è stata ricostruita la traccia del disegno mediante le informazioni provenienti dalla prima fase sulla posizione della

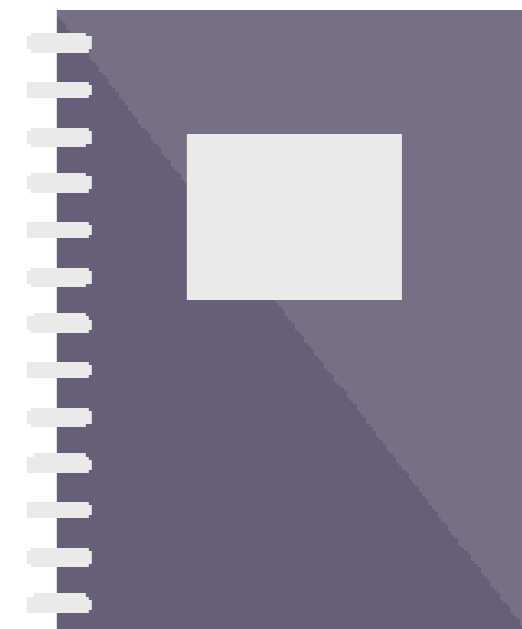
punta della penna. Le acquisizioni della statica e della dinamica sono state caricate in un software dedicato, SMART Analyzer (BTS IT), insieme alle informazioni personali del paziente. Mediante questo software è stato sviluppato un protocollo ad hoc per ognuno dei tre task motori, al fine di caratterizzare le grandezze specifiche di interesse relative al controllo motorio nei soggetti e di calcolare parametri di interesse relativi alla figura considerata. Il risultato ottenuto per ogni task motorio è contenuto in un Report composto da tre pagine, nelle quali vengono indicate le caratteristiche dimensionali (identificate per caratterizzare le diverse strategie impiegate nel disegno e per valutare la correttezza esecutiva) e le caratteristiche cinematiche (valutate per caratterizzare il meccanismo di controllo durante il movimento e i parametri del movimento della testa e dell'arto superiore dominante). Per correlare la traccia del disegno ottenuto e la strategia posturale utilizzata, è stata realizzata l'analisi dei movimenti del braccio superiore, per valutare le possibili differenze negli angoli articolari tra i due gruppi in analisi. Inoltre, per caratterizzare il livello di attenzione del soggetto durante l'esecuzione della prova, è stata effettuata l'analisi del movimento della testa rispetto al foglio e rispetto alle spalle. Per verificare la significatività e l'attendibilità dei risultati ottenuti e per individuare eventuali differenze significative nei parametri analizzati tra i due gruppi sono stati effettuati vari test statistici. Generalmente nei movimenti più ampi, come ad esempio il cammino, la caratteristica peculiare dei soggetti con sindrome di Down è la lentezza esecutiva. Durante il movimento analizzato in questo lavoro il comportamento dei bambini con sindrome di Down è totalmente diverso; infatti, essi si muovono più velocemente rispetto al gruppo di controllo. Questa maggiore velocità porta ad un risultato finale meno accurato e preciso. Si ipotizza quindi che, per questo gesto grafico, il disturbo coinvolga aspetti cognitivi, come ad esempio la minor attenzione nel movimento stesso, il deficit di memoria, oppure il minor interesse al raggiungimento di un risultato corretto, e non sembra causato da disturbi a livello biomeccanico e motorio, come la lassità legamentosa e l'ipotonìa, che sono tipicamente presenti in questi soggetti.

In conclusione, il metodo di analisi utilizzato ha permesso di valutare e caratterizzare quantitativamente i disturbi della sindrome di Down nel gesto grafico in modo più completo.

In futuro, questa metodologia potrebbe fornire un valido aiuto nella caratterizzazione dei movimenti fini di altre patologie che comportano disturbi cognitivi e motori.



PUBBLICAZIONI



Cimolin V, Capodaglio P, Cau N, Galli M, Pau M, Patrizi A, Tringali G, Sartorio A.
Foot-type analysis and plantar pressure differences between obese and nonobese adolescents during upright standing.
Int J Rehabil Res. 2015 Dec 1. [Epub ahead of print]

This study aimed to characterize the effect of obesity on foot-type and plantar pressure distribution in adolescents. Ten obese adolescents (obese group; BMI: $35.45 \pm 4.73 \text{ kg/m}^2$) and eight normal-weighted adolescents (control group; BMI: $18.67 \pm 2.46 \text{ kg/m}^2$) were recruited. Both groups were evaluated while standing using the Pedar-X in-shoe system. Foot-ground contact was characterized using contact area, peak of force and pressure calculated for the subareas of the foot. The analysis showed that obese participants had significantly higher area of contact in forefoot and midfoot (only in medial area) regions in comparison with the control group, whereas no statistically significant differences were observed for the rearfoot region. As far as the maximum pressure and force was concerned, similar results were obtained for both groups. Obese participants showed higher values for all the regions, with the exception of medial rearfoot area, for which the values were similar between the two groups. The analysis of foot-type distribution displayed that in the obese group high percentage of participants presented flat foot (70%) respect to cavus foot (20%) and normal foot (10%); on the contrary, in the control group, foot-types were markedly different, with 25% of participants with flat foot, 25% with cavus foot and 50% with normal foot. These results are important from a clinical perspective to develop and enhance the rehabilitative options in these patients and to avoid a worsening of their foot abnormalities. Untreated flat foot can in fact be disabling and over time can result in significant difficulties for the patient.

Collange Grecco LA, de Almeida Carvalho Duarte N, Mendonça ME, Galli M, Fregni F, Oliveira CS.
Effects of anodal transcranial direct current stimulation combined with virtual reality for improving gait in children with spastic diparetic cerebral palsy: A pilot, randomized, controlled, double-blind, clinical trial.
Clin Rehabil. 2015 Dec;29(12):1212-1223.

The aim of the study is to compare the effects of anodal vs. sham transcranial direct current stimulation combined with virtual reality training for improving gait in children with cerebral palsy.
Design: A pilot, randomized, controlled, double-blind, clinical trial.
Setting: Rehabilitation clinics.

A total of 20 children with diparesis owing to cerebral palsy.
The experimental group received anodal stimulation and the control group received sham stimulation over the primary motor cortex during virtual reality training. All patients underwent the same training programme involving a virtual reality (10 sessions). Evaluations were performed before and after the intervention as well as at the one-month follow-up and involved gait analysis, the Gross Motor Function Measure, the Pediatric Evaluation Disability Inventory and the determination of motor evoked potentials.
RESULTS: The experimental group had a better performance regarding gait velocity (experimental group: 0.63 ± 0.17 to $0.85 \pm 0.11 \text{ m/s}$; control group: 0.73 ± 0.15 to $0.61 \pm 0.15 \text{ m/s}$), cadence (experimental group: 97.4 ± 14.1 to $116.8 \pm 8.7 \text{ steps/minute}$; control group: 92.6 ± 10.4 to $99.7 \pm 9.7 \text{ steps/minute}$), gross motor function (dimension D experimental group: 59.7 ± 12.8 to 74.9 ± 13.8 ; control group: 58.9 ± 10.4 to 69.4 ± 9.3 ; dimension E experimental group: 59.0 ± 10.9 to 79.1 ± 8.5 ; control group: 60.3 ± 10.1 to 67.4 ± 11.4) and independent mobility (experimental group: 34.3 ± 5.9 to 43.8 ± 7.5 ; control group: 34.4 ± 8.3 to 37.7 ± 7.7). Moreover, transcranial direct current stimulation led to a significant increase in motor evoked potential (experimental group: 1.4 ± 0.7 to 2.6 ± 0.4 ; control group: 1.3 ± 0.6 to 1.6 ± 0.4).

These preliminary findings support the hypothesis that anodal transcranial direct current stimulation combined with virtual reality training could be a useful tool for improving gait in children

with cerebral palsy.

Galli M, Cimolin V, Rigoldi C, Kleiner A, Condoluci C, Albertini G.
Use of the gait profile score for the quantification of gait pattern in down syndrome.
Journal of Developmental and Physical Disabilities. 2015 05/27:1-7. [Epub ahead of print]

Gait Analysis can characterize alterations in walking patterns, but results in a considerable amount of data that requires complex interpretation. The literature proposes some global indexes that represent the deviation of pathological gait from healthy gait pattern. In this study, the Gait Profile Score (GPS) and the Gait Variable Scores (GVSs) were selected among the summary indexes for describing gait pattern of individuals with Down Syndrome (DS). Twenty-four participants with DS and 15 healthy individuals took part in this study. From their gait analysis data, the GPS and the GVSs were computed. The Mann-Whitney U test compared data of DS group and control group ($p < 0.05$). In participants with DS, the GPS presented global statistical difference in the gait pattern in comparison with the control group ($p < 0.05$). Moreover, all the GVSs pointed out statistical differences ($p < 0.05$), displaying abnormal gait pattern at all lower limb joints. In this study, the GPS and GVSs revealed to be suitable in detecting the typical features of gait pattern of DS participants. Thus, the GPS seems to have validity as a summary measure of functional limitation during walking in DS individuals.

Galli M, Cimolin V, Pau M, Leban B, Brunner R, Albertini G.
Foot pressure distribution in children with cerebral palsy while standing.
Res Dev Disabil. 2015 Jun 5;41-42C:52-57.

Foot deformity is a major component of impaired functioning in cerebral palsy (CP). While gait and balance issues related to CP have been studied extensively, there is little information to date on foot-ground interaction (i.e. contact area and plantar pressure distribution). This study aimed to characterize quantitatively the foot-ground contact parameters during static upright standing in hemiplegia and diplegia. We studied 64 children with hemiplegia (mean age 8.2 years; SD 2.8 years) and 43 with diplegia (mean age 8.8 years; SD 2.3 years) while standing on both legs statically on a pressure sensitive mat. We calculated pressure data for the whole foot and sub-regions (i.e. rearfoot, midfoot and forefoot) and average contact pressure. The Arch Index (AI) served for classifying the feet as flat, normal or cavus feet. The data were compared with those from a sample of age- and gender-matched participants (control group, 68 children). Most of the feet showed very high AI values, thus indicating a flat foot. This deformity was more common in diplegia (74.4%) than in hemiplegia (54.7%). In both diplegic and hemiplegic children, average plantar pressure was significantly increased in the forefoot and midfoot and decreased in the rearfoot ($p < 0.001$). The present data indicate an increased load on the front parts of the foot, which may be due to plantarflexor overactivity or knee flexion, combined with an increased incidence of low foot arches. As a low foot arch does not necessarily increase forefoot load, this deformity can be regarded as secondary.

Galli M, Coghe G, Sanna P, Cocco E, Marrosu MG, Pau M.
Relationship between gait initiation and disability in individuals affected by multiple sclerosis.
Multiple Sclerosis and Related Disorders. 2015 11;4(6):594-597.

This study analyzes how multiple sclerosis (MS) does affect one of the most common voluntary activities in life: the gait initiation (GI). The main aim of the work is to characterize the execution of this task by measuring and comparing relevant parameters based on center of pressure (COP) patterns and to study the relationship between these and the level of expanded disability status scale (EDSS). To this aim, 95 MS subjects with an average EDSS score of 2.4 and 35 healthy subjects were tested using a force platform during the transition from standing posture to gait.

COP time-series were acquired and processed to extract a number of parameters related to the trajectory followed by the COP. The statistical analysis revealed that only a few measurements were statistically different between the two groups and only these were subsequently correlated with EDSS score. The correlation analysis underlined that a progressive alteration of the task execution can be directly related with the increase of EDSS score. These findings suggest that most of the impairment found in people with MS comes from the first part of the COP pattern, the anticipatory postural adjustments (APAs). The central nervous system performs APAs before every voluntary movement to minimize balance perturbation due to the movement itself. Gait Initiation's APAs consist in some ankle muscles contractions that induce a backward COP shift to the swing limb. The analysis here performed highlighted that MS affected patients have a reduced posterior COP shift that reveals that the anticipatory mechanism is impaired.

Kleiner AFR, Galli M, Albertini G, Batistela RA, SÃ¡nchez-Arias MR, Mancini MC, Gobbi LTB. Context-dependency of mobility in children and adolescents with cerebral palsy: Optimal and natural environments. *Journal of Policy and Practice in Intellectual Disabilities*. 2015;12(4):288-293.

According to the International Classification of Functioning, Disability and Health (ICF), the mobility of individuals with spastic cerebral palsy (SCP) is influenced by the interaction between their health and the personal and environmental contexts in which they conduct their lives. In accord with the ICF, this observational study aimed to analyze and compare the functional mobility of children and adolescents with SCP in both natural environments (places typically encountered in their daily routine) and optimized environments (flat surfaces). The observed effects of the environment suggest that the functional mobility of individuals with cerebral palsy depends on the environmental context. The characteristics of the natural and optimized environments may act as barriers and/or facilitators to covering short and long distances among individuals of different ages with cerebral palsy.

Kleiner AFR, Galli M, Araujo do Carmo A, Barros RML. Effects of flooring on required coefficient of friction: Elderly adult vs. middle-aged adult barefoot gait. *Appl Ergon*. 2015 9;50(0):147-152.

The aim of this study was to investigate the effect of flooring on barefoot gait according to age and gender. Two groups of healthy subjects were analyzed: the elderly adult group (EA; 10 healthy subjects) and the middle-aged group (MA; 10 healthy subjects). Each participant was asked to walk at his or her preferred speed over two force plates on the following surfaces: 1) homogeneous vinyl (HOV), 2) carpet, 3) heterogeneous vinyl (HTV) and 4) mixed (in which the first half of the pathway was covered by HOV and the second by HTV). Two force plates (Kistler 9286BA) embedded in the data collection room floor measured the ground reaction forces and friction. The required coefficient of friction (RCOF) was analyzed. For the statistical analysis, a linear mixed-effects model for repeated measures was performed. During barefoot gait, there were differences in the RCOF among the flooring types during the heel contact and toe-off phases. Due to better plantar proprioception during barefoot gait, the EA and MA subjects were able to distinguish differences among the flooring types. Moreover, when the EA were compared with the MA subjects, differences could be observed in the RCOF during the toe-off phase, and gender differences in the RCOF could also be observed during the heel contact phase in barefoot gait.

Kleiner A, Galli M, Gaglione M, Hildebrand D, Sale P, Albertini G, Stocchi F, De Pandis MF. The Parkinsonian Gait Spatiotemporal Parameters Quantified by a Single Inertial Sensor before and after Automated Mechanical Peripheral Stimulation Treatment. *Parkinsons Disease* 2015;2015: Article ID 390512

This study aims to evaluate the change in gait spatiotemporal parameters in subjects with Parkinson's disease (PD) before and after Automated Mechanical Peripheral Stimulation (AMPS) treatment. Thirty-five subjects with PD and 35 healthy age-matched subjects took part in this study. A dedicated medical device (Gondola) was used to administer the AMPS. All patients with PD were treated in off levodopa phase and their gait performances were evaluated by an inertial measurement system before and after the intervention. The one-way ANOVA for repeated measures was performed to assess the differences between pre- and post-AMPS and the one-way ANOVA to assess the differences between PD patients and the control group. Spearman's correlations assessed the associations between patients with PD clinical status (H&Y) and the percentage of improvement of the gait variables after AMPS ($\alpha < 0.05$ for all tests). The PD group had an improvement of 14.85% in the stride length; 14.77% in the gait velocity; and 29.91% in the gait propulsion. The correlation results showed that the higher the H&Y classification, the higher the stride length percentage of improvement. The treatment based on AMPS intervention seems to induce a better performance in the gait pattern of PD patients, mainly in intermediate and advanced stages of the condition.

Molteni E, Rigoldi C, Morante M, Rozbaczylo C, Haro M, Albertini G, Galli M, Bianchi AM. Quantification of long-term effects of botulinum injection in a case of cerebral palsy affecting the upper limb movement. *Dev Neurorehabil*. 2015 Jun;18(3):145-148.

The aim of this work was to put into evidence the long-lasting modification induced by botulinum toxin injection and rehabilitative treatment on motor control. In this contribution, we report the case of a female child showing hemiplegia, due to cerebral palsy. She underwent botulinum injection, followed by physical and occupational therapy. We quantified the biomechanical, cerebral and occupational aspects of her impaired upper limb, also dynamically, with respect to her pre- and post-treatment condition. Small long-lasting improvements--induced on biomechanics by botulinum injection--triggered wide cerebral modification, well reflected in improved contextual movements and motor strategy. These results provide evidences that small modifications in the end-effector performance often imply cerebral modifications and improvement in finalized motor strategy.

Rigoldi C, Galli M, Celletti C, Blow D, Camerota F, Albertini G. Does neuromuscular taping influence hand kinesiology? A pilot study on Down's Syndrome. *Clin Ter*. 2015 Jul-Aug;166(4):e257-263.

This paper is a first attempt analysis of hand and upper limb proprioception coordination induced by NeuroMuscular Taping (NMT): application in a group of 5 participants with Down syndrome. The participants underwent a drawing test with motion capture system acquisition before and after NMT application. Specific and descriptive parameters were computed and analysed in order to quantify the differences. Results showed statistical differences between pre and post treatment sessions: the 5 participants with Down syndrome evidenced more reliance on proprioceptive signals in the post treatment session during the execution of the specific writing tasks. Based on the hypothesis that modifications in proprioception should alter motor pathway mapping of the motor cortex, NeuroMuscular taping may play a role in the treatment of dysgraphia and improving hand coordination following CNS impairment, even though a small treatment group was chosen for this pilot study the results lead to further discussions concerning the role of different afferent signals in a pathological context.

Romano A, Cornia R, Moraschi M, Bozzao A, Chiacchiararelli L, Coppola V, Iani C, Stella G, Albertini G, Pierallini A.

Age-Related Cortical Thickness Reduction in Non-Demented Down's Syndrome Subjects. *J Neuroimaging*. 2015 May 21. [Epub ahead of print]

The aim of this study was to investigate the characteristic pattern of age-related cortical thinning in patients with Down Syndrome (DS), as assessed by MRI and automatic cortical thickness measurements.

Ninety-one non-demented subjects with DS (range 11-53 years) were examined using a 1.5 T scanner. MRI-based quantification of cortical thickness was performed using FreeSurfer software package. The Pearson product-moment correlation coefficient between age and mean cortical thickness was evaluated for all subjects participating in the study.

A significant negative correlation between cortical thickness and age was found bilaterally in the frontal, temporal, parietal and cingulate gyrus. Specific investigation of cerebral lobes showed a more evident involvement of the frontal one, compared to others. Moreover, the age related reduction of cortical thickness appeared to be more significant and rapid in patients between 20 and 30 years of age.

Our findings showed that Down Syndrome subjects are affected by a diffuse cortical thinning. The involvement of cortical structures can be observed at an earlier age than previous studies have reported.

Romano A, Moraschi M, Cornia R, Bozzao A, Gagliardo O, Chiacchiararelli L, Iani C, Stella G, Albertini G, Pierallini A.

Age effects on cortical thickness in young Down's syndrome subjects: a cross-sectional gender study.

Neuroradiology. 2015 Apr;57(4):401-41.

The aim of this study was to determine differences in the characteristic pattern of age-related cortical thinning in men and women with Down's syndrome (DS) by means of MRI and automatic cortical thickness measurements and a cross-sectional design, in a large cohort of young subjects. Eighty-four subjects with DS, 30 females (11-35 years, mean age \pm SD = 22.8 \pm 5.9) and 54 males (11-35 years, mean age \pm SD = 21.5 \pm 6.5), were examined using a 1.5-T scanner. MRI-based quantification of cortical thickness was performed using FreeSurfer software package. For all subjects participating in the study, the Pearson product-moment correlation coefficient between age and mean cortical thickness values has been evaluated.

A significant negative correlation between cortical thickness and age was found in female DS subjects, predominantly in frontal and parietal lobes, bilaterally. In male DS subjects, a significant negative correlation between cortical thickness and age was found in the right fronto-temporal lobes and cingulate regions. Whole brain mean cortical thickness values were significantly negative correlated with age only in female DS subjects.

Females with Down's syndrome showed a strong correlation between cortical thickness and age, already in early age. We suggest that the cognitive impairment due to hormonal deficit in the postmenopausal period could be emphasized by the early structural decline of gray matter in female DS subjects.

Rozin Kleiner AF, Galli M, Araujo do Carmo A, Barros RML.

Effects of flooring on required coefficient of friction: Elderly adult vs. middle-aged adult barefoot gait.

Appl Ergon. 2015 9;50(0):147-152.

The aim of this study was to investigate the effect of flooring on barefoot gait according to age and gender. Two groups of healthy subjects were analyzed: the elderly adult group (EA; 10 healthy subjects) and the middle-aged group (MA; 10 healthy subjects). Each participant was asked to walk at his or her preferred speed over two force plates on the following surfaces: 1) homogene

ous vinyl (HOV), 2) carpet, 3) heterogeneous vinyl (HTV) and 4) mixed (in which the first half of the pathway was covered by HOV and the second by HTV). Two force plates (Kistler 9286BA) embedded in the data collection room floor measured the ground reaction forces and friction. The required coefficient of friction (RCOF) was analyzed. For the statistical analysis, a linear mixed-effects model for repeated measures was performed. During barefoot gait, there were differences in the RCOF among the flooring types during the heel contact and toe-off phases. Due to better plantar proprioception during barefoot gait, the EA and MA subjects were able to distinguish differences among the flooring types. Moreover, when the EA were compared with the MA subjects, differences could be observed in the RCOF during the toe-off phase, and gender differences in the RCOF could also be observed during the heel contact phase in barefoot gait.

Rozin Kleiner AF, Galli M, Araujo do Carmo A, Barros RML.

Effects of flooring on required coefficient of friction: Elderly adult vs. middle-aged adult barefoot gait.

Appl Ergon. 2015 9;50(0):147-152.

The aim of this study was to investigate the effect of flooring on barefoot gait according to age and gender. Two groups of healthy subjects were analyzed: the elderly adult group (EA; 10 healthy subjects) and the middle-aged group (MA; 10 healthy subjects). Each participant was asked to walk at his or her preferred speed over two force plates on the following surfaces: 1) homogeneous vinyl (HOV), 2) carpet, 3) heterogeneous vinyl (HTV) and 4) mixed (in which the first half of the pathway was covered by HOV and the second by HTV). Two force plates (Kistler 9286BA) embedded in the data collection room floor measured the ground reaction forces and friction. The required coefficient of friction (RCOF) was analyzed. For the statistical analysis, a linear mixed-effects model for repeated measures was performed. During barefoot gait, there were differences in the RCOF among the flooring types during the heel contact and toe-off phases. Due to better plantar proprioception during barefoot gait, the EA and MA subjects were able to distinguish differences among the flooring types. Moreover, when the EA were compared with the MA subjects, differences could be observed in the RCOF during the toe-off phase, and gender differences in the RCOF could also be observed during the heel contact phase in barefoot gait.

Stocchi F, Sale P, Kleiner AF, Casali M, Cimolin V, de Pandis F, Albertini G, Galli M.

Long-term effects of automated mechanical peripheral stimulation on gait patterns of patients with Parkinson's disease.

Int J Rehabil Res. 2015 Sep;38(3):238-245.

New treatments based on peripheral stimulation of the sensory-motor system have been inspiring new rehabilitation approaches in Parkinson's disease (PD), especially to reduce gait impairment, levodopa washout effects, and the incidence of falls. The aim of this study was to evaluate the change in gait and the clinical status of PD patients after six sessions of a treatment based on automated mechanical peripheral stimulation (AMPS). Eighteen patients with PD and 15 age-matched healthy individuals (control group) participated in this study. A dedicated medical device delivered the AMPS. PD patients were treated with AMPS six times once every 4 days. All PD patients were treated in the off-levodopa phase and were evaluated with gait analysis before and after the first intervention (acute phase), after the sixth intervention, 48h after the sixth intervention, and 10 days after the end of the treatment. To compare the differences among the AMPS interventions (pre, 6 AMPS, and 10 days) in terms of clinical scales, a t-test was used ($\alpha \leq 0.05$). In addition, to compare the differences among the AMPS interventions (pre, post, 6 AMPS, 48h and 10 days), the gait spatiotemporal parameters were analyzed using the Friedman test and the Bonferroni post-hoc test ($\alpha \leq 0.05$). Also, for comparisons between the PD group and the control group, the gait spatiotemporal parameters were analyzed using the Mann-Whitney test and the Bonferroni post-hoc test ($\alpha \leq 0.05$). The results of the study indicate that the AMPS treatment has

a positive effect on bradykinesia because it improves walking velocity, has a positive effect on the step and stride length, and has a positive effect on walking stability, measured by the increase in stride length. These results are consistent with the improvements measured with clinical scales. These findings indicate that AMPS treatment seems to generate a more stable walking pattern in PD patients, reducing the well-known gait impairment that is typical of PD; regular repetition every 4 days of AMPS treatment appears to be able to improve gait parameters, to restore rhythmicity, and to reduce the risk of falls, with benefits maintained up to 10 days after the last treatment.

Vismara L, Cimolin V, Galli M, Grugni G, Ancillao A, Capodaglio P.
Osteopathic manipulative treatment improves gait pattern and posture in adult patients with Prader-Willi syndrome.
International Journal of Osteopathic Medicine. 2015 [Epub ahead of print]

Prader-Willi syndrome (PWS) is the most frequent type of syndromic obesity and major clinical features include muscular hypotonia, early onset of obesity, short stature, scoliosis, developmental delays, reduced spontaneous physical activity, gait and postural disorders. Improving balance and walking ability in these patients could enhance their health status and quality of life.

The aim of this study was to quantify the effects of an Osteopathic Manipulative Treatment (OMT) session on gait pattern and posture in adults with PWS.

Ten patients with PWS (age: 37.0 + 4.3 years) were evaluated at admission (PRE session) and 24 h after the conclusion of one single 45-min OMT session (POST session), using gait analysis and static posturography. Two control groups were recruited: the first one included 15 obese subjects and the second group included 20 normal weight subjects.

After the OMT treatment, significant effects on posture and on walking were reported. In particular, significant improvements were observed in knee kinematics (knee position at initial contact and in mid-stance) and ankle kinetics (in terms of the peaks of ankle moment and power during terminal stance), with higher value of ground reaction force at push-off. Significant improvements were found in terms of postural analysis of the centre of pressure, which decreased its excursion in antero-posterior and medio-lateral direction and its trace length.

These preliminary results suggest that OMT within a comprehensive rehabilitation program could reduce costs and increase effectiveness of the rehabilitation treatment of these patients.

Walus M, Kida E, Rabe A, Albertini G, Golabek AA.
Widespread cerebellar transcriptome changes in Ts65Dn Down syndrome mouse model after lifelong running.
Behav Brain Res. 2015 Aug 21;296:35-46.

Our previous study showed an improvement in locomotor deficits after voluntary lifelong running in Ts65Dn mice, an animal model for Down syndrome (DS). In the present study, we employed mouse microarrays printed with 55,681 probes in an attempt to identify molecular changes in the cerebellar transcriptome that might contribute to the observed behavioral benefits of voluntary long-term running in Ts65Dn mice. Euploid mice were processed in parallel for comparative purposes in some analyses. We found that running significantly changed the expression of 4,315 genes in the cerebellum of Ts65Dn mice, over five times more than in euploid animals, up-regulating 1,991 and down-regulating 2,324 genes. Functional analysis of these genes revealed a significant enrichment of 92 terms in the biological process category, including regulation of biosynthesis and metabolism, protein modification, phosphate metabolism, synaptic transmission, development, regulation of cell death/apoptosis, protein transport, development, neurogenesis and neuron differentiation. The KEGG pathway database identified 18 pathways that are up-regulated and two that are down-regulated by running that were associated with learning, memory, cell signaling, proteolysis, regeneration, cell cycle, proliferation, growth, migration, and survival.

Of six mRNA protein products we tested by immunoblotting, four showed significant running-associated changes in their levels, the most prominent in glutaminergic receptor metabotropic 1, and two showed changes that were close to significant. Thus, unexpectedly, our data point to the high molecular plasticity of Ts65Dn mouse cerebellum, which translated into humans with DS, suggests that the motor deficits of individuals with DS could markedly benefit from prolonged exercise.

LINEA 5

IDENTIFICAZIONE DI NUOVI MODELLI ORGANIZZATIVI E GESTIONALI PER OTTIMIZZARE LA RISPOSTA RIABILITATIVA NEL PAZIENTE DISABILE

Area di Ricerca Epidemiologia Clinica e Molecolare

Applicazione di un approccio di systems medicine nelle malattie croniche non trasmissibili: implementazione di una piattaforma integrata di dati clinici, epidemiologici e biologici.

Le malattie croniche non trasmissibili sono multifattoriali e sono causate da complesse interazioni gene-ambiente che agiscono lungo l'intero corso della vita dallo stadio fetale all'età senile. In questo contesto, il termine "ambiente" include fattori di rischio e protettivi associati con l'ambiente e lo stile di vita, come il consumo di tabacco, alcool, droghe, la dieta, la sedentarietà, l'inquinamento atmosferico. Anche i determinanti socio-economici sono interconnessi con l'esordio, la progressione, la gravità ed il controllo delle NCDs. La systems medicine accoglie la prospettiva della systems biology allo studio delle patologie, avendo come obiettivo quello di integrare una varietà di dati a tutti i livelli dell'organizzazione cellulare con i dati clinici, ambientali e quelli relativi ai biomarcatori ed a tal fine utilizza la potenza del modeling computazionale e matematico per rendere possibile la comprensione dei meccanismi delle malattie e migliorarne diagnosi, trattamento e prognosi.

Oggi in Italia e in Europa, le malattie del sistema respiratorio costituiscono la terza causa di morte dopo i tumori e le malattie cardiocircolatorie. Per la loro elevata incidenza e prevalenza, rappresentano una delle più frequenti cause di malattia e invalidità, comportando un notevole carico assistenziale per la società. Nel 2020, 11.9 milioni di decessi su 68 milioni a livello mondiale saranno causati da malattie polmonari (4.7 da BPCO, 2.5 da polmonite, 2.4 da TB e 2.3 da carcinoma polmonare). In termini di mortalità, incidenza, prevalenza e costi, le patologie polmonari si trovano al secondo posto a livello globale dopo le malattie cardiovascolari. In alcuni paesi (ad esempio il Regno Unito), esse costituiscono già la principale causa di decesso (fonte: European Lung Foundation, <http://www.it.european-lung-foundation.org/425-patologie-polmonari.htm>). Per quanto riguarda in particolare la situazione italiana, nel mese di gennaio 2008 il Ministero della Salute pubblica la "Relazione sullo stato Sanitario del Paese 2005-2006" nella quale dichiara che le malattie respiratorie "rappresentano per numerosità la 3° causa di morte in Italia, dopo le malattie dell'apparato circolatorio e le neoplasie. La bronchite cronica e l'asma colpiscono più del 20% della popolazione di età superiore ai 65 anni e rappresentano per questa fascia di popolazione la terza causa di patologia cronica, dopo l'artrosi/artrite e l'ipertensione (ISTAT, 2003)". Il 50% dei decessi per cause respiratorie è attribuibile alla BPCO (ISTAT, Cause di Morte, 2002, 2005), ma l'effetto più drammatico di questa patologia si evince quando si considera che nei prossimi decenni essa è destinata a divenire la quinta causa di disabilità a livello mondiale, valutata in termini di DALYs –disability-adjusted life years (OMS, Ginevra). "In età geriatrica infatti la BPCO grave si associa a comorbidità e contribuisce in maniera significativa alla perdita di autosufficienza ed alla fragilità dell'anziano, specialmente a causa di importanti limitazioni dello stato funzionale, deterioramento cognitivo, problemi comportamentali e alterazioni del tono dell'umore. È evidente, quindi, che la patologia respiratoria cronica ostruttiva ha un grande impatto socio-economico sull'individuo ma anche sull'intera società soprattutto a causa dei ricoveri ospedalieri e di terapie complesse e costose quali l'ossigenoterapia domiciliare a lungo termine. Anche utilizzando una stima conservativa, alla BPCO viene attribuito almeno il 6% dell'intera spesa sanitaria italiana, la quota maggiore è rappresentata dalle ospedalizzazioni" (Ministero della Salute, "Relazione sullo stato Sanitario del Paese 2005-2006"). Inoltre, in base al documento http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1690_allegato.pdf del Ministero della Salute nel 2011 (Pubblicazione a cura di Dir. Gen. della Programmazione sanitaria, Ufficio VI – Federalismo) in Italia ci sono

stati 111.700 DRG attribuiti ad Insufficienza Respiratoria (quinto posto fra le cause di ricovero). Il fenomeno dell'invecchiamento della popolazione e l'aumentata esposizione ai principali fattori di rischio, quali il fumo di sigaretta e i componenti dell'inquinamento atmosferico, rendono l'incidenza delle malattie respiratorie in continua crescita.

In questo contesto si colloca l'importanza di attuare programmi di riabilitazione respiratoria, universalmente accettati come parte integrante del trattamento clinico dei pazienti affetti da patologie respiratorie croniche, che, nonostante il trattamento medico standard, rimangono sintomatici e spesso limitati nelle attività della vita quotidiana. La riabilitazione respiratoria consiste, infatti, in un intervento globale e multidisciplinare basato sull'evidenza dei benefici sui pazienti in base a parametri di efficacia oggettivi e quantificabili, volto a ridurre i sintomi, ottimizzare lo stato funzionale, aumentare la partecipazione e ridurre il consumo di risorse sanitarie attraverso la stabilizzazione o il miglioramento della malattia. Evidenze scientifiche dimostrano la capacità dei programmi di riabilitazione respiratoria di apportare effetti benefici sulla dispnea e di migliorare il controllo di determinate patologie, come la Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO).

Il fenomeno dell'invecchiamento della popolazione e l'aumentata esposizione ai principali fattori di rischio, quali il fumo di sigaretta e i componenti dell'inquinamento atmosferico, rendono l'incidenza delle malattie respiratorie in continua crescita.

In questo contesto si colloca l'importanza di attuare programmi di riabilitazione respiratoria, universalmente accettati come parte integrante del trattamento clinico dei pazienti affetti da patologie respiratorie croniche, che, nonostante il trattamento medico standard, rimangono sintomatici e spesso limitati nelle attività della vita quotidiana. La riabilitazione respiratoria consiste, infatti, in un intervento globale e multidisciplinare basato sull'evidenza dei benefici sui pazienti in base a parametri di efficacia oggettivi e quantificabili, volto a ridurre i sintomi, ottimizzare lo stato funzionale, aumentare la partecipazione e ridurre il consumo di risorse sanitarie attraverso la stabilizzazione o il miglioramento della malattia. Evidenze scientifiche dimostrano la capacità dei programmi di riabilitazione respiratoria di apportare effetti benefici sulla dispnea e di migliorare il controllo di determinate patologie, come la Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO).

Obiettivi principali della riabilitazione in questi pazienti sono la prevenzione delle complicanze infettive e la riduzione dei tempi di degenza, favorendo quindi la transizione verso reparti a più basso livello assistenziale. I mezzi con cui si cerca di raggiungere ciò sono i cambiamenti di postura, le manovre di reclutamento alveolare, le tecniche di disostruzione bronchiale, l'allenamento dei muscoli respiratori, il ricondizionamento allo sforzo, lo svezzamento dalla ventilazione meccanica. La complessità delle patologie trattate nei nostri reparti rende necessario un approccio di tipo sistemico che consente di tenere in considerazione e di integrare una molteplicità di fattori. Raramente, infatti, un singolo fattore è implicato come unico predittore dello sviluppo della patologia, piuttosto questa si evolve proprio dall'integrazione di più fattori concomitanti. Di conseguenza, in tali casi, si rivela maggiormente adatta una prospettiva sistemica che permette di prendere in esame una mole di dati notevole, provenienti da diverse fonti, al fine di formulare modelli computazionali che tengono conto di informazioni di diversa natura.

Nel periodo compreso settembre 2013-dicembre 2015 sono stati inclusi nella piattaforma San Raffaele pazienti afferenti al reparto di Pneumologia Riabilitativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana, con una cadenza – basata sulle risorse disponibili - di 2-4 pazienti per settimana. A tutti i pazienti inseriti sono stati somministrati questionari epidemiologici, scale cliniche, oltre ad una dettagliata anamnesi prossima e remota. Tutti i soggetti inclusi hanno donato campioni di sangue (aliquotato in plasma, sangue intero, plasma e linfociti isolati) e di urina.

Sono stati finora inseriti in piattaforma 102 pazienti con dati relativi sia al momento dell'ammissione che alla dimissione, dopo tre settimane di trattamento riabilitativo. Le analisi statistiche ad interim sono state condotte su 91 pazienti.

Il primo passaggio condotto sui pazienti inseriti nell'analisi, dopo le valutazioni descrittive riportate in precedenti report, è stato l'identificazione di criteri univoci che permettessero di identificare i pazienti rispondenti al trattamento.

Per garantire una valutazione della risposta basata su un parametro più globale rispetto alla

FEV1, è stato utilizzato il 6 minutes walking test (6MWT). Sono stati raccolti dati su 106 pazienti, anche se l'intero set di dati clinici ed epidemiologici previsti è disponibile solo per 94. Per ogni paziente sono stati raccolti come da protocollo un totale di oltre 1000 items.

Sono stati considerati responders al trattamento riabilitativo condotto nel corso di tre settimane presso la struttura dell'IRCCS San Raffaele Pisana coloro che dopo il trattamento aumentavano la loro performance nel 6MWT di almeno 30 metri.

La suddivisione fra pazienti responders (>30 metri dopo riabilitazione) e non responders (soggetti con minor beneficio, che includeva anche pazienti con ausili e inizialmente allettati) ha identificato due gruppi rispettivamente di 57 e 37 pazienti. L'età media dell'intero gruppo era di 74.2 anni, lievemente più elevata nei maschi (75.2 anni vs. 73.3 nelle femmine -Non statisticamente significativo).

Per consentire una visione complessiva del profilo dei soggetti responders, nella tabella che segue viene sintetizzata la differenza in alcuni dei principali marcatori di risultato o di parametri caratterizzanti i pazienti in riabilitazione.

Per ogni caratteristica sono riportati i valori medi con la deviazione standard ed il confronto fra i due gruppi è stato condotto con il test non parametrico U di Mann-Whitney.

Variabili	Responders (X±SD) (≥ 30 mt. al 6MWT)	Non responders (X±SD) (< 30 mt. al 6MWT)	P Value (Test U di M-W)
Age (years)	71.0±8.4	74±7.8	= 0.002
Respiratory Outcome			
Barthel Index Maximum: 100	75.8±17.3	46.9±20.0	< 0.0001
Emogas Values			
pH Entry	7.418±0.03	7.423±0.028	ns
pH Exit (7,38-7,42)	7.42±0.027	7.43±0.03	ns
SPO ₂ (Entry) 80-100 mmHg	79.65±17.12	82.61±21.81	ns
SPO ₂ (Uscita) 80-100 mmHg	80.27±8.79	77.65±12.25	ns
SPCO ₂ (Entry) 35-45 mmHg	44.03±8.42	45.42±6.9	ns
SPCO ₂ (Uscita) 35-45 mmHg	40.97±5.91	43.82±7.53	ns
St-George respiratory	42.04±14.78	55.79±10.48	< 0.0001
CIRS severity	1.56±0.21	1.76±0.19	< 0.0001

CIRS comorbidity (= 3)	2.67+1.33	2.72+1.51	ns
CIRS comorbidity (>3)	0.417+0.74	1.08+1.29	= 0.023
CIRS comorbidity (≥3)	3.083+1.22	3.8+1.38	= 0.046
Borg (Entry) (0-10)	7.62+1.02	8.75+0.62	< 0.0001
Borg (Uscita) (0-10)	3.75+0.99	8.63+1.21	< 0.0001
MRC (Entry) (0-4)	3.98+0.13	4.0+0.1	ns
MRC (Uscita) (0-4)	3.07+0.46	3.94+0.24	< 0.0001
Hb (Entry)12.88+1.92	12.36+2.27	ns	
Hb (Uscita)12.44+1.62	12.71+1.96	ns	
RBC (Entry)(x10 ⁶)	4.52+0.68	4.22+0.92	ns
RBC (Uscita) (x10 ⁶)	4.37+0.59	4.28+0.75	ns
WBC (Entry)(x10 ³)	11.52+9.33	9.79+4.17	ns
WBC (Uscita)(x10 ³)	9.15+2.88	11.98+5.03	p = 0.05
Linfociti (Entry)(x10 ⁶)	1 6.53+7.55	15.91+9.54	ns
Linfociti(Uscita)(x10 ⁶)	22.94+9.81	20.95+10.69	ns
SF36(QoL mental health) 0% - 100%	62.7+10.3	62.7+10.1	ns
SF36 (QoL general health) 0% - 100%	73.06+11.58	71.6+13.05	ns
MMSE (25-30 No cognitive deterioration)	27.98+9.85	25.75+2.45	ns
MoCA Maximum 30-26 normal condition	24.88+4.85	23.35+4.24	0.09
Zung Self-Rating Anxiety Scale (SAS) 20-44 NormalRange	26.4+6.9	27.7+6.6	= 0.08
CES-D	10.94+7.79	12.6+8.42	ns
N. drug during hospitalization	9.69+2.76	9.82+2.44	ns
N. farmaci prescritti alla dimissione	9.02+2.99	9.56+3.18	ns
N. patients under corticosteroids treatment (62 over 91 total)	41	21	ns
N. patients under home corticosteroids treatment (55 over 91 total)	43	12	= 0.034
N. patients with Stress percepito (66 over 91 total)	17 25.8%	13 19,7%	0.02
N. patients per Attività fisica (69 over 91 total)	15 21.7%	5 7.2%	<0.001
N. patients Consumo Frutta (54 over 91 total)	36 52.9%	18 26,5%	ns
N. patients Consumo Verdura (36 su 91 pz)	27 40.9%	9 13,6%	0.07

Legenda Valori

Attività fisica Risposta si
Barthel Index L'Indice di Barthel fornisce un punteggio indicativo delle capacità del soggetto di alimentarsi, vestirsi, gestire l'igiene personale, lavarsi, usare i servizi igienici, spostarsi dalla sedia al letto e viceversa, deambulare in piano, salire e scendere le scale, controllare la defecazione e la minzione. Punteggio Massimo 100
Borg Valutazione della Dispnea: valori da 0 a 10 (nessuno sforzo 0 -massimo sforzo 10)
Brief Cope test di 28 item per la valutazione delle strategie di coping (Non esiste un punteggio finale ma 14 diversi punteggi per ogni singola strategia di coping di un soggetto) 65 pz valutati
CES-D - Center for Epidemiologic Studies - Depression scale - CES-D , una scala di autovalutazione di 20 item valutati su di una scala a 4 punti (da 0 = raramente o mai, a 3 = per la maggior parte del tempo) 23: allarme clinico di sintomatologia depressiva, da utilizzare con cautela come da attuali linee guida perché non discrimina un reale stato depressivo.
CIRS comorbidity: L'Indice di comorbidity rappresenta il numero delle categorie nelle quali si ottiene un punteggio superiore o uguale a 3 (escludendo la categoria patologie psichiatriche/comportamentali). LIVELLO 3: Problemi cronici non controllati con una terapia di prima linea (asma che necessita di corticoterapia continua, angina sintomatica nonostante le cure mediche, insufficienza cardiaca con sintomi o ipertensione incontrollata nonostante un regime terapeutico complesso) e/o disabilità significativa costante, esclusa la disabilità grave. LIVELLO 4: Ogni affezione acuta che necessita di trattamento o ricovero immediato (angina instabile, infarto acuto del miocardio, ictus, ma anche un'ostruzione vescicale) e/o patologie molto gravi; insufficienza di un organo (malattia renale allo stadio terminale che necessita di dialisi, malattia polmonare cronica ostruttiva trattata mediante ossigenoterapia, insufficienza cardiaca terminale); deficit sensoriale grave (cecità o sordità quasi totale, paziente costretto su una sedia a rotelle) e/o qualità della vita gravemente compromessa, disabilità funzionale grave; delirio dovuto a condizioni mediche (organiche).
CIRS severity: L'indice di severità, risulta dalla media dei punteggi delle prime 13 categorie (escludendo la categoria patologie psichiatriche/comportamentali).
Consumo Frutta Consumata: una volta o più volte al giorno (si)
Consumo Verdura Consumata: una volta o più volte al giorno (si)
Emogas - Misurazione delle pressioni parziali dei gas arteriosi e del pH del sangue Valori di riferimento pH 7,38-7,42 (diminuzione Acidosi-Aumento-alcalosi) Pressione parziale di ossigeno - PO2 80-100 mmHg ipossiemia-iperossiemia Pressione parziale di anidride carbonica PCO2 35-45 mmHg ipocapnia ipercapnia
Eventi stressanti riportati dal paziente Riportati solo i si
Fumo Abbiamo considerato come fumatori gli attuali e gli ex (meno di 2 anni)

MMSE Scores of 25-30 out of 30 are considered normal; the National Institute for Health and Care Excellence (NICE) classifies 21-24 as mild, 10-20 as moderate and <10 as severe impairment.
MoCA Montreal Cognitive Assessment Massimo 30, 26 condizione normale
MRC valutazione della qualità del sintomo durante l'esecuzione delle comuni attività quotidiane (camminare, salire le scale, vestirsi ecc...) da 0 (assenza di sforzo) a 4 (massimo sforzo).
n. farmaci durante il ricovero
n. farmaci <i>prescritti alla dimissione</i>
n. soggetti con prescrizione terapia cortisonica alla dimissione
n. soggetti in terapia cortisonica durante il ricovero
SF36 (QoL) – Valori di salute mentale e generale
St-George Respiratory: Misurazione dell'impatto della malattia sulla vita (overall health, daily life, and perceived well-being in patients with obstructive airways disease)
Zung Self-Rating Anxiety Scale (SAS) 20-44 Normal Range 45-59 Mild to Moderate Anxiety Levels 60-74 Marked to Severe Anxiety Levels 75-80 Extreme Anxiety Levels

Nel corso del 2016 si prevede la costituzione di un database unico di informazioni cliniche volto al monitoraggio delle attività del reparto. La grande disponibilità di dati consente di indagare e migliorare le prestazioni cliniche incentrando l'attenzione sui benefici della riabilitazione in termini di maggiore autonomia e maggiori capacità funzionali dei pazienti.

Nel corso del 2016 sono previste ulteriori analisi statistiche sul totale dei pazienti e saranno avviate le collaborazioni scientifiche programmate da tempo (Università di Gerusalemme, Israele; Marco Malavolta, INRCA Ancona, Italia), in particolare finalizzate a valutare indicatori di Omics nei campioni biologici disponibili.

Linea 5 Ricerca e validazione di indicatori in grado di migliorare la prescrizione farmacologica e la qualità della presa in carico delle persone in età geriatrica

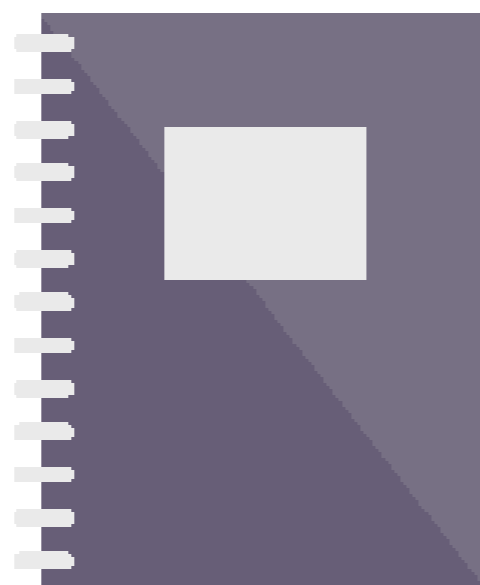
La letteratura del settore è concorde nel definire estremamente inappropriata la qualità della prescrizione farmacologica nella popolazione anziana. Dati recenti prodotti da AsMed e riportati nel report annuale di AIFA sul consumo di farmaci ne confermano l'impatto nel nostro paese. Obiettivo primario di questo progetto è quello di identificare e quantificare la presenza di prescrizioni inappropriate di farmaci ad anziani in Italia. Ottenuti questi dati l'obiettivo è quello di associare la presenza di prescrizione inappropriata ad eventi avversi quali mortalità, riacutizzazioni, ospedalizzazione, etc. A corollario del primo obiettivo si è pianificata anche la realizzazione di indicatori specifici di inappropriatezza (estrinseci) per la popolazione geriatrica. Lo studio condotto in collaborazione con AIFA, OsMed e Clicon è basato sull'interazione e rianalisi

di dati prodotti da Clicon su 14 ASL nazionali.

Sono stati prodotti 13 indicatori di inappropriatezza prescrittiva specifici per la popolazione ultra 65enne e per il nostro paese (Onder et al., 2014).

Descrizione degli indicatori di inappropriatezza	
Polypharmacy	
	1. Polypharmacy
Treatment adherence	
	2. Low adherence to antidepressant drugs
	3. Low adherence to antihypertensive drugs
	4. Low adherence to hypoglycemic drugs
	5. Low adherence to antiosteoporotic drugs
Prescribing cascade	
	6. Use of anti-Parkinson and antipsychotic drugs
Undertreatment	
	7. Underutilization of statins in diabetic patients
Drug-drug interaction	
	8. Concomitant use of drugs increasing the risk of bleeding
	9. Concomitant use of drugs increasing the risk of renal failure and/or hyperkalemia
	10. Concomitant use of ≥ 2 QT prolonging drugs
Drugs to be avoided	
	11. Use of anti hypertensive drugs with unfavorable risk-benefit profile
	12. Use of high dosage of digoxin
	13. Use of oral hypoglycemic agents associated with high risk of hypoglycemia

È stata avviata una seconda fase di analisi in cui il gruppo partecipa alla valutazione della polifarmacoterapia in pazienti anziani ed alla appropriatezza delle prescrizioni e del consumo in pazienti a rischio demenza, oltre a coordinare un gruppo di lavoro sulla prescrizione farmacologica in pazienti affetti da BPCO.



Borg JJ, Anker SD, Rosano G, Serracino-Inglott A, Strasser F. Multimodal management as requirement for the clinical use of anticachexia drugs – a regulatory and a clinical perspective. *Curr Opin Support Palliat Care*. 2015 Dec;9(4):333-345.

Multimodal management has been proposed as key to any effective drug intervention in cachexia. This article attempts to reflect on clinical and regulatory considerations of multimodal management treatment as a regulatory requirement in anticachexia drug therapy. To date, no European Union (EU) regulatory guidelines have been published and therefore this review could attempt to present and discuss some central issues to consider when developing an anticachexia drug.

The following themes are considered: EU regulatory pathways for drug approval (conditional and exceptional circumstances as well as adaptive licensing); selection criteria for randomized clinical trials allowing the identification and characterization of the population of interest that is an at-risk population with undisputable clinical need; issues related to primary and secondary outcome measures that are adequate to determine the efficacy of the intervention and the approach for the development of clinical biomarkers for cachexia.

Conversely, the incorporation of multimodal treatment in anticachexia drug therapy is expected to increase the effectiveness of intervention. This aspect is the aspect that appeals to pharmaceutical companies; however, at the same time, this raises regulatory and clinical issues that need to be kept in mind when designing randomised clinical trials.

Efficace F, Fayers P, Pusic A, Cemal Y, Yanagawa J, Jacobs M, la Sala A, Cafaro V, Whale K, Rees J, Blazeby J; European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality-of-Life Group (Patient-Reported Outcome Measurements Over Time in Oncology Registry).

Quality of patient-reported outcome reporting across cancer randomized controlled trials according to the CONSORT patient-reported outcome extension: A pooled analysis of 557 trials. *Cancer*. 2015 Sep 15;121(18):3335-3342.

The main objectives of this study were to identify the number of randomized controlled trials (RCTs) including a patient-reported outcome (PRO) endpoint across a wide range of cancer specialties and to evaluate the completeness of PRO reporting according to the Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) PRO extension.

RCTs with a PRO endpoint that had been performed across several cancer specialties and published between 2004 and 2013 were considered. Studies were evaluated on the basis of previously defined criteria, including the CONSORT PRO extension and the Cochrane Collaboration's tool for assessing the risk of bias of RCTs. Analyses were also conducted by the type of PRO endpoint (primary vs secondary) and by the cancer disease site.

A total of 56,696 potentially eligible records were scrutinized, and 557 RCTs with a PRO evaluation, enrolling 254,677 patients overall, were identified. PROs were most frequently used in RCTs of breast (n = 123), lung (n = 85), and colorectal cancer (n = 66). Overall, PROs were secondary endpoints in 421 RCTs (76%). Four of 6 evaluated CONSORT PRO items were documented in less than 50% of the RCTs. The level of reporting was higher in RCTs with a PRO as a primary endpoint. The presence of a supplementary report was the only statistically significant factor associated with greater completeness of reporting for both RCTs with PROs as primary endpoints ($\beta = .19$, $P = .001$) and RCTs with PROs as secondary endpoints ($\beta = .30$, $P < .001$).

Implementation of the CONSORT PRO extension is equally important across all cancer specialties. Its use can also contribute to revealing the robust PRO design of some studies, which might be obscured by poor outcome reporting.

Fadini GP, Avogaro A, Degli Esposti L, Russo P, Saragoni S, Buda S, Rosano G, Pecorelli S, Pani L; OsMed Health-DB Network.

Risk of hospitalization for heart failure in patients with type 2 diabetes newly treated with DPP-4 inhibitors or other oral glucose-lowering medications: a retrospective registry study on 127,555 patients from the Nationwide OsMed Health-DB Database. *Eur Heart J.* 2015 Sep 21;36(36):2454-2462.

Oral glucose-lowering medications are associated with excess risk of heart failure (HF). Given the absence of comparative data among drug classes, we performed a retrospective study in 32 Health Services of 16 Italian regions accounting for a population of 18 million individuals, to assess the association between HF risk and use of sulphonylureas, DPP-4i, and glitazones. We extracted data on patients with type 2 diabetes who initiated treatment with DPP-4i, thiazolidinediones, or sulphonylureas alone or in combination with metformin during an accrual time of 2 years. The endpoint was hospitalization for HF (HHF) occurring after the first 6 months of therapy, and the observation was extended for up to 4 years. A total of 127 555 patients were included, of whom 14.3% were on DPP-4i, 72.5% on sulphonylurea, 13.2% on thiazolidinediones, with average 70.7% being on metformin as combination therapy. Patients in the three groups differed significantly for baseline characteristics: age, sex, Charlson index, concurrent medications, and previous cardiovascular events. During an average 2.6-year follow-up, after adjusting for measured confounders, use of DPP-4i was associated with a reduced risk of HHF compared with sulphonylureas [hazard ratio (HR) 0.78; 95% confidence interval (CI) 0.62-0.97; $P = 0.026$]. After propensity matching, the analysis was restricted to 39 465 patients, and the use of DPP-4i was still associated with a lower risk of HHF (HR 0.70; 95% CI 0.52-0.94; $P = 0.018$). In a very large observational study, the use of DPP-4i was associated with a reduced risk of HHF when compared with sulphonylureas.

Neri M, Frustaci A, Milic M, Valdiglesias V, Fini M, Bonassi S, Barbanti P. A meta-analysis of biomarkers related to oxidative stress and nitric oxide pathway in migraine. *Cephalalgia.* 2015 Jan 8. [Epub ahead of print]

Oxidative and nitrosative stress are considered key events in the still unclear pathophysiology of migraine. Studies comparing the level of biomarkers related to nitric oxide (NO) pathway/oxidative stress in the blood/urine of migraineurs vs. unaffected controls were extracted from the PubMed database. Summary estimates of mean ratios (MR) were carried out whenever a minimum of three papers were available. Nineteen studies were included in the meta-analyses, accounting for more than 1000 patients and controls, and compared with existing literature. Most studies measuring superoxide dismutase (SOD) showed lower activity in cases, although the meta-analysis in erythrocytes gave null results. On the contrary, plasma levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), an aspecific biomarker of oxidative damage, showed a meta-MR of 2.20 (95% CI: 1.65-2.93). As for NOs, no significant results were found in plasma, serum and urine. However, higher levels were shown during attacks, in patients with aura, and an effect of diet was found. The analysis of glutathione precursor homocysteine and asymmetric dimethylarginine (ADMA), an NO synthase inhibitor, gave inconclusive results. The role of the oxidative pathway in migraine is still uncertain. Interesting evidence emerged for TBARS and SOD, and concerning the possible role of diet in the control of NOx levels.

Onder G, Marengoni A, Russo P, Degli Esposti L, Fini M, Monaco A, Bonassi S, Palmer K, Marocco W, Pozzi G, Sangiorgi D, Buda S, Marchionni N, Mammarella F, Bernabei R, Pani L, Pecorelli S; Geriatrics Working Group of the Italian Medicines Agency (Agenzia Italiana del Farmaco, AIFA); Medicines Utilization Monitoring Center Health Database Network. Advanced Age and Medication Prescription: More Years, Less Medications? A Nationwide Report From the Italian Medicines Agency.

J Am Med Dir Assoc. 2015 Sep 30. 2015. 08.009. [Epub ahead of print]

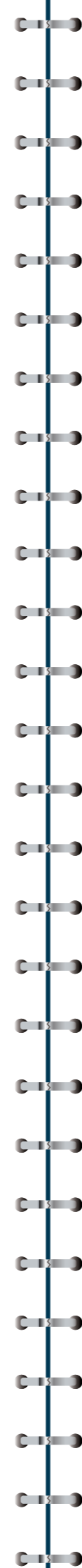
In older adults co-occurrence of multiple diseases often leads to use of multiple medications (polypharmacy). The aim of the present study is to describe how prescription of medications varies across age groups, with specific focus on the oldest old. We performed a cross-sectional study using 2013 data from the OsMed Health-DB database (mean number of medicines and defined daily doses prescribed in 15,931,642 individuals). There were 3,378,725 individuals age 65 years or older (21.2% of the study sample). The mean number of prescribed medications progressively rose from 1.9 in the age group <65 years to 7.4 in the age group 80-84 years and then declined, with a more marked reduction in the age group 95 years or older with a mean number of 2.8 medications. A similar pattern was observed for the mean number of defined daily doses. Among participants age ≥ 65 years, proton pump inhibitors were the most commonly prescribed medication (40.9% of individuals ≥ 65 years), followed by platelet aggregation inhibitors (32.8%) and hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (26.1%). A decline in prescription was observed among individuals age 90 years or older, but this reduction was less consistent for medications used to treat acute conditions (ie, antibiotics and glucocorticoids) rather than preventive medicines commonly used to treat chronic diseases (ie, antihypertensive medications and hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors). The burden of medication treatment progressively increases till age 85 and substantially declines after age of 90 years. Patterns of medication prescription widely vary across age groups.

Pani L, Pecorelli S, Rosano G, Anker SD, Peracino A, Fregonese L, Prasad K, Rasi G. Steps forward in regulatory pathways for acute and chronic heart failure. *Review Eur J Heart Fail.* 2015 Jan;17(1):3-8.

A workshop was organized by the Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) to discuss unmet needs and ways forward in the development of medicines in heart failure, their rationale, and cost-effective use. An integrated, multidisciplinary approach, including patients' needs and perspectives, was advocated by all the participants as the way to the most effective treatment regimens. More work is needed for reaching consensus on clinical and functional endpoints, for validating patient reported outcomes and measurements of well-being. Similarly, the integration into the clinical programmes of the health technology assessment/payers perspective, in particular, the evaluation of 'real-life' treatment effectiveness and of health as a value, would help in shifting the development and authorization of medicines from the molecule paradigm to their evaluation in the context of the whole health care regimen. Through this kind of workshop, AIFA is trying to build a template for meetings devoted to debate unmet needs with all stakeholders towards tentative road maps for the future.

Paoloni M, Bernetti A, Bellelli A, Brignoli O, Buoso S, Caputi AP, Catani F, Coclite D, Fini M, Mantovani L. Appropriateness of clinical and organizational criteria for intra-articular injection therapies in osteoarthritis. A delphi method consensus initiative among experts in Italy. *Ann Ist Super Sanità.* 2015;51(2):5-12. The aim of the study was to identify the main aspects involved in patient selection, the choice of therapeutic agents and the safety profile, as well as the medico-legal and organizational aspects of intra-articular injection therapies for osteoarthritis. A committee of 10 experts from Italian universities, public hospitals, territorial services, research institutes and patient associations was set up. Fifty-two clinicians from a large number of Italian medical centers specialized in intra-articular injection therapy took part in a Delphi process aimed at obtaining consensus statements among the participants. Large consensus was obtained for statements grouped under the following main themes:

treatment indications; drug/medical device choice; treatment efficacy; and appropriate setting. The consensus statements developed by a large number of experts may be used as a practical reference tool to help physicians treat osteoarthritis patients by means of intra-articular injection therapies.



RICERCA FINALIZZATA E GIOVANI RICERCATORI



MINISTERO DELLA SALUTE – RICERCA FINALIZZATA

Anno 2009. Right ventricular adaptation in pulmonary arterial hypertension: the interplay between shape and myocardial injury

L'ipertensione arteriosa polmonare (IAP) è la forma più severa di ipertensione polmonare (IP): i pazienti solitamente hanno una pressione media in arteria polmonare (PAPm) 4/5 volte superiore rispetto ai soggetti normali, e questo drammatico sovraccarico causa scompenso ventricolare destro, che porta il paziente al decesso. Il meccanismo fisiopatologico più rilevante sembra essere riconducibile ad un afterload mismatch, ma il ruolo del rimodellamento ventricolare destro e del danno miocardico sono stati scarsamente studiati e non completamente compresi.

In questo lavoro si è voluto studiare:

- L'adattamento del ventricolo destro (VD) all'incremento dell'afterload valutando il rapporto massa/volume del VD(M/VVD) alla risonanza magnetica (RM) e il suo impatto sulla sopravvivenza o il peggioramento clinico durante terapia specifica. I dati preliminari suggeriscono che questo parametro più di altri (volume, massa, spessore di parete) possa esprimere l'adattamento (M/V alto) o il maladattamento (M/V basso) del VD.
- Il significato e l'impatto delle aree di delayed enhancement (DE) sull'outcome di tali pazienti.
- Il ruolo di alcuni peptidi vasoattivi e di alcune citochine nel rimodellamento ventricolare destro.
- L'impatto prognostico del rimodellamento ventricolare destro.

In un sottogruppo di pazienti con IAP associata a infezione da HIV o HCV è stata eseguita una biopsia endomiocardica per valutare:

- Le caratteristiche istopatologiche dell'ipertrofia del VD (presenza di apoptosi, miocardite focale, fibrosi interstiziale).
- L'espressione genica nei miociti, e la presenza di genoma o proteine virali.

L'ipertensione arteriosa polmonare è una malattia rara che richiede una diagnosi di esclusione di altre forme di IP. In accordo con le linee guida, la diagnosi di IP precapillare è stata basata sui dati del cateterismo destro in presenza di una pressione arteriosa polmonare media superiore a 25 mmHg e di una pressione di incuneamento polmonare < 15 mmHg.

La diagnosi di IAP è stata ottenuta utilizzando un algoritmo (comprendente radiografia del torace, prove di funzionalità respiratoria, scintigrafia perfusionale/angio TC polmonare, ecocardiogramma e valutazione emodinamica) che ha permesso di escludere le altre forme di IP.

Al momento della prima valutazione (basale), tutti i pazienti sono stati sottoposti a:

- valutazione clinica;
- valutazione emodinamica;
- studiorisonanza magnetica cardiaca (RM)
- prelievo di campioni ematici per il dosaggio della troponina e delle citochine;
- prelievo di campioni di tessuto miocardico (solo in un sottogruppo di 12 pazienti con IAP correlata ad infezione da HIV o in pazienti con infezione HIV/HCV).

Dopo la valutazione basale, in accordo con le linee guida vigenti all'inizio dello studio, i pazienti sono stati trattati con farmaci specifici secondo l'approccio corrente di iniziare una monoterapia (antagonisti recettoriali di endotelina o inibitori della fosfodiesterasi 5) e di aggiungere il secondo farmaco in caso di mancato raggiungimento di un miglioramento clinico. Dopo 6-8 mesi dalla valutazione basale, i pazienti sono stati rivalutati e sottoposti alle stesse indagini iniziali.

Per la valutazione prognostica, i pazienti sono stati seguiti per documentare eventi clinici maggiori (exitus o necessità di trattamento con prostanoidi parenterali).

Valutazione clinica:

La valutazione clinica ha compreso il rilevamento dei segni di congestione sistemica o polmonare, la determinazione della pressione arteriosa sistemica, della capacità di esercizio (test del cammino di 6 minuti) e della classe funzionale NYHA.

Valutazione emodinamica:

Il cateterismo cardiaco destro è stato eseguito con la tecnica di Seldinger con approccio venoso femorale. La pressione atriale destra (PAD), la pressione media in arteria polmonare (PAP) e la pressione media di incuneamento polmonare sono state misurate come media di 4 cicli respiratori. La portata cardiaca è stata misurata con termodiluizione su una media di 3 determinazioni. L'indice cardiaco (IC), la gittata sistolica (GS) le resistenze vascolari polmonari totali (RVPT), le resistenze precapillari (RVP) e le resistenze vascolari sistemiche (RVS) sono state calcolate utilizzando formule standard.

Studio modificazioni morfo-funzionali del VD con RM cardiaca:

L'esame di RM è stato eseguito con apparecchio per uso clinico a 1.5-T, con una bobina di superficie a più canali. L'esame ha previsto l'ispezione visiva di immagini scout al fine di localizzare il cuore ed ottenere immagini in apnea nelle proiezioni 2 camere, 4 camere e asse corto. Lo studio funzionale è stato effettuato con sequenze cine breath-holdTf 2D SSFP, durante apnee ripetute di circa 12 secondi. Le immagini (in numero di 10-12) sono state acquisite durante brevi apnee nella proiezione in asse corto e nella 4 camere dalla base all'apice ventricolare.

Per lo studio con contrasto le immagini sono state acquisite dopo 15 minuti dalla somministrazione di 0,1 mmol/kg di Gd-BOPTA.

Le immagini RM sono state processate su una workstation dedicata, in modo da determinare la massa ventricolare (MV), la frazione di eiezione (FE, %), il volume tele-diastolico (VTD, ml), il volume tele-sistolico (VTS, ml).

Per ogni immagine tele-sistolica e tele-diastolica del ventricolo destro e sinistro, ottenuta dalla base all'apice, sono stati tracciati manualmente i contorni epicardici ed endocardici con esclusione dei muscoli papillari e delle trabecolature.

I volumi telediastolico e telesistolico del ventricolo destro e sinistro sono stati calcolati con il metodo Simpson, calcolando per ogni sezione dello spessore di 8 mm il volume e sommando successivamente tutte le sezioni.

La massa miocardica del ventricolo destro e sinistro è stata calcolata misurando per ogni sezione di 8 mm il volume compreso tra il margine epicardico ed endocardico e sommando tutte le sezioni. La massa è stata calcolata moltiplicando il volume finale moltiplicando il volume miocardico per la densità miocardica (1.05 g/mL).

L'analisi dell'immagine "contrast enhanced" alla RM cardiaca è stata condotta con una valutazione qualitativa e quantitativa. Le aree di "contrastenhancement" sono state individuate dapprima visivamente. Il delayedenhancement (DE) è stato definito come un'area di contrastenhancement identificato visivamente con una intensità media di segnale (IS) maggiore di più di due deviazioni standard della IS di un'area miocardica adiacente di riferimento, che, sebbene priva di potenziamento, avrà una IS significativamente al di sopra dello 0. È stata valutata la sede delle aree di DE, e per avere una valutazione dell'area di DE nel singolo paziente è stato calcolato il numero delle aree con DE.

Determinazione dei livelli di troponinaT(cTnT), Activina-A, pro-BNP e GDF-8, GDF-18:

La cTnT è stata dosata con un saggio immunoenzimatico classico che ha una sensibilità inferiore rispetto a quello precedentemente proposto nel protocollo, ma che consente di rilevare valori elevati e di stabilire le eventuali differenze esistenti tra stati di normalità e stati di franco danno del miocardio. Anche Activina-A, pro-BNP, GDF-8, e GDF-15 sono stati dosati mediante saggi immunoenzimatici.

Valutazione quantitativa delle citochine infiammatorie:

La valutazione dell'espressione delle citochine pro-infiammatorie TNFalfa, IL-17alfa e IL-6, di

GDF-8, GDF-15, dell'Endotelina-1, della Tenascina-A e di VEGF è stata effettuata tramite la tecnologia LUMINEX che consente di analizzare numerosi analiti contemporaneamente in uno stesso campione, usando volumi ridotti di siero (circa 150 µl).

Quindici pazienti con IAP associata ad HIV o epatite C (HCV) sono stati sottoposti a biopsia endomiocardica del VD. I campioni biotipici sono stati processati per l'esame istologico e l'immunoistochimica, al fine di caratterizzare gli infiltrati infiammatori, e per la reazione polimerasica a catena (PCR) per un vasto gruppo di viruscardiotropi ed endoteliotropi. I controlli sono costituiti da campioni miocardici di VD prelevati da soggetti deceduti per cause non cardiache. I campioni per le biopsie endomiocardiche sono stati prelevati dalla regione setto-apicale. Alcuni campioni sono stati utilizzati per l'analisi istologica e immunoistochimica. Alcuni campioni sono stati immediatamente congelati e conservati a -80°C per la successiva analisi con PCR (vedi capitolo successivo). Alcuni campioni sono stati analizzati al microscopio a trasmissione elettronica.

La diagnosi istologica è stata effettuata in accordo a criteri istologici stabiliti. In particolare, la diagnosi di miocardite è stata effettuata in accordo ai criteri di Dallas ed è stata confermata mediante studi immunoistochimici (anticorpi mono- e policlonali anti-CD45, CD43, CD45RO, CD20, CD8, CD4, CD31, CD68). L'esame istologico e immunoistochimico dei campioni biotipici è stato effettuato da due diversi sperimentatori indipendentemente, ciascuno in cieco rispetto alle caratteristiche cliniche e la diagnosi istopatologica. La diagnosi di miocardite e la quantificazione degli infiltrati infiammatori è stata effettuata in consenso comune tra i due operatori. In aggiunta, sono state studiate mediante apposite procedure la presenza di fenomeni di apoptosi, necrosi e autofagia, con una valutazione morfometrica della composizione volumetrica del miocardio (estensione della fibrosi, percentuale di area occupata da cardiomiociti). La microscopia elettronica a trasmissione è stata utilizzata in un sotto gruppo di pazienti per identificare specifici processi patologici e meccanismi di morte e degenerazione cellulare (come aree di miofibrillolisi o autofagia).

Tutti i pazienti al momento della biopsia endomiocardica sono stati sottoposti a test sierologici per i più comuni virus cardiotropi (echovirus, coxsackievirus B, cytomegalovirus, adenovirus, virus influenzali e parainfluenzali, parvovirus B19 e HCV) e a studi immunologici comprendenti autoanticorpi non organo-specifici (ANA), c-ANCA e p-ANCA, DNA.

Due campioni miocardici congelati per ciascun paziente sono stati utilizzati per la PCR e per l'analisi con PCR mediante trascrittasi inversa per individuare la presenza di virus cardiotropi. I campioni di sangue dei pazienti il cui miocardio è risultato infetto da un agente virale sono stati analizzati tramite PCR per la ricerca dello stesso virus. In presenza di genoma virale miocardico, il paziente è stato definito come affetto da cardiomiopatia virale.

L'espressione di proteine virali e/o l'espressione differenziale di proteine cellulari, normali e patologiche, è stata valutata mediante la tecnica Western Blot.

I pazienti sono stati sottoposti a follow-up fino alla chiusura del database (31/12/2015) tramite contatti telefonici (ogni mese) e valutazioni cliniche (ogni 3-6 mesi). Al fine di avere una analisi su eventi clinici rilevanti sono stati considerati come end-points a) la necessità di iniziare una terapia con prostanoidi parenterali o b) l'exitus.

Lo studio è stato completato solo su 52 dei 60 pazienti con ipertensione polmonare severa che avevano i criteri per l'arruolamento e dai quali è stato ottenuto il consenso informato. Al momento dell'arruolamento sono stati raccolti i dati clinici, l'esame emodinamico, un campione di sangue e la risonanza magnetica nucleare (RM) basale in tutti i pazienti.

Come gruppo di controllo per i parametri morfologici/funzionali del ventricolo destro sono stati studiati 10 soggetti normali di età e sesso comparabili.

Per l'analisi dei dati inerenti i peptidi/citochine circolanti, è stato utilizzato un gruppo di controllo di soggetti sani appaiati per sesso ed età con la popolazione oggetto dello studio (n=12).

Nella tabella 1 sono riassunti i dati demografici, clinici, emodinamici e di RM cardiaca. Le caratteristiche della popolazione sono simili a quelle osservate nella maggioranza degli studi clinici randomizzati. In particolare, i pazienti presentavano età media di 53,5 anni e il sesso femminile era prevalente. Da un punto di vista clinico la popolazione presentava una compromissione cli-

nica (classe NYHA) e funzionale (test del cammino) di grado moderato-severo. Questi dati clinici concordano con il quadro emodinamico che ha messo in evidenza una forma moderata-severa di ipertensione polmonare precapillare, con un indice cardiaco moderatamente depresso ed una moderata elevazione della pressione atriale destra.

Per quanto riguarda gli aspetti demografici, clinici ed emodinamici, la popolazione studiata rappresenta una popolazione di pazienti con IAP caratteristica della popolazione generale, anche se sono rappresentati in percentuale maggiore pazienti in II classe funzionale che nei registri risultano essere circa il 30%. Questa differenza è probabilmente da ricondurre al fatto che i pazienti più gravi (III classe NYHA avanzata, IV classe) non sono stati in grado di eseguire lo studio di RM cardiaca per la difficoltà di rimanere stesi nel tubo magnetico per la durata dell'esame (circa 60 minuti).

Tabella 1: caratteristiche demografiche, cliniche ed emodinamiche della popolazione studiata

	Valid N	Mean	Std.Dev.
Età	85	53,53	13,46
Altezza, cm	85	166,05	9,03
Peso, kg	85	71,33	16,95
BSA	85	1,78	0,22
Gender M/F		37/48	
NYHA I/II		47/85	
NYHA II/IV		38/85	
NYHA	85	2,46	0,52
6MWT, m	85	439,68	99,60
Borg	85	6,21	1,86
FC, b/min	85	76,58	13,35
PAD, mmHg	85	7,46	3,90
PAP, mmHg	85	47,05	14,06
PCWP, mmHg	85	9,31	3,16
PC, l/min	85	4,38	1,33
GS, ml	85	59,76	23,36
IC, l/min/m ²	85	2,46	0,83
RVPT, WU	85	11,99	6,19
RVPpre, WU	85	9,70	5,59

RM cardiaca (Tabella 2)

Per quanto riguarda il quadro morfo-funzionale cardiaco i pazienti presentavano:

- dilatazione del ventricolo destro con aumento dei volumi sistolici (VTSVD) e diastolici (VTDVD)
- disfunzione sistolica del ventricolo destro (riduzione della frazione d'eiezione del ventricolo destro)
- moderato aumento della massa ventricolare destra
- presenza di delayed enhancement (DE), verosimile espressione di fibrosi, in 67/81 (82%) dei casi con una distribuzione prevalente a livello della giunzione tra la parete libera del VD e il setto interventricolare
- morfologia e funzione del ventricolo sinistro sostanzialmente nei limiti della norma

Questi risultati sono analoghi a quanto riportato in letteratura e mostrano come i pazienti presentino un rimodellamento del ventricolo destro (dilatazione con lieve ipertrofia) con una severa riduzione degli indici di funzione ventricolare destra (frazione d'eiezione). La presenza di DE è risultata simile a quanto descritto in altri lavori, così come la sede prevalente a livello della giun-

zione tra parete libera del ventricolo destro e il setto interventricolare. Questa sede sembra giustificata dal maggior stress meccanico cui è sottoposta questa regione.

Non è stato possibile calcolare in modo affidabile la massa del DE, in quanto i bordi di tale area sono poco definiti nella maggioranza dei pazienti. Per valutare in maniera grossolana l'estensione del DE è stata sommata il numero delle aree che presentavano il DE.

Tabella 2

	Controlli	IAP	p
VENTRICOLO DESTRO	Media ± DS	Media ± DS	
VTDVD, ml	128±46	166,81 ± 54,71	0,001
VTSVD,ml	45±22	106,16 ± 45,74	0,001
FE VD, %	65±7	37,23 ± 10,54	0,001
Massa VD, gr	45±18	71,96 ± 29,85	0,001
M/V VD	0,35±0,15	0,46 ± 0,20	0,001
DE	-	67/81	
DE giunzione interventricolare anteriore	-	32/80	
DE giunzione interventricolare posteriore	-	62/79	
DE distribuzione mesocardica	-	50/79	
DE somma	-	1,80 ± 0,98	
VENTRICOLO SINISTRO			
VTDVS, ml	116±36	101,58± 29,91	0,05
VTSVS, ml	31±14	43,83± 17,30	ns
FE VS, %	70±7	57,48±8,97	0,05
Massa VS, gr	120±51	76,13±21,76	0,05
M/V VS	1,03±0,20	1,05±0,58	ns

Peptidi e citochine

Il campione di sangue, che è stato prelevato al momento dell'arruolamento, ha permesso di valutare la concentrazione di numerosi analiti nel siero, espressione di diversi meccanismi patogenetici e fisiopatologici coinvolti nella IAP:

- cTnT: indice di danno miocitario.
- NT-proBNP ed Endotelina-1: due peptidi ad azione vasoattiva che sono espressione di attivazione neuro-ormonale.
- TNFalfa, IL-17alfa e IL-6: citochine infiammatorie.
- Tenascina-C e VEGF: implicate nei meccanismi di proliferazione cellulare.
- GDF-15, GDF-8 e Activin A: citochine coinvolte nei meccanismi di cachessia.

I risultati ottenuti per il gruppo di controllo e per i pazienti in esame sono riportati nella tabella 3. Tutti gli analiti studiati, tranne il VEGF e la Tenascina-C sono significativamente più elevati nei pazienti rispetto al gruppo di controllo.

Più in dettaglio:

- La cTnT, indice di danno miocitario, è oltre i limiti della norma (> 0,1 pg/ml) in 16/52 pazienti (31%) ma in nessuno dei controlli sani. Questo risultato concorda con quanto già descritto in letteratura in pazienti con IAPe conferma come in questa popolazione via siano dei pazienti con danno miocardico.
- Il NT-pro-BNP, indice di sovraccarico di volume del VD e di attivazione neuro-ormonale, è oltre i limiti della norma (>300 pg/ml) in 29/52 pazienti (56%). Questo risultato è in accordo con quanto descritto in letteratura.
- L'Endotelina-1, è un peptide con effetto vasocostrittore e pro-mitotico prodotto dalle cellule endoteliali. I risultati del presente studio mostrano un chiaro aumento di questo peptide nel sangue

periferico dei pazienti in esame.

- Tutte le citochine pro-infiammatorie analizzate (TNFalfa, IL-17alfa e IL-6) sono aumentate nei pazienti rispetto ai controlli.
- I livelli plasmatici di Tenascina-C, una proteina della matrice extracellulare che viene depositata dai mio-fibroblasti e stimola la proliferazione e la migrazione delle cellule muscolari lisce nello strato della media, non ha presentato differenze statisticamente significative rispetto al gruppo di controllo.
- Il VEGF, un fattore di crescita delle cellule endoteliali, non varia tra controlli e pazienti. Questo risultato non era atteso, poichè, nella IAP, le cellule endoteliali delle arteriole polmonari vanno incontro a processi di proliferazione.
- I livelli di GDF-15, membro della superfamiglia del TGF-beta, sono risultatisignificamente più alti rispetto ai controlli .
- Infine, i livelli plasmatici di GDF-8 e Activina-A, associati all'insorgenza di una condizione di cachessia, sono risultati significativamente aumentati nei pazienti IAP rispetto ai controlli.

Tabella 3: livelli plasmatici di peptidi vasoattivi/citochine nella popolazione studiata rispetto ad un gruppo di controllo sano.

	Controlli Media ± DS	IAP Media ± DS	p
cTnT (pg/ml)	0,001 ± 0,002	50,8 ± 135,8	0,000000
NT proBNP (pg/ml)	6,8 ± 21,5	387,7 ± 582,5	0,044390
Endotelina-1 (pg/ml)	2,7 ± 7,7	12,6 ± 9,7	0,003618
TNFa (pg/ml)	0,0 ± 0,0	3,4 ± 3,6	0,003936
IL 17a (pg/ml)	5,2 ± 1,8	11,1 ± 2,9	0,000000
IL-6 (pg/ml)	0,0 ± 0,0	3,5 ± 3,7	0,004307
Tenascina C (ng/ml)	9,5 ± 1,6	9,9 ± 2,3	0,62
VEGF (pg/ml)	29,2 ± 25,7	37,8 ± 46,1	0,570692
Activina A (pg/ml)	146,9 ± 38,3	413,7 ± 332,4	0,014464
GDF-8 (pg/ml)	803,0 ± 231,2	2025 ± 2098	0,03
GDF-15 (ng/ml)	0,6 ± 0,2	1,9 ± 1,6	0,009980

Correlazioni tra peptidi/citochine e parametri emodinamici e morfofunzionali del VD.

Per studiare se esistono delle relazioni tra i livelli plasmatici degli analiti studiati e la compromissione emodinamica sono state eseguite una serie di correlazioni lineari con i più importanti parametri emodinamici e morfo-funzionali del ventricolo destro (tabella 4). Gli unici analiti che hanno mostrato una correlazione sono risultati:

- cTnT con la pressione atriale destra.
- NT-proBNP con la pressione atriale destra.
- TNF-alfa con la somma delle aree di DE.
- GDF-15 con il VTS VD e la FE VD.

Questi risultati sono interpretabili con il fatto che la pressione atriale destra riflette, da un lato, lo stato volemico e dall'altro la severità della disfunzione ventricolare destra (aumento della pressione di riempimento ventricolare destro), fattori che influenzano il danno miocitario (cTnT) e l'attivazione neuro-ormonale (NT-proBNP).

Per quanto riguarda le correlazioni tra TNF-alfa e DE e tra GDF-15 e volumi ventricolari destri, i dati a disposizione non sono sufficienti a consentire una immediata interpretazione, per cui si rendono necessarie ulteriori analisi.

Tabella 4

	VTD VD	VTS VD	FE VD	Massa VD	M/V VD	DE Somma	FC	PAD1	PAP	PC	GS	IC	RVPT	RVPpre
GDF-15 (ng/ml)	0,29	0,28	-0,31	-0,09	-0,22	0,13	0,14	0,02	-0,08	0,03	-0,01	0,10	-0,02	-0,02
cTnT (pg/ml)	0,06	0,03	-0,03	0,10	0,06	-0,20	0,24	0,46	0,03	-0,23	-0,20	-0,23	0,24	0,20
NT-proBNP (pg/ml)	0,10	0,08	-0,05	0,12	0,02	-0,10	0,20	0,40	0,00	-0,13	-0,13	-0,10	0,10	0,17
TNF-alfa (pg/ml)	-0,19	-0,12	0,00	-0,06	0,05	-0,35	0,28	0,07	0,13	-0,14	-0,20	-0,16	0,17	0,22
IL-17 (pg/ml)	0,12	0,16	-0,07	-0,10	-0,16	0,07	0,14	0,10	-0,14	0,10	0,13	0,22	-0,06	-0,07
ET-1 (pg/ml)	-0,01	0,00	0,00	-0,16	-0,11	-0,03	0,13	0,12	0,09	0,00	-0,05	-0,01	0,00	0,04
Tenacina (ng/ml)	0,06	0,14	-0,20	-0,03	-0,10	-0,06	0,14	-0,03	0,13	-0,08	-0,10	-0,09	0,11	0,14
VEGF (pg/ml)	-0,05	-0,05	0,03	-0,20	-0,10	-0,13	-0,06	-0,04	-0,20	0,07	0,07	0,03	-0,10	-0,20
IL-6 (pg/ml)	-0,17	-0,12	0,03	-0,10	-0,08	-0,07	0,13	-0,02	0,02	-0,00	-0,08	-0,06	0,06	0,10
Activina (pg/ml)	-0,21	-0,19	0,10	0,02	0,15	-0,00	-0,22	-0,22	-0,00	0,02	0,07	0,01	-0,10	-0,14
GDF-8 (pg/ml)	-0,00	-0,02	-0,00	-0,00	-0,04	-0,14	-0,04	-0,14	0,14	-0,00	-0,04	-0,04	0,05	0,00

Studio del rimodellamento ventricolare destro

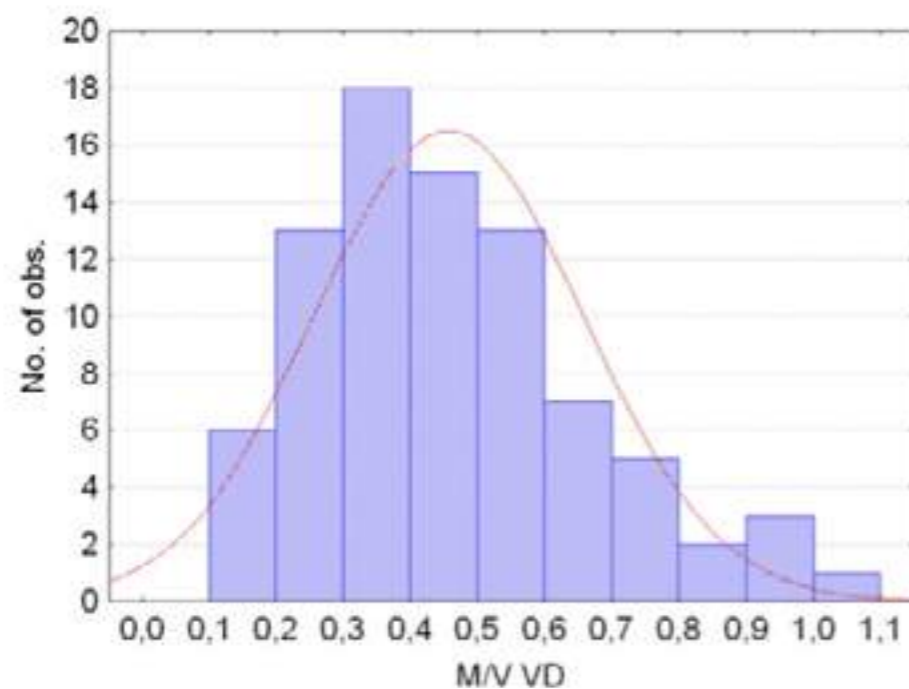
Una analisi innovativa dello studio è stata la valutazione del tipo di rimodellamento del ventricolo destro attraverso l'analisi del rapporto massa/volume diastolico del ventricolo destro (M/V VD):

- un rapporto massa/volume alto è indice di un aumento dello spessore della parete libera del ventricolo destro con volumi modicamente aumentati. Questo tipo di rimodellamento è assimilabile all'ipertrofia concentrica del ventricolo sinistro in risposta ad aumenti del post-carico.

- un rapporto massa/volume basso è indice di una dilatazione della camera ventricolare senza una ipertrofia della parete ed è assimilabile all'ipertrofia eccentrica del ventricolo sinistro in caso di sovraccarichi di volume o di perdita di massa miocitaria.

Nella casistica considerata la distribuzione del rapporto M/V VD è risultata gaussiana (figura 1) con un valore mediano di 0,42 ed un range tra 0,1 a 1,12. questa valutazione ci ha permesso di dividere la popolazione tra pazienti con rimodellamento concentrico (rapporto M/V VD superiore la mediana) e pazienti con rimodellamento eccentrico (rapporto M/V VD inferiore la mediana).

Figura 1: distribuzione del rapporto M/V VD



Nella tabella 5 è riportato il confronto tra le caratteristiche cliniche, morfo/funzionali del ventricolo destro ed emodinamiche di queste due popolazioni:

- per quanto riguarda le variabili demografiche il sottogruppo dei pazienti con rapporto M/V VD superiore alla mediana aveva una tendenza ad una maggiore prevalenza dei soggetti di genere maschile (27/42, 64% vs 21/41, 51%);

- il profilo clinico dei due gruppi era sostanzialmente sovrapponibile per quanto riguarda la classe funzionale NYHA e la tolleranza allo sforzo valutata con il test della marcia;

- per quanto riguarda le caratteristiche morfologiche/funzionali del ventricolo destro, il sottogruppo con rapporto M/V VD sopra la mediana presentava una maggiore massa miocardica del ventricolo destro con volumi ventricolari significativamente più piccoli, mentre non si osservavano differenze significative della frazione d'eiezione del VD nei due sottogruppi;

- infine, il quadro emodinamico era sostanzialmente sovrapponibile nei due sottogruppi.

Tabella 5: confronto tra i due sottogruppi di pazienti divisi per il valore mediano del rapporto M/V VD.

	M/V VD<0,42 Media ± DS	M/V VD>0,42 Media ± DS	Df	p
Età	51,1 ± 11,6	55,1 ± 14,6	81	0,161208
Sesso				
Altezza, cm	168,8 ± 9,4	163,9 ± 7,7	81	0,011894
Peso, kg	71,4 ± 16,8	71,6 ± 17,6	81	0,943622
BSA	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,2	81	0,475353
Giorni FU	1048,1 ± 555,5	1650,6 ± 1037,2	80	0,001324
NYHA	2,5 ± 0,6	2,4 ± 0,5	81	0,610340
6MWT, m	450,6 ± 104,5	428,5 ± 97,1	81	0,320168
Borg	6,6 ± 1,8	5,9 ± 1,9	81	0,111629
VTD VD, ml	186,4 ± 60,5	147,7 ± 40,6	81	0,000946
VTS VD, ml	120,9 ± 50,9	91,8 ± 35,1	81	0,003164
PC VD, L/min	4,7 ± 1,3	3,9 ± 0,9	71	0,002771
GS VD, ml	65,1 ± 22,8	55,0 ± 16,3	81	0,030636
FE VD, %	36,4 ± 9,5	38,6 ± 9,9	81	0,254231
Massa VD, gr	54,3 ± 20,2	88,2 ± 27,7	81	0,000000
M/V VD	0,3 ± 0,1	0,6 ± 0,2	81	0,000000
DE	33/40	34/41		
DE somma	1,9 ± 1,1	1,7 ± 0,9	78	0,392072
Insuff. Tricuspidalica	1,2 ± 0,5	1,1 ± 0,3	81	0,174597
FC, b/min	78,4 ± 14,6	75,5 ± 12,1	81	0,326806
PAD, mmHg	7,6 ± 4,1	7,1 ± 3,2	81	0,587846
PAPm, mmHg	46,4 ± 14,5	47,7 ± 14,1	81	0,662749
WP, WU	9,3 ± 3,1	9,2 ± 3,2	81	0,883548
PC, L/min	4,7 ± 1,5	4,1 ± 1,1	81	0,026405
GS, ml	63,6 ± 27,6	55,7 ± 18,6	81	0,127371
IC, l/min/m ²	2,6 ± 1,0	2,3 ± 0,6	81	0,132220
RVPT, WU	11,4 ± 6,9	12,6 ± 5,6	81	0,360513
RVP PRE, WU	9,1 ± 5,0	10,4 ± 5,2	81	0,316562
VTD VS, ml	111,4 ± 31,9	91,8 ± 24,5	81	0,002495
VTS VS, ml	47,7 ± 18,1	40,1 ± 15,8	81	0,042694
PC VS, L/min	4,7 ± 1,2	3,8 ± 1,0	67	0,001280
GS VS, ml	63,1 ± 18,9	52,4 ± 14,5	81	0,004748
FE VS, %	57,5 ± 8,4	57,5 ± 9,6	81	0,991119
Massa VS, gr	82,5 ± 22,6	70,4 ± 19,5	74	0,014118
Massa VD/Massa VS	0,7 ± 0,3	1,4 ± 0,6	72	0,000000

Determinanti del rimodellamento ventricolare destro

L'analisi univariata e multivariata (Tabella 6) dimostra come il rapporto M/V VD non sia influenzato da parametri demografici (genere, età, peso, altezza) né da parametri emodinamici espressione del post-carico VD (resistenza vascolari polmonari) o del precarico (pressione atriale destra).

Questi risultati mostrano come il rimodellamento del ventricolo destro sia estremamente variabile in una popolazione con IAP tipica, e come sia indipendente dalla severità del quadro emodinamico e da fattori demografici. E' verosimile che fattori genetici abbiano un ruolo importante insieme ad altri fattori difficilmente valutabili come la velocità della progressione della malattia.

Tabella 6: regressione multipla, determinanti rapporto M/V VD.

	Beta	Errore Standard	B	Errore Standard	t(67)	p-level
Intercetta			0,888536	0,788123	1,12741	0,263591
Età	0,079459	0,135149	0,001127	0,001917	0,58793	0,558553
Sesso	0,044683	0,136894	0,017128	0,052476	0,32640	0,745136
Altezza	-0,036642	0,633901	-0,000795	0,013753	-0,05780	0,954077
Peso	0,851435	1,495654	0,009810	0,017233	0,56927	0,571074
BSA	-0,641817	1,840310	-0,578313	1,658221	-0,34875	0,728367
DE	0,212963	0,215705	0,106581	0,107954	0,98729	0,327054
DE somma	-0,326136	0,213705	-0,063297	0,041476	-1,52611	0,131690
Insuff. Tricuspidalica	-0,130984	0,117504	-0,062059	0,055672	-1,11472	0,268954
PAD	-0,268181	0,134457	-0,013941	0,006990	-1,99454	0,050164
PAPm	0,184228	0,211055	0,002444	0,002799	0,87289	0,385840
RVPT	0,007724	0,755450	0,000233	0,022785	0,01022	0,991873
RVP PRE	0,138298	0,778479	0,004624	0,026028	0,17785	0,859532

Determinanti della funzione sistolica ventricolare destra (Tabella 7)

La funzione sistolica ventricolare destra, valutata come frazione d'eiezione (FE VD), è considerato un importante fattore prognostico nei pazienti con IAP.

L'analisi multivariata ha permesso di identificare i predittori indipendenti della FE VD (tabella 7). La FE VD è risultata:

- inversamente proporzionale all'aumento delle resistenze vascolari polmonari
- direttamente proporzionale al tipo di rimodellamento concentrico del VD
- inversamente proporzionale alla massa del VD
- direttamente proporzionale alla pressione atriale destra
- inversamente proporzionale all'estensione del DE

Questi 5 parametri spiegano il 50% della varianza della FE VD.

Se il ruolo delle resistenze vascolari polmonari nel determinismo della FE VD era già stato descritto ed ha un forte razionale fisiopatologico, il risultato originale di questo studio riguarda il ruolo del rimodellamento VD e del delayed enhancement (DE). I risultati dell'analisi dimostrano come un rimodellamento di tipo concentrico (rapporto M/V VD elevato) favorisca al mantenimento di una buona FE VD, mentre la presenza di DE (espressione di fibrosi miocardica) è un fattore che determina una riduzione della FE VD.

Riassumendo la fisiopatologia della disfunzione sistolica del VD nella ipertensione polmonare severa è legata ad un discrepanza con il post-carico (afterload mismatch), ma entra in gioco anche il tipo di rimodellamento ventricolare (concentrico vs eccentrico) e la presenza di un danno miocardico strutturale.

Tabella 7: risultati della regressione multipla, variabile dipendente FE VD

	Beta	Errore Standard	B	Errore Standard	t(74)	p-level
Intercetta			42,31991	3,141080	13,47305	0,000000
Massa VD	-0,528218	0,124208	-0,17570	0,041314	-4,25270	0,000061
M/V VD	0,619600	0,124754	31,60620	6,363770	4,96658	0,000004
DE somma	-0,170548	0,085865	-1,68847	0,850090	-1,98623	0,050
PAD	0,332449	0,091149	0,88158	0,241708	3,64731	0,000490
RVPT	-0,532697	0,090012	-0,81955	0,138483	-5,91809	0,000000

Regressione multipla per variabile dipendente: FE VD
R= ,70333429 R²= ,49467912 Adjusted R²= ,46053582
F(5,74)=14,488 p<,00000 Errore standard della stima: 7,1696

Valutazione al 2° controllo

Dopo un periodo medio di 9+2 mesi i pazienti sono stati sottoposti alla seconda valutazione clinica e strumentale.

La terapia iniziata dopo la valutazione basale è stata in 44 pazienti un antagonista recettoriale dell'endotelina (Bosentan 30, Ambrisentan 8, Sitaxentan 6) e in 41 un inibitore delle fosfodiesterasi 5 (29 sildenafil, 12 tadalafil).

Durante questo periodo 5 pazienti sono deceduti, 1 ha ritirato il consenso informato, e 2 non hanno eseguito il controllo della risonanza per claustrofobia.

La popolazione complessiva valutata al secondo controllo era costituita da 77 pazienti con RM e 52 pazienti con prelievo per la determinazione dei peptidi/citochine

Confronto tra dati clinici, RM cardiaca, emodinamica tra il basale e il secondo controllo (Tabella 8).

Come atteso, al secondo controllo dopo l'inizio della terapia specifica si è osservato un netto miglioramento della situazione emodinamica con riduzione della pressione media polmonare, delle resistenze polmonari totali e postcapillari, aumento dell'indice cardiaco riduzione della frequenza cardiaca. Queste modificazioni emodinamiche si sono accompagnate ad un aumento della FE VD e del volume telediastolico del ventricolo sinistro.

Per quanto riguarda il quadro clinico e la tolleranza allo sforzo, il miglioramento è stato moderato e statisticamente non significativo.

Tabella 8:

	n.	Base Media ± DS	2° Controllo Media ± DS	p
Clinica				
NYHA, classe	77	2,5 ± 0,5	2,3 ± 0,5	
6MWT, m	77	444 ± 101	453 ± 117	
Risonanza magnetica				
VTD VD, ml	77	164,1 ± 54,2	174,7 ± 71,7	
VTS VD, ml	77	105,1 ± 46,9	106,1 ± 60,5	
FE VD, %	77	37,0 ± 10,8	41,9 ± 12,7	0,002
Massa VD, gr	77	73,5 ± 30,4	68,8 ± 30,4	
M/V VD, ml/gr	77	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,2	
DE, segmenti	77	1,8 ± 1,0	1,7 ± 1,0	
VTDVS, ml	77	98,7 ± 26,6	109,9 ± 24,5	0,000117
VTSVS, ml	77	42,8 ± 16,4	44,0 ± 16,0	
FE VS, %	77	57,4 ± 9,3	59,5 ± 11,3	
Massa VS, gr	77	75,3 ± 21,8	83,9 ± 27,3	0,002190
Emodinamica				
FC, b/min	77	78,0 ± 15,0	74,6 ± 11,0	0,047
PAD, mmHg	77	7,3 ± 3,7	6,5 ± 3,7	
PAP, mmHg	77	47,4 ± 13,1	41,6 ± 13,9	0,00008
WP, mmHg	77	9,2 ± 3,2	9,3 ± 4,2	
IC, l/min/m ²	77	2,5 ± 0,9	2,8 ± 0,6	0,035
RVPT, WU	77	11,7 ± 5,3	8,7 ± 3,6	0,00001
RVP, WU	77	9,5 ± 4,8	6,8 ± 3,2	0,000009

Determinanti delle cambiamenti della FE VD dopo terapia

Per studiare i fattori che influenzano i cambiamenti della frazione d'eiezione del VD è stata effettuata una analisi di regressione univariata e multivariata (tabelle 9 e 10). Sorprendentemente, la riduzione delle resistenze vascolari polmonari non risulta correlata con il miglioramento della FE VD sia nell'analisi univariata che nella multivariata.

Tabella 9: correlazioni tra Delta FE VD e variabili demografiche, emodinamiche e morfo-funzionali del VD

	Età	Sexo	Altezza	Peso	FE VD	Massa VD	M-V ratio	DE SUM 1	RVPT 1	RVPT 2	Delta RVPT	Delta% RVPT
Delta FEVD	-0,10	0,20	-0,06	-0,23	-0,31	-0,30	-0,43	-0,22	-0,07	-0,26	-0,12	-0,09

All'analisi multivariata: sono risultate come predittori indipendenti dei cambiamenti della FE VD la FE VD basale, il rapporto M/V VD al basale e il numero delle aree con DE.

E' interessante notare come la correlazione sia di tipo inverso: ovvero i soggetti che hanno i valori basali più bassi di FE VD, di M/V VD e il minor numero di aree di DE hanno i maggiori miglioramenti della FE VD dopo trattamento, indipendentemente dalle riduzioni delle resistenze vascolari polmonari.

Tabella 10: regressione multivariata, predittori dei cambiamenti della FE VD

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(48)	p-level
Intercept			50,2838	12,65738	3,97269	0,000238
M-V VD	-0,411087	0,123637	-22,3913	6,73431	-3,32496	0,001700
FE VD	-0,420561	0,155198	-0,4445	0,16402	-2,70985	0,009307
Somma DE	-0,317921	0,122883	-3,5031	1,35401	-2,58719	0,012761
Insuff. Tric	-0,175356	0,123181	-4,3799	3,07673	-1,42357	0,161040
VTD VD	-0,182707	0,156109	-0,0368	0,03147	-1,17038	0,247626

R= ,58867181 R²= ,34653450 Adjusted R²= ,27846518
F(5,48)=5,0909 p<,00080 Std.Error of estimate: 8,9825

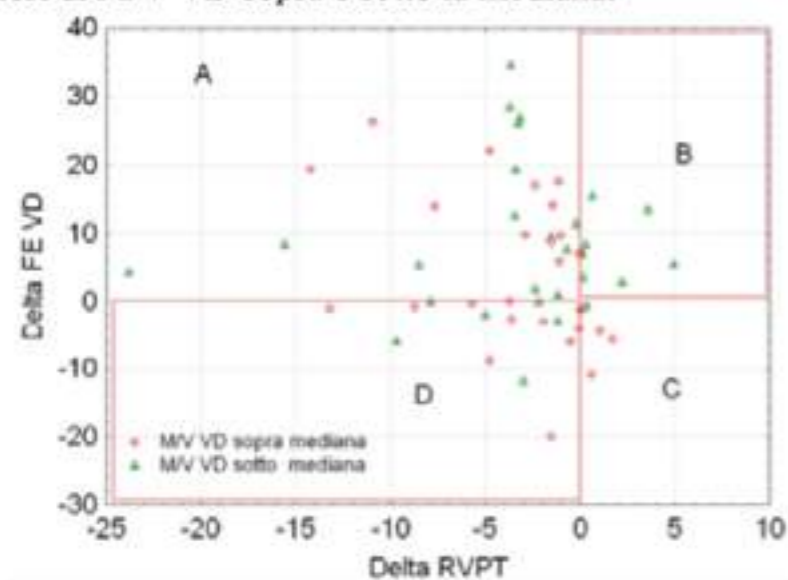
Il fatto che le variazioni della FE VD non siano correlate con la riduzione delle resistenze vascolari polmonari merita un approfondimento. Nella figura 2 è riportata la relazione tra questi due parametri, stratificata per i pazienti che hanno rapporto M/V VD sopra e sotto la mediana.

I dati sono molto dispersi, ma ad una analisi più attenta si può osservare che:

- il riquadro A comprende i pazienti che ad una riduzione delle resistenze polmonari hanno un aumento della FE VD. E' il comportamento che ci si aspetta in caso di un afterload mismatch (discrepanza di post-carico): la funzione migliora con una riduzione del post-carico (popolazione ugualmente distribuita tra i pazienti con rapporto M/V VD sopra e sotto la mediana).
- riquadro B: sono i pazienti che hanno un miglioramento della FE VD nonostante un aumento delle RVPT. Il comportamento è spiegabile solo per un aumento dello stato inotropo del miocardio (prevalenza di pazienti con rapporto M/V VD sotto la mediana).
- riquadro C: sono i pazienti che hanno una riduzione della FE VD a fronte di un aumento delle RVPT. E' il comportamento che ci si aspetta in caso di afterload mismatch (discrepanza di post-carico) in assenza di efficacia della terapia nel ridurre le RVPT: la funzione peggiora in presenza di un aumento del post-carico (prevalenza di pazienti con rapporto M/V sopra la mediana)
- riquadro D: pazienti che hanno un peggioramento della FE VD nonostante una riduzione delle RVPT (sono lievemente prevalenti i pazienti con rapporto M/V VD al di sopra la mediana). E' un comportamento che è spiegabile con un danno miocardico miocitario: anche in presenza di una riduzione del post-carico il ventricolo dex presenta una progressione verso una disfunzione più grave.

Una interpretazione è che i pazienti con rapporto M/V sopra la mediana (e quindi con una ipertrofia più concentrica) hanno più frequentemente un danno miocitario. In questa ottica è possibile che l'ipertrofia concentrica sia in parte espressione di fibrosi miocardica. Questa ipotesi è suggerita anche dal dato che l'altro fattore predittore di cambiamenti della FE VD è il numero di aree interessate dal DE.

Figura 2: Relazione tra modificazioni della FE VD e delle RVPT stratificata per valori di M/V VD sopra e sotto la mediana.



La tabella 11 mostra le modificazioni dei peptidi/citochine dalla valutazione basale al secondo controllo.

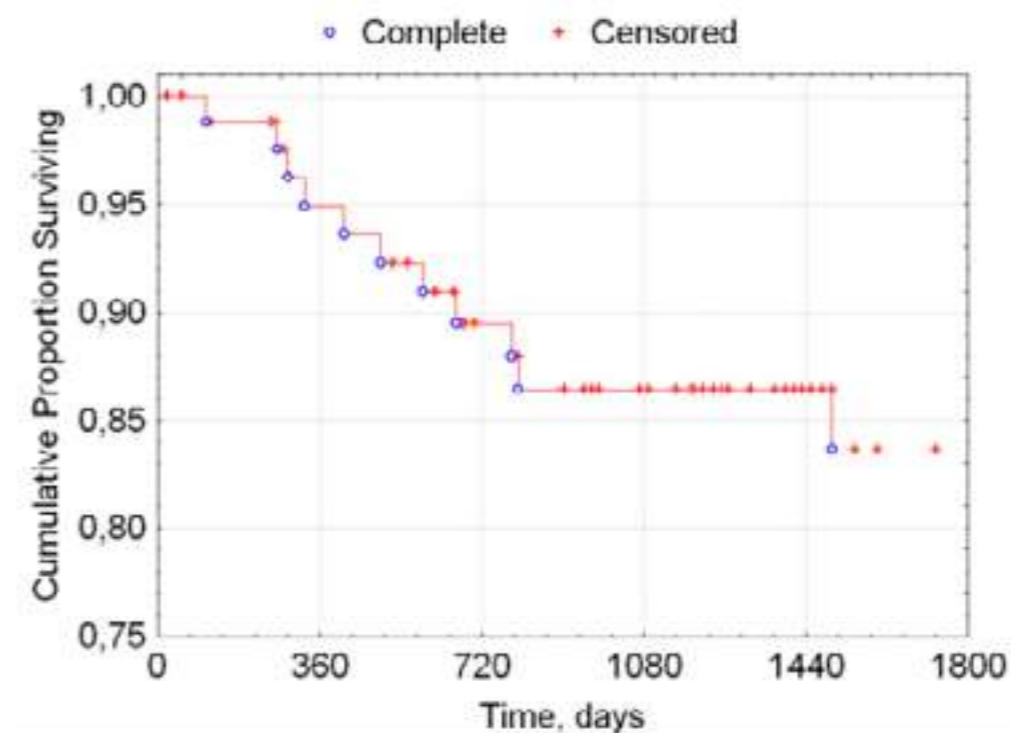
Tra gli analiti considerati solo l'Activina, GDF-8, e GDF-15 hanno avuto una significativa riduzione dopo la terapia. Questi fattori solubili, membri della famiglia del TGF-beta, sono stati associati a diverse condizioni cachettiche come fattori il cui aumento è fortemente correlato alla riduzione della massa muscolare. Il fatto che si riducano con la terapia suggerisce un miglioramento delle condizioni del paziente che potrebbe rallentare il declino fisico e la perdita di massa muscolare. L'utilizzo di questi analiti come marcatori prognostici del decorso della malattia non è stato ancora definitivamente stabilito, ma questo studio contribuisce a definirne le caratteristiche in questo senso e ad estenderle anche alla cachessia derivante da ipertensione polmonare.

Tabella 11: variazioni dei livelli plasmatici dei peptidi/citochine al 2 controllo.

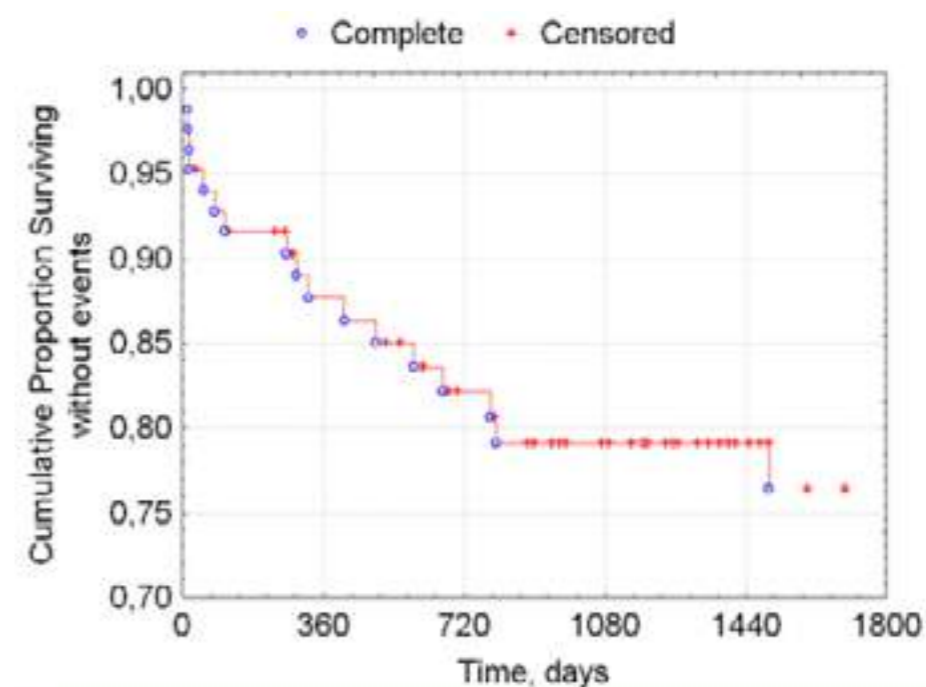
Peptidi/Citochine	n.	Base Media \pm DS	Controllo Media \pm DS	p
cTnT, pg/ml	52	50,8 \pm 135,8	53,3 \pm 139,3	
NT-proBNP, pg/ml	52	387,7 \pm 582,5	370,1 \pm 524,8	
Endotelina-1, pg/ml	52	12,6 \pm 9,7	12,8 \pm 9,2	
TNF-alfa, pg/ml	52	3,4 \pm 3,6	3,8 \pm 4,0	
IL-17a, pg/ml	52	11,1 \pm 2,9	11,4 \pm 3,1	
IL-6, pg/ml	52	3,5 \pm 3,7	8,7 \pm 19,7	
Tenascina C, pg/ml	52	11,1 \pm 4,3	11,4 \pm 4,1	
VEGF, pg/ml	52	37,8 \pm 46,1	43,7 \pm 50,7	
Activina A, pg/ml	52	413,7 \pm 332,4	297,1 \pm 139,8	0,01
GDF-8, pg/ml	52	1846,2 \pm 2102,5	1455,1 \pm 1331,8	0,04
GDF-15, pg/ml	52	2 \pm 1,6	0,8 \pm 0,2	0,009

Sopravvivenza a lungo termine

La durata media del follow-up è stata di 1343+882 giorni. Durante tale periodo sono deceduti 12 pazienti e 7 hanno avuto la necessità di iniziare un prostanoidi parenterale. La sopravvivenza attuariale (figura 4) è stata di 95%, 87%, 85%, 83% rispettivamente a 1,2,3,4 anni. Questa sopravvivenza è superiore a quanto osservato dai registri più recenti, e verosimilmente rispecchia la minore gravità dei pazienti che hanno partecipato al nostro studio, in quanto i pazienti in III classe NYHA avanzata o IV classe NYHA non sono stati in grado di essere sottoposti alla RM cardiaca per problemi di dispnea a riposo e senso di claustrofobia



La figura 5 mostra la curva di KM per l'aggregato degli end-points considerati (exitus+necessità di prostanoidi parenterali).



Confronto tra il sottogruppo di pazienti con eventi clinici maggiori e pazienti senza eventi clinici maggiori.

Nella tabella 12 è riportato il confronto dei parametri studiati tra i pazienti che hanno presentato l'evento clinico (exitus/ prostanoide parenterale) ed i pazienti che non hanno avuto eventi clinici.

In dettaglio i pazienti con Eventi clinici presentavano

a) alla valutazione basale:

- maggiore prevalenza del sesso maschile
- Classe funzionale NYHA più avanzata
- Maggiori volumi telesistolici del VD e minore FE VD
- Indice cardiaco più basso
- Livelli più elevati di ET-1

b) al secondo controllo :

- Classe funzionale NYHA più avanzata
- maggiori volumi telediastolici e telesistolici del VD e FE più bassa
- aumento del NT-proBNP rispetto ai valori basali
- aumento del IL-6 rispetto ai valori basali

Questi risultati sono interpretabili con un quadro clinico, di disfunzione VD ed emodinamico più compromesso in condizioni basali, che continua a peggiorare al secondo controllo nonostante vi sia una risposta emodinamica alla terapia sovrapponibile al gruppo che non ha eventi clinici. Infatti, la riduzione delle RVPT è sostanzialmente sovrapponibile tra i due gruppi.

Tabella 12: parametri clinici, emodinamici, morfo/funzionali cardiaci, peptidi/citochine risultati statisticamente differenti nei pazienti con e senza eventi

	Pz con evento Media ± DS	Pz senza evento Media ± DS	P
Sesso	0,3 ± 0,5	0,6 ± 0,5	0,012667
Altezza, cm	169,8 ± 9,9	164,9 ± 8,6	0,039664
NYHA	2,7 ± 0,6	2,4 ± 0,5	0,007944
VTS VD 1, ml	126,8 ± 47,7	100,0 ± 43,7	0,023885
FE VD, %	33,2 ± 8,3	38,9 ± 9,8	0,023050
IC, l/min/m²	2,1 ± 0,5	2,6 ± 0,9	0,014946
ET-1 (pg/ml)	17,5 ± 13,6	11,2 ± 8,1	0,055984
2 controllo			
NYHA	2,5 ± 0,6	2,2 ± 0,5	0,044575
VTD VD, ml	222,8 ± 92,7	162,3 ± 61,5	0,003676
VTS VD, ml	155,7 ± 79,4	92,9 ± 49,3	0,000302
FE VD, %	36,0 ± 10,6	44,8 ± 12,5	0,018251
Delta NT proBNP	436,3 ± 775,8	-147,5 ± 585,3	0,053410
IL-6 (pg/ml)	19,5 ± 40,9	5,8 ± 5,8	0,039390

Predittori di eventi clinici (exitus + prostanoide parenterale):

Nella Tabella 13 sono riportati i parametri che sono risultati significativamente correlati o al limite della significatività statistica (p tra 0,051 e 0,57) con l'evento clinico.

Tabella 13: fattori predittori di eventi clinici, analisi univariata

	Beta	Standard	t-value	exponent	Wald	P
Genere	-1,18034	0,494964	-2,39682	0,305337	5,744752	0,016544
NYHA	1,282664	0,442124	2,901144	3,606235	8,416635	0,003721
6MWT	-0,004272	0,002012	-2,12380	0,995737	4,510536	0,033694
VTD VD	0,007548	0,003581	2,108045	1,007577	4,443853	0,035035
VTS VD	0,008701	0,003956	2,199366	1,008739	4,837213	0,027859
FE VD	-0,044345	0,023230	-1,90890	0,956624	3,643891	0,056
Insuff Tric	1,210191	0,334142	3,621793	3,354126	13,11738	0,000293
IC	-1,04944	0,379226	-2,76733	0,350133	7,658101	0,005655
ET-1	0,066197	0,027492	2,407883	1,068437	5,797903	0,016051
Activina	-0,003165	0,001665	-1,90117	0,996840	3,614439	0,057289
2 controllo						
NYHA	0,962919	0,411037	2,342658	2,619330	5,488046	0,019153
6MWT	-0,003334	0,001857	-1,79509	0,996671	3,222362	0,072648
PAP	0,032760	0,017541	1,867577	1,033302	3,487843	0,061830
VTD VD	0,006242	0,002567	2,432275	1,006262	5,915959	0,015010
VTS VD	0,008443	0,002966	2,846235	1,008478	8,101053	0,004427
FE VD	-0,038581	0,020820	-1,85306	0,962154	3,433836	0,063883
GDF-15	0,288313	0,123182	2,340546	1,334174	5,478154	0,019262
IL-6	0,066197	0,027492	2,407883	1,068437	5,797903	0,016051

Questi parametri sono stati utilizzati per l'analisi multivariata.

Nelle due tabelle 14 A e 14 B, sono riportati i due modelli di Cox più efficienti (minor numero di covariate, valori di chi quadro più elevati) nel predire l'evento clinico.

Nel primo modello i predittori indipendenti sono l'indice cardiaco alla valutazione basale, e la classe funzionale NYHA al 2 controllo, mentre nel secondo modello sono risultati fattori indipendenti il sesso maschile e la classe NYHA basale.

I risultati indicano come i parametri più rilevanti dal punto di vista prognostico siano piuttosto semplici (classe NYHA basale o al 2 controllo) in quanto riflettono la compromissione cardio-respiratoria-muscolare causata dalla malattia. Questo risultato non esclude l'utilità di metodiche strumentali invasive (cateterismo cardiaco con la misura dell'IC) e non invasive (RM cardiaca con la misura della FE VD) come parametri che aiutano a "rifinire" la prognosi di questi pazienti.

Tabella 14A e 14B:

	Beta	Standard	t-value	exponent	Wald	p
Gender	-0,850569	0,518636	-1,64001	0,427172	2,689632	0,101013
CI 1	-0,832145	0,399966	-2,08054	0,435115	4,326639	0,037484
NYHA2	0,807670	0,392344	2,05858	2,242676	4,237736	0,039543
Chi ² = 15,4159 df = 3 p = ,00150						
Gender	-1,18537	0,503910	-2,35235	0,305633	5,533544	0,018661
NYHA	1,16713	0,413153	2,82493	3,212748	7,980222	0,004732
RVEF	-0,02798	0,024617	-1,13680	0,972404	1,292317	0,255630
Chi ² = 16,9311 df = 3 p = ,00073						

I risultati del presente studio indicano come la disfunzione ventricolare destra nei pazienti con IAP sia riconducibile non solo all'aumento del post-carico (RVPT), ma anche al tipo di rimodellamento VD (rapporto M/V VD), e alla presenza di aree delayed enhancement (probabile espressione di fibrosi). A rafforzare il ruolo di un danno miocitario è il riscontro, in un sottogruppo di pazienti con IAP associata a infezione HIV/HCV, di focolai di miocardite linfocitica attiva con isolamento di genoma virale tramite PCR. La rivalutazione dopo un periodo di terapia specifica ha permesso di documentare come l'effetto emodinamico (riduzione delle RVPT, miglioramento dell'indice cardiaco) si accompagni ad una riduzione dei volumi del ventricolo destro ed al miglioramento della FE, anche se non è stata osservata una correlazione significativa tra i cambiamenti delle RVPT e della FE VD dopo terapia. Questi dati confermano ulteriormente come la fisiopatologia della disfunzione VD non sia esclusivamente riconducibile all'aumento del post-carico VD.

Non sono state osservate relazioni tra i livelli plasmatici di peptidi/citochine studiati e il rimodellamento VD.

Anno 2010. Modulation of metabolic mechanisms in muscle loss disorders: involvement of autophagy and apoptosis - UO1 - IRCCS San Raffaele Pisana

L'obiettivo principale di questo progetto è determinare il ruolo dell'apoptosi e dell'autofagia nel mantenimento della massa muscolare in seguito al trattamento con modulatori metabolici.

In particolare questo progetto intende valutare la capacità di alcuni modulatori del metabolismo di ottimizzare il metabolismo del muscolo scheletrico e di contrastare l'atrofia muscolare e quindi aumentare la forza muscolare. Se così fosse, questi farmaci potrebbero essere usati nel trattamento di pazienti con disordini caratterizzati da perdita della massa muscolare, come miopatie, atrofia da disuso e cachessia.

Questo studio analizza inoltre, l'induzione di autofagia e di apoptosi nel muscolo scheletrico in seguito a trattamento con modulatori del metabolismo. E' stato ipotizzato che l'effetto dei modulatori metabolici sul muscolo scheletrico possa essere mediato dalla loro capacità di modulare l'autofagia e l'apoptosi; questa capacità potrebbe contrastare l'atrofia muscolare tipica di alcune condizioni patologiche.

Infine, il progetto si propone di individuare i sensori metabolici attivati dai modulatori metabolici usati e le conseguenze della loro attivazione a livello trascrizionale e di attivazione genica. In particolare, si studia PGC-1alfa e AMPK e il loro ruolo e la loro correlazione con l'autofagia e l'apoptosi.

to intende valutare la capacità di alcuni modulatori del metabolismo di ottimizzare il metabolismo del muscolo scheletrico e di contrastare l'atrofia muscolare e quindi aumentare la forza muscolare. Se così fosse, questi farmaci potrebbero essere usati nel trattamento di pazienti con disordini caratterizzati da perdita della massa muscolare, come miopatie, atrofia da disuso e cachessia.

Questo studio analizza inoltre, l'induzione di autofagia e di apoptosi nel muscolo scheletrico in seguito a trattamento con modulatori del metabolismo. E' stato ipotizzato che l'effetto dei modulatori metabolici sul muscolo scheletrico possa essere mediato dalla loro capacità di modulare l'autofagia e l'apoptosi; questa capacità potrebbe contrastare l'atrofia muscolare tipica di alcune condizioni patologiche.

Infine, il progetto si propone di individuare i sensori metabolici attivati dai modulatori metabolici usati e le conseguenze della loro attivazione a livello trascrizionale e di attivazione genica. In particolare, si studia PGC-1alfa e AMPK e il loro ruolo e la loro correlazione con l'autofagia e l'apoptosi.

Per studiare l'induzione dell'autofagia, la lipidazione di LC3 (valutazione delle quantità relative di LC3 I e LC3II) è stata determinata attraverso western blot (WB). L'espressione dei geni responsabili dell'autofagia (LC3 e Beclin1) è stata valutata nei miotubi mediante Real Time PCR (Q-RT-PCR). La localizzazione di LC3 è stata analizzata attraverso microscopia a fluorescenza usando uno specifico anticorpo per LC3 e la sonda selettiva per i lisosomi, LysoTracker. I cambiamenti nelle varie strutture autofagiche sono stati indagati attraverso il microscopio a trasmissione elettronica. L'apoptosi è stata valutata mediante microscopia a fluorescenza (IF) usando la colorazione con Hoechst. La via di trasduzione del segnale intracellulare che porta all'apoptosi è stata analizzata mediante WB valutando l'attivazione e il taglio della Caspasi 3 e del suo substrato PARP.

Per indagare gli effetti dei modulatori metabolici sulla massa muscolare, l'espressione dei geni responsabili dell'atrofia (MuRF1 e atrogin-1) nei miotubi è stata valutata mediante Q-RT-PCR, in seguito al trattamento con TMZ. L'analisi morfologica delle fibre è stata effettuata con microscopia a scansione elettronica e attraverso l'analisi dell'organizzazione del citoscheletro, colorando i miotubi con falloidina fluoresceinata (per individuare i filamenti di actina mediante fluorescenza) e con anticorpi anti-tubulina.

La riduzione della massa muscolare è dovuta ad un equilibrio tra sintesi e degradazione proteica, nonché alla proliferazione cellulare e alla capacità di miogenesi. Per misurare la capacità di miogenesi in seguito a trattamento con modulatori metabolici, il grado di fusione dei mioblasti è stato determinato misurando la quantità di mionuclei nei miotubi C2C12 (indice di fusione) dopo 48 e 72 ore di differenziamento. La miogenesi è stata inoltre analizzata valutando, mediante fluorescenza e Q-RT-PCR, la quantità di proteine miofibrillari come la catena pesante della miosina (MyHC) e l'espressione di geni responsabili della miogenesi (per es. MyoD e Myogenin).

I modulatori metabolici bloccano il catabolismo degli acidi grassi amplificando il metabolismo ossidativo del glucosio nel muscolo cardiaco. Un obiettivo di questo progetto è definire il ruolo di tali molecole nel metabolismo del muscolo scheletrico. Per il momento è stata valutata la quantità di glucosio nel mezzo di coltura di miotubi C2C12 usando un kit colorimetrico per la determinazione del glucosio. È stata anche misurata la quantità di glicogeno mediante la reazione PAS (Acido Periodico-Schiff) e i livelli di espressione della piruvato deidrogenasi chinasi (PDK) tramite Q-RT-PCR.

Per quanto riguarda lo studio della via di trasduzione del segnale che potrebbe fare da link tra la modulazione del metabolismo e mantenimento della massa muscolare, è stata esplorata, mediante Q-RT-PCR, l'espressione della proteina regolatrice del metabolismo PGC-1alfa durante il differenziamento muscolare in seguito a trattamento con il modulatore metabolico TMZ.

Per quanto riguarda lo studio della via di trasduzione del segnale che potrebbe fare da link tra la modulazione del metabolismo e mantenimento della massa muscolare, è stata esplorata, mediante Q-RT-PCR, l'espressione della proteina regolatrice del metabolismo PGC-1alfa durante il differenziamento muscolare in seguito a trattamento con il modulatore metabolico TMZ.

Per quanto riguarda gli esperimenti in vivo, si è iniziato ad analizzare il modello di cachessia tumorale (C26) e, come già indicato nel cronoprogramma, al posto del modello di atrofia da disuso,

si è deciso di studiare un modello murino di atrofia da invecchiamento.

La dimensione delle fibre muscolari è stata valutata attraverso l'analisi morfologica di criosezioni di muscoli di topi cachettici e di controllo trattati e non trattati con TMZ e marcati con anticorpi anti-laminina e anti MyHC. La dimensione della miofibrilla è stata valutata attraverso la misura dell'area della sezione trasversale (CSA) di ogni miofibrilla. I cambiamenti istomorfometrici di tipo e di dimensione delle miofibrille e il numero di mionuclei sono, di solito, correlati con la funzionalità del muscolo scheletrico.

Per valutare l'autofagia nel muscolo si impiega l'elettroporazione in muscolo di costrutti di fusione GFP-LC3.

La capacità rigenerativa del muscolo è stata valutata in vivo attraverso l'induzione di un danno mediante cardiotoxina sul muscolo tibiale anteriore; è stata determinata la capacità di recupero della fibra muscolare in presenza o in assenza di modulatori metabolici grazie alla determinazione del numero di fibre centro-nucleate e del numero di fibre con più di 3 mionuclei centrali. Inoltre sono stati misurati i livelli di mRNAs (MyoD, Myogenin, MyHC e Desmin) muscolo-specifici nei lisati muscolari degli animali così trattati.

Le conseguenze funzionali del trattamento con modulatori metabolici in vivo sono state valutate attraverso un'accurata analisi della funzionalità del muscolo scheletrico sfruttando il grip test e il test dello schermo invertito di Kondziela. E' stato anche valutato il peso degli animali, dei muscoli tibiale e gastrocnemio, il peso di alcuni organi, l'apporto di cibo ingerito e la glicemia.

Studi in vitro.

Analisi dell'autofagia e dell'apoptosi. L'autofagia è un processo di degradazione cellulare nel quale porzioni di citoplasma e organelli danneggiati sono sequestrati in vescicole a doppia membrana (o autofagosomi) che vengono trasportate ai lisosomi per la degradazione e l'eventuale riciclaggio del loro contenuto. A livello basale, l'autofagia, insieme al sistema ubiquitin-proteasoma, degrada e ricicla la maggior parte dei componenti cellulari svolgendo un ruolo chiave nel bilancio energetico cellulare. L'autofagia è anche un meccanismo citoprotettivo che porta alla sopravvivenza cellulare in condizioni sfavorevoli e di stress. Nel muscolo scheletrico il ruolo dell'autofagia è controverso in quanto potrebbe essere sia benefico che dannoso.

Nel muscolo in condizioni basali, l'attivazione dell'autofagia è fondamentale per evitare l'accumulo di organelli e proteine disfunzionali nelle miofibrille. L'autofagia è anche indotta per la degradazione delle proteine muscolari e la successiva mobilizzazione degli aminoacidi al fegato per sostenere la gluconeogenesi, utile per fornire energia per il mantenimento di organi critici come il cuore ed il cervello. In quest'ultimo caso, un'eccessiva attivazione dell'autofagia potrebbe contribuire ad un'aumentata degradazione delle proteine ed alla perdita di massa muscolare (per es. atrofia).

Evidenze sperimentali inoltre dimostrano che sia la modulazione del processo autofagico come il mantenimento della massa muscolare sono strettamente dipendenti dal metabolismo energetico cellulare. Questo porta a far supporre che la modulazione del metabolismo muscolare potrebbe modificare la plasticità muscolare.

La modulazione dei meccanismi metabolici potrebbe essere raggiunta attraverso farmaci definiti modulatori metabolici. Questi farmaci hanno dimostrato di migliorare l'efficienza del miocardio in condizioni ischemiche bloccando l'ossidazione degli acidi grassi e aumentando l'ossidazione del glucosio e conseguentemente migliorando il metabolismo energetico nei cardiomiociti.

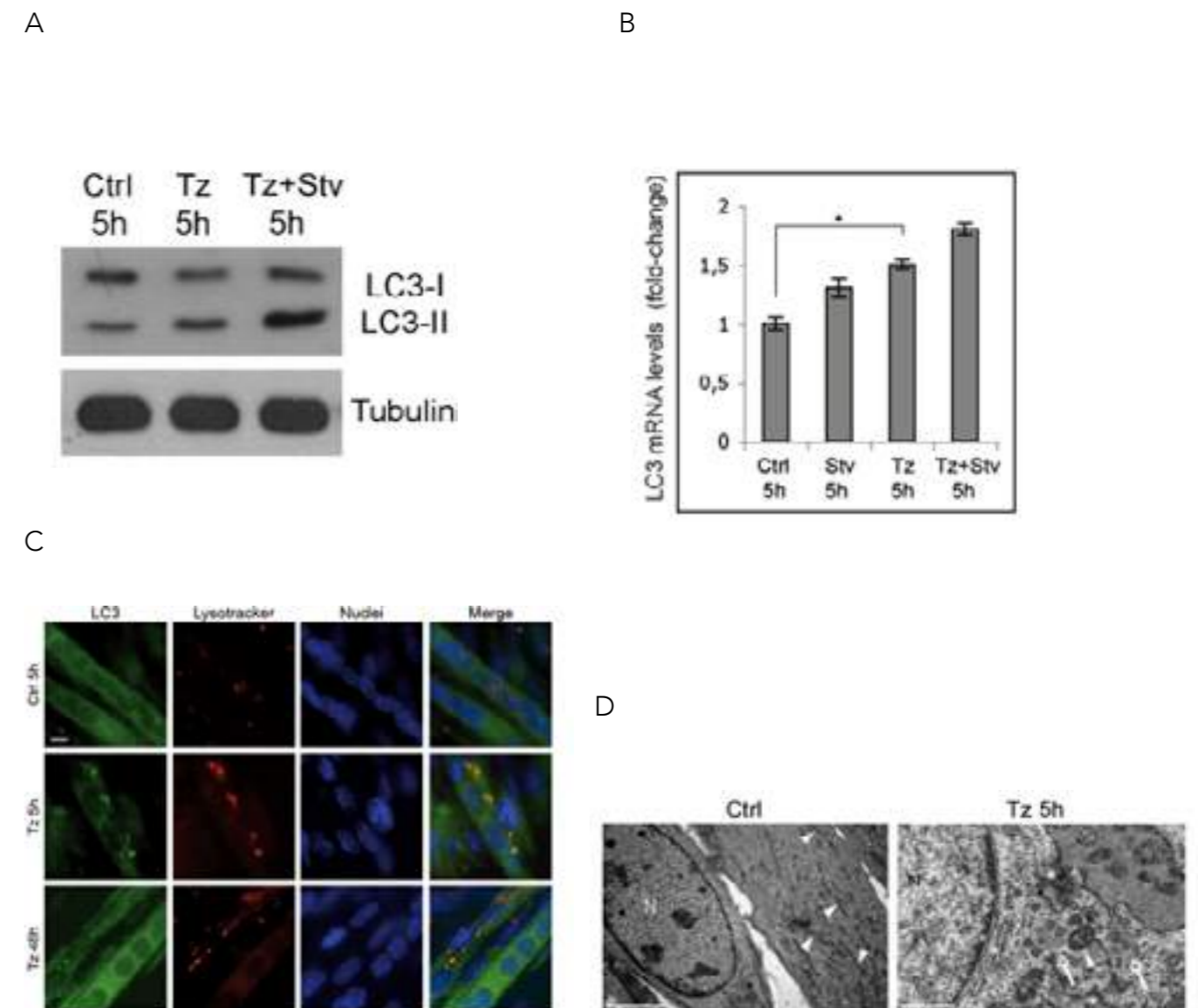
E' stata analizzata l'autofagia in miotubi C2C12 differenziati in seguito al trattamento con il modulatore metabolico trimetazidina (TMZ). La TMZ è un farmaco già impiegato con successo in pazienti con scompenso cardiaco ischemico. Infatti, nel muscolo cardiaco, la TMZ è capace di determinare dei cambiamenti metabolici e funzionali in grado di migliorare la contrattilità e la frazione di eiezione ventricolare (funzionalità diastolica).

Si è concluso che la TMZ induce autofagia in quanto, in seguito ad analisi di WB, la forma lipidata di LC3 (LC3-II) e il rapporto tra LC3-II e LC3-I sono più abbondanti in seguito al trattamento con TMZ (vedi per es. Fig. 1A; Tz=TMZ; Stv=rimozione di siero).

Anche l'induzione di geni autofagici (LC3 e Beclin1) risulta aumentata in seguito al trattamento con TMZ (Vedi per es. Fig. 2B). Inoltre, la localizzazione cellulare di LC3 è stata analizzata attraverso fluorescenza usando uno specifico anticorpo per LC3 ed è stata messa in evidenza l'associazione tra LC3 e lisosomi individuati tramite la sonda selettiva LysoTracker (Fig. 1C). Infine, anche l'analisi al microscopio elettronico ha fatto rilevare un maggior numero di autofagosomi in miotubi trattati con TMZ rispetto a miotubi di controllo (Fig 1D).

Questi dati relativi all'autofagia e altri dati che verranno riportati in seguito, sono già stati pubblicati dal gruppo (Ferraro et al., 2013). L'analisi dell'autofagia nei mioblasti è in corso di analisi, contemporaneamente all'analisi del flusso autofagico e all'interferenza tramite siRNA di Beclin1 per valutare l'importanza dell'autofagia nel processo di differenziamento miogenico e nell'atrofia.

FIG.1



L'apoptosi è la principale forma di morte cellulare e la mancanza o la disregolazione di questo processo, vengono considerati tra i meccanismi patogenetici alla base di numerose patologie (per es. nella patologia tumorale). E' infatti chiaro che l'omeostasi tissutale, cioè il bilanciamento tra proliferazione e morte cellulare, è essenziale nel "mantenimento" di un organismo. Di contro il ruolo svolto dall'apoptosi nei tessuti post-mitotici ed in particolar modo dei muscoli, è ancora oggetto di discussione. Le miofibre muscolari sono caratterizzate dalla presenza di segmenti citoplasmatici regolati ognuno da singoli mionuclei. In presenza di stimoli apoptotici, i nuclei della fibra muscolare vanno incontro ad apoptosi non tutti simultaneamente, ma secondo una eliminazione progressiva che determina una successiva degenerazione del segmento citoplasmatico. Il protrarsi di questo fenomeno, può indurre processi di atrofia e degenerazione muscolare presenti in diverse condizioni patologiche (per es. le miopatie infiammatorie, la denervazione, il disuso e l'atrofia muscolare spinale).

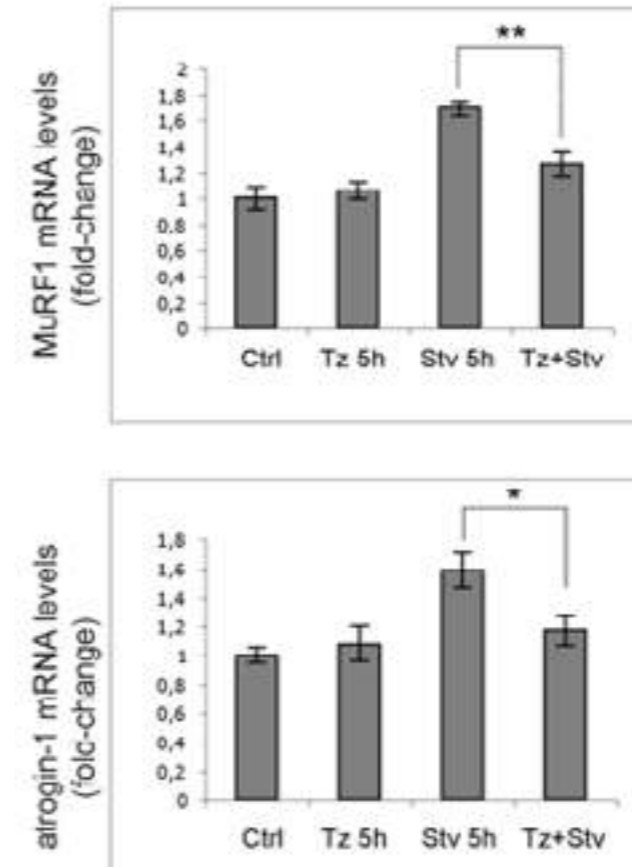
Per quanto riguarda l'analisi dell'apoptosi nell'ambito di questo progetto, sono stati trattati mioblasti e miotubi C2C12 in corso di differenziamento con TMZ ed è stata analizzata l'eventuale induzione di apoptosi di questo modulatore metabolico. In particolare si è valutato, tramite WB, il taglio proteolitico e l'attivazione della caspasi-3 e del substrato di caspasi PARP. E' stata anche valutata l'induzione di apoptosi tramite analisi della morfologia dei nuclei marcati con Hoechst. Questi esperimenti dovranno essere ripetuti una terza volta per valutare la riproducibilità dei risultati e implementati con saggi in vitro di attivazione della Caspasi-3, il metodo TUNEL e valutazione del taglio proteolitico della caspasi-3 in fluorescenza. Ma si può dire che, tendenzialmente, non è stata riscontrata alcuna differenza significativa di induzione apoptotica tra cellule trattate con TMZ e cellule non trattate. Quindi, il modulatore metabolico TMZ, alle dosi e ai tempi utilizzati, non sembra indurre apoptosi né in mioblasti, né in miotubi maturi. Questo è in accordo con il noto ruolo di TMZ di citoprotettore cardiaco.

TMZ è in grado di esercitare un importante effetto citoprotettivo anche riducendo le alterazioni del citoscheletro causate da TNFalfa in miotubi differenziati in cultura. Dopo il trattamento con TNFalfa è evidente una sconvolgimento completo dei microfilamenti actinici con i nuclei disorganizzati all'interno della miofibrilla. Queste modifiche vengono contrastate dalla contemporanea somministrazione di TMZ.

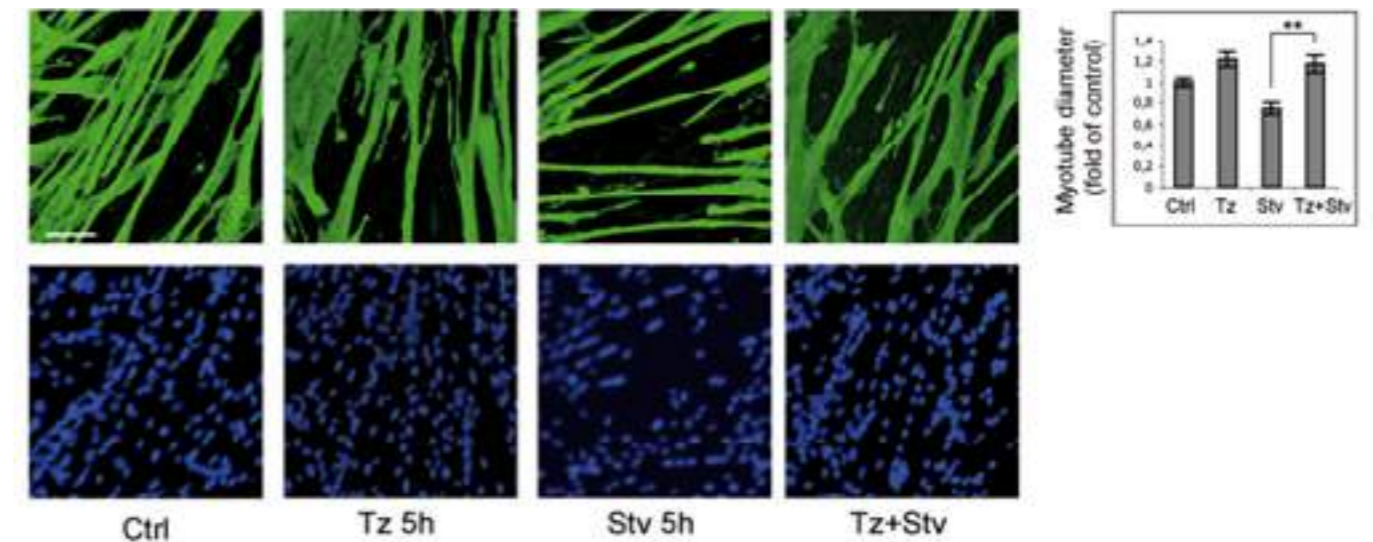
Per analizzare il ruolo protettivo della TMZ contro l'atrofia sui miotubi maturi, è stata indotta atrofia mediante rimozione di siero oppure tramite TNFalfa ed è stato valutato l'effetto della contemporanea somministrazione di TMZ. Si è così osservato che i livelli degli mRNA dei marcatori di atrofia atrogin-1 e MuRF1 si riducono in seguito a trattamento con TMZ (vedi Fig. 2A; Tz=TMZ; Stv=rimozione di siero). Anche la riduzione del diametro dei miotubi indotta dalla rimozione del siero e dal TNFalfa si attenua con la TMZ e i miotubi risultano parzialmente protetti da questi danni atrofici (vedi per es. Fig. 2B). In accordo con questo dato, si è osservato che anche la quantità di miosina aumenta in seguito a trattamento con TMZ. Per esplorare il meccanismo tramite cui la TMZ protegge i miotubi dall'atrofia, sono state studiate alcune vie di trasduzione del segnale che regolano la sintesi e la degradazione proteica. A questo scopo si è valutata la fosforilazione di AKT in serina-473 che, agendo su FoxO, impedisce la trascrizione di atrogin-1 e MuRF1. Si è osservato che la fosforilazione di AKT in serina-473 aumenta con la TMZ e questo contribuisce a ridurre la degradazione proteica. Inoltre anche le fosforilazioni di FoxO3a e di NDGR1 aumentano con la TMZ e questo indica l'attivazione di mTORC2 e quindi la riduzione della degradazione proteica (vedi per es. Fig. 2C).

L'induzione dell'autofagia e la riduzione della degradazione proteica indotte dal TMZ potrebbero essere parte del meccanismo attraverso cui TMZ protegge dall'atrofia. Questo viene valutato tramite esperimenti in vivo. Il ruolo della TMZ in vitro su miotubi trattati con stimoli atrofici e l'effetto sull'autofagia e sulle vie di trasduzione del segnale che mediano l'atrofia, sono discussi in maniera approfondita in una specifica pubblicazione (Ferraro et al., 2013).

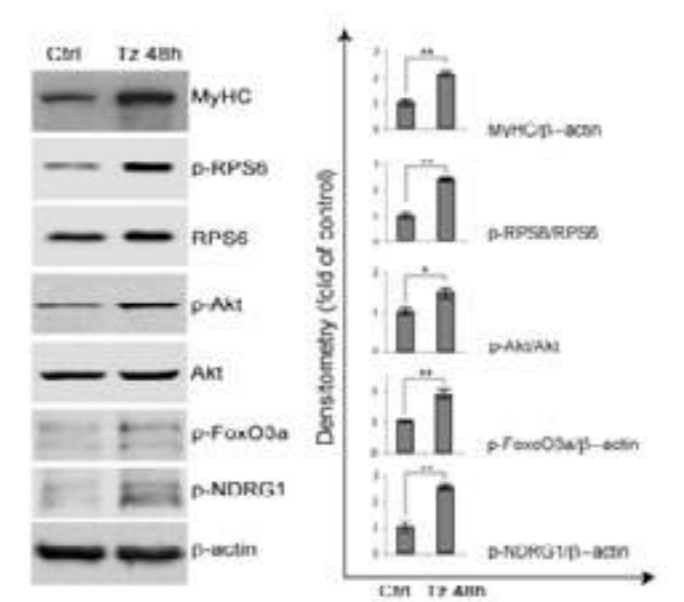
Fig. 2
A



B



C

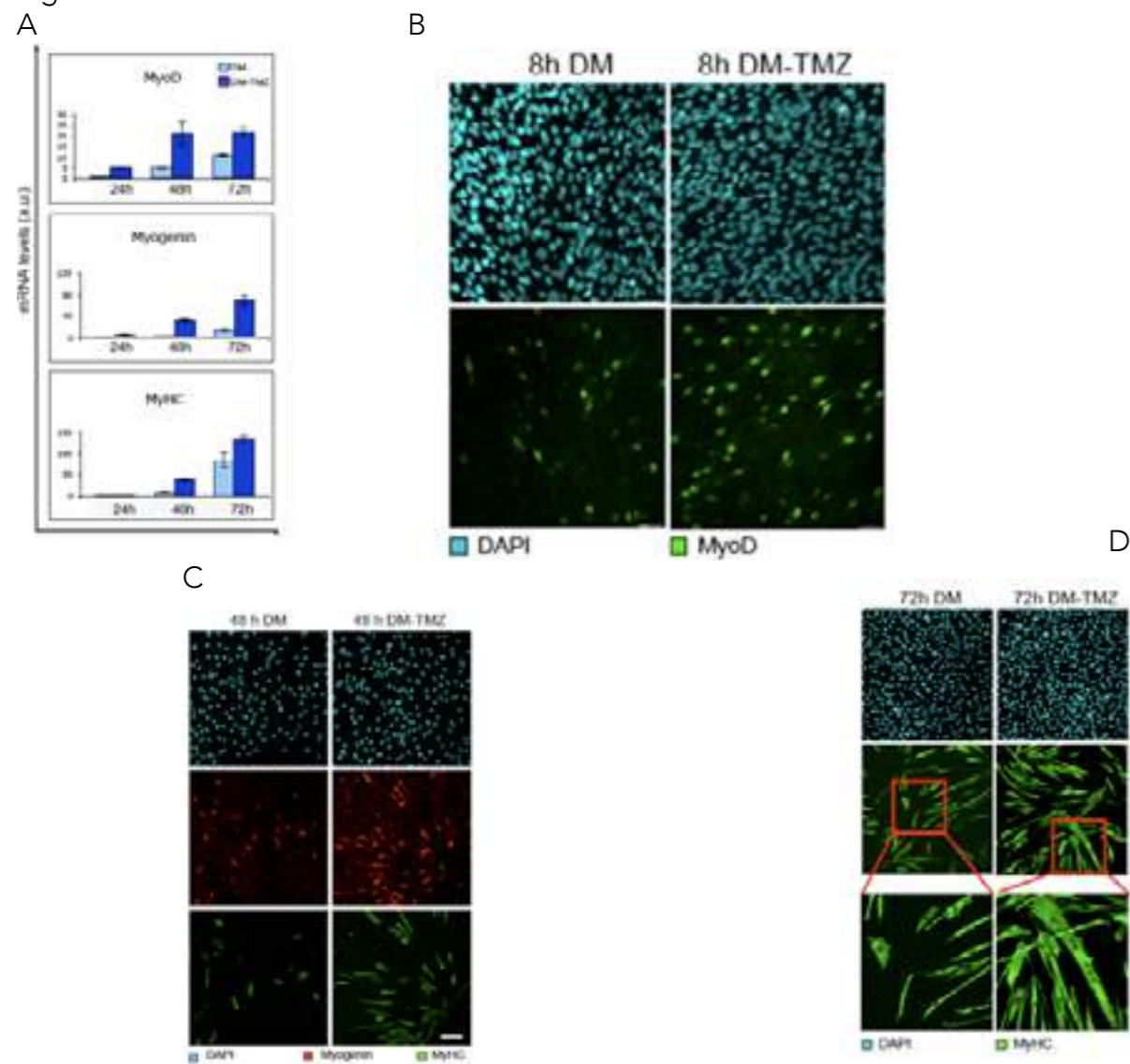


Per stabilire il ruolo dei modulatori metabolici sulla riduzione della massa muscolare è stato anche valutato l'effetto della TMZ sulla rigenerazione del muscolo scheletrico che, se inficiata, può portare ad una ridotta massa muscolare. A questo scopo sono stati effettuati degli studi in vitro e in vivo. In vitro, sono stati trattati mioblasti C2C12 e cellule satelliti in corso di differenziamento con TMZ. Tramite questi esperimenti, si è osservato che la trimetazidina potenzia l'espressione di geni miogenici quali MyoD, Myogenin, MyHC e Desmin (vedi per es. Fig. 3A). Cio' è stato evidenziato tramite Q-RT-PCR e anche tramite valutazione, in microscopia a fluorescenza, dell'espressione di MyoD, Myogenin e MyHC (vedi per es. Fig. 3B,C). E' stato anche valutato l'indice di fusione dei mioblasti ed è stato osservato che esso aumenta in presenza di TMZ (Fig 3D).

L'effetto dei modulatori metabolici sul metabolismo del muscolo scheletrico è stato in parte analizzato. Si è per esempio determinato che la TMZ aumenta il consumo di glucosio e di glicogeno analizzato con la reazione PAS (Acido Periodico-Schiff) da parte dei miotubi C2C12. Questo è in accordo con la capacità della TMZ di inibire la beta-ossidazione degli acidi grassi, cosa che forza la cellula ad aumentare il consumo di glucosio come fonte di energia. Coerentemente con questi dati, la TMZ determina una riduzione dell'espressione della piruvato deidrogenasi kinasi (PDK) valutata tramite Q-RT-PCR (vedi Ferraro et al., 2013). Il resto dell'analisi del metabolismo è attualmente in corso.

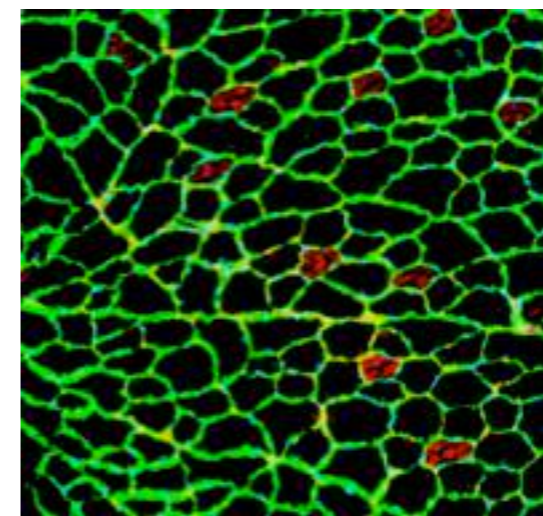
v) E' stata valutata l'espressione di PGC-1alfa su mioblasti in via di differenziamento e abbiamo determinato che essa aumenta in presenza di TMZ. Il resto dello studio previsto è rimandato alla seconda fase del progetto.

Fig. 3

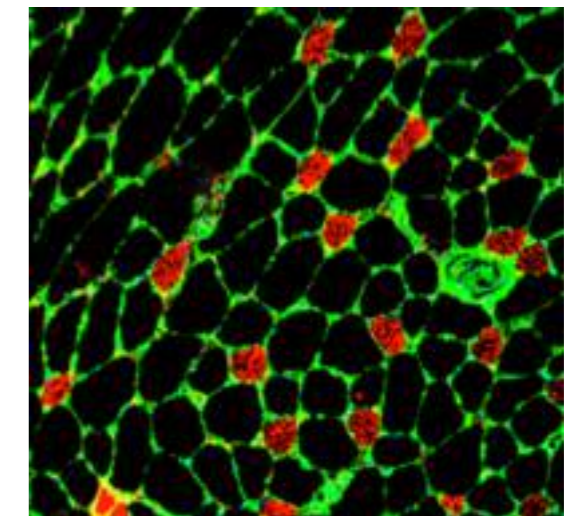


Studi in vivo.

E' stata analizzata la dimensione delle fibre muscolari (CSA) del muscolo tibiale anteriore nei topi C26 trattati con TMZ. Il tipo di colorazione che abbiamo deciso di effettuare (laminina e MyHC slow) ci consentirà di valutare anche la percentuale delle fibre slow rispetto al numero totale delle fibre. In Fig. 4 (rosso: MyHC slow; verde: laminina) è riportato un esempio. Il numero di topi analizzati non consente ancora di avere un valore definitivo e significativo. L'analisi è in corso e terminerà entro due mesi. In seguito, verranno analizzati i topi modello di invecchiamento trattati con modulatori metabolici.

Fig. 4
Ctrl

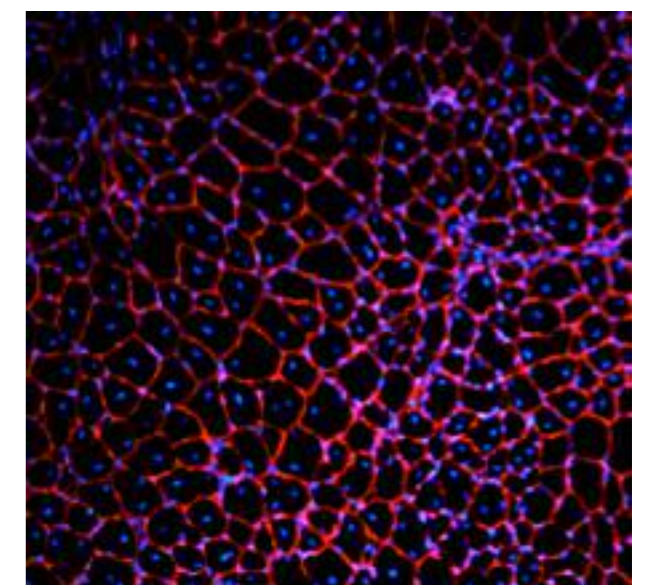
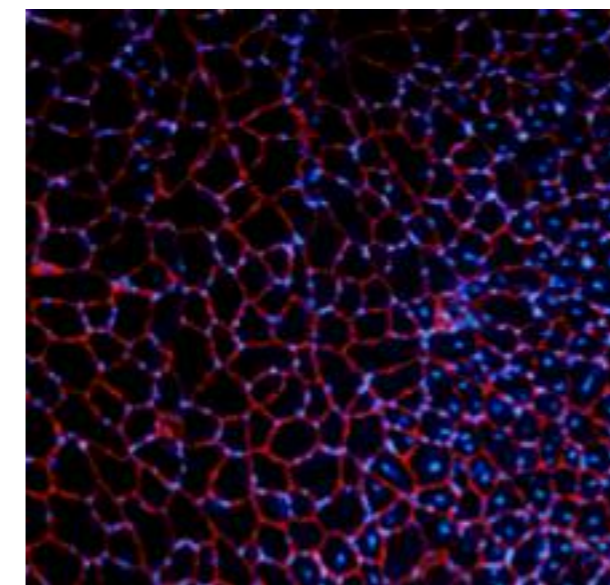
TMZ



L'analisi dell'autofagia in vivo verrà effettuata nella seconda parte del progetto.

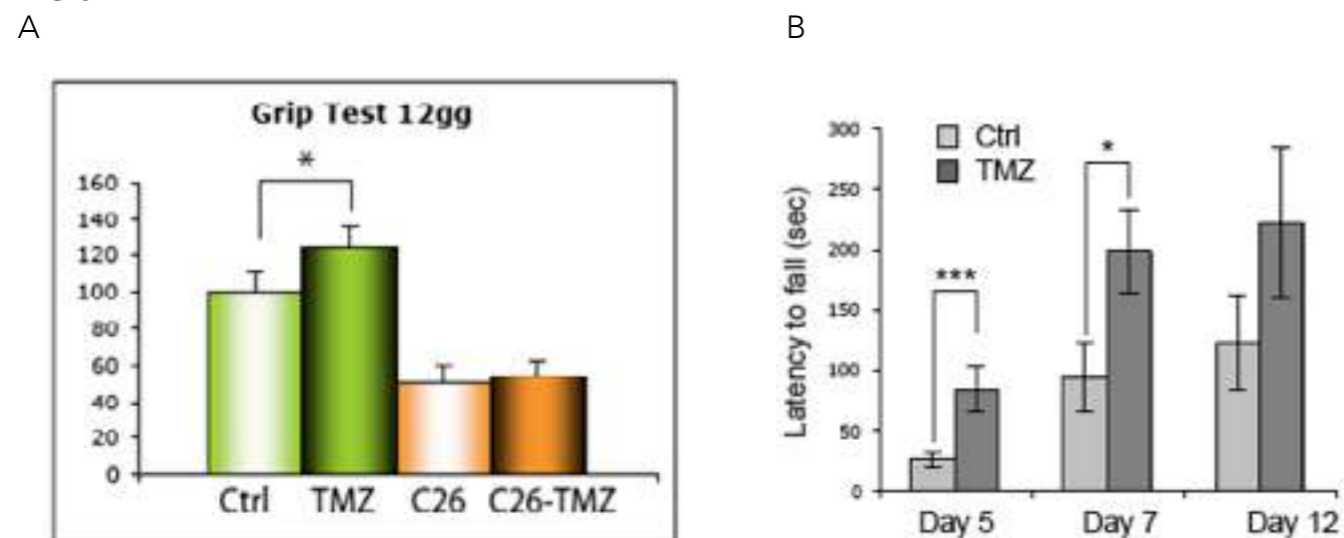
La capacità rigenerativa del muscolo è stata valutata in vivo in seguito a danno mediante cardiottossina, in topi di controllo e topi trattati con TMZ. Abbiamo osservato che il numero di fibre rigeneranti è superiore negli animali trattati con TMZ (Fig 5) e che, alla fine della rigenerazione, le fibre sono piu' grandi in seguito al trattamento con TMZ. I livelli di mRNA muscolo-specifici (MyoD, myogenin, Desmin, MyHC) sono superiori nei lisati muscolari degli animali trattati con TMZ. Questi dati confermano gli esperimenti in vitro e suggeriscono fortemente che la capacità di fusione dei mioblasti è potenziata dal modulatore metabolico trimetazidina.

Fig. 5



Le conseguenze funzionali del trattamento con modulatori metabolici in vivo sono state valutate attraverso l'analisi della funzionalità del muscolo scheletrico mediante grip test e il test dello schermo invertito di Kondziela. Si è deciso di non usare il rotarod perchè ha delle implicazioni neurologiche di cui non si vuole tenere conto al momento visto che interessa valutare la forza muscolare. Le conclusioni sono che, sia gli animali di controllo (Fig. 6A, TMZ) che gli animali anziani (Fig 6B) hanno una forza maggiore in seguito al trattamento con TMZ (Dati presentati in Pin et al. 2014, in preparazione). Gli animali C26 portatori di tumore (Fig 6A, C26-TMZ) mostrano una tendenza all'aumento della forza che, tuttavia, non raggiunge la significatività. Il resto delle analisi riportate al punto iv) verra' effettuato nella seconda parte del progetto.

FIG.6



Il gruppo del Laboratorio di Patofisiologia della cachessia e metabolismo del muscolo scheletrico dell'IRCCS San Raffaele Pisana ha effettuato le Q-RT-PCR per la valutazione dei geni autofagici come precedentemente descritto. Sono stati realizzati inoltre alcuni esperimenti per la valutazione del metabolismo, tra cui la reazione PAS per determinare la quantità di glicogeno e la Q-RT-PCR per PDK.

Quanto alla parte in vivo è stata valutata, mediante Q-RT-PCR e immunofluorescenza, l'espressione dei geni miogenici negli esperimenti di rigenerazione.

Anno 2010. New nanotechnology and biomedical approaches to improve postoperative pain treatment reducing risks related to opioids – Unità Operativa

Il dolore post operatorio (PP) acuto è un fenomeno complesso irrisolto che può portare a complicanze post-operatorie, sindrome di dolore cronico post-chirurgico (CSPS) e costi maggiori. Il passaggio dal dolore acuto al CSPS dovuto sia al background genetico sia alla risposta infiammatoria varia molto da paziente a paziente, come anche il consumo degli oppioidi.

Ad oggi, ancora non sono stati trovati strumenti diagnostici per identificare il grado di dolore PP e la quantità necessaria di farmaci antidolorifici efficace, evitando effetti collaterali indesiderati. L'obiettivo dello studio in corso è quello di validare l'uso del metilprednisolone tramite CWI (Continuous Wound Infusion) per ridurre il consumo di morfina e i suoi effetti collaterali in seguito ad un intervento chirurgico addominale. Inoltre, si sta valutando il ruolo dei polimorfismi genetici come possibili biomarkers per il dolore post-operatorio e per il consumo di oppioidi.

Si tratta di uno studio multicentrico, prospettico, in doppio cieco, di fase III di sperimentazione clinica. Sono coinvolti tre centri nel reclutamento dei pazienti (IRCCS Policlinico San Matteo, di

Pavia, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma e Humanitas Research Center di Milano), e due centri che si occupano di analisi genetiche (Azienda ospedaliero-Universitaria di Parma) e dello stress ossidativo (IRCCS San Raffaele Pisana di Roma).

I pazienti che hanno subito un intervento chirurgico addominale durante le prime 24 ore ricevono CWI di robivacaina 0,2% + metilprednisolone 1mg/Kg. Nelle successive 24 ore, i pazienti vengono suddivisi, in maniera casuale, tra i due gruppi di trattamento: robivacaina+steroidi oppure placebo.

A 48 ore dall'operazione i pazienti vengono trattati con una controllata CWI di sola robivacaina 0,2% o placebo secondo il gruppo di randomizzazione, fino ad un massimo di 7 giorni dopo l'intervento.

Tutti i pazienti vengono analizzati al termine della chirurgia, a 3,6,12,24,48 ore e al settimo giorno post-operatorio o fino alla rimozione del catetere e vengono registrati tutti i valori riguardanti dolore, consumo di analgesici, effetti collaterali legati ai farmaci, e qualsiasi complicazione del catetere (come l'occlusione o dislocazione).

Il ricercatori dell'IRCCS San Raffaele Pisana si occupano delle analisi dello stress ossidativo (malondialdeide (MDA) e 8-OHdG), in campioni di sangue e urine di pazienti trattati con anestetico + steroide o placebo al tempo 0, 6, 24, 48, 72 ore dall'intervento chirurgico. In particolare, è stato messo a punto un adeguato protocollo sperimentale per la misurazione dell'MDA in campioni di sangue e urine.

Ad oggi, sono ancora in corso gli studi per la misurazione dei livelli di MDA e 8-OHdG, sia in pazienti trattati con analgesico + steroide che in quelli placebo al tempo 0,6,24,48,72 ore dall'intervento chirurgico.

Nonostante il numero dei pazienti analizzati nel corso del 2015 non sia sufficiente ad avere un dato statisticamente significativo, i risultati preliminari hanno rilevato una diminuzione dei livelli di MDA in pazienti trattati con anestetico+ steroide alle 48 e 72 ore dall'intervento rispetto ai pazienti placebo.

Si prevede che, attraverso questo studio, si potranno definire i tempi di somministrazione e le dosi per una nuova piattaforma nanotecnologica che si sta al momento sviluppando per la terapia del dolore post-operatorio chirurgico da usare nella pratica clinica. I risultati dovrebbero essere in grado di migliorare l'esito a breve e lungo termine dall'operazione del paziente.

Gli studi pre-clinici del Laboratorio si sono focalizzati sul ruolo di antiossidanti di origine naturale nel trattamento del dolore. Nello studio è stata, quindi, valutata l'azione di composti polifenolici con azione antiossidante dimostrando che sono in grado di ridurre significativamente i livelli di nitratura delle tirosine e di conseguenza l'iperalgisia e la tolleranza indotte dalla somministrazione cronica di morfina.

Risultati significativi dell'approccio tecnologico possono consentire di identificare nuovi pathways che possono essere sfruttati, per esempio, nel trattamento con gli oppioidi o per gestire il dolore di varia natura. L'ampia implicazione delle scoperte suggerisce che, la nitratura proteica dei residui tirosinici, è uno dei possibili bersagli per la manipolazione terapeutica.

MINISTERO DELLA SALUTE
BANDO GIOVANI RICERCATORI

Anno 2011. Genetic and Lifestyle Factors in gastric cancer epidemiology: enhancing research through the establishment of an international consortium.

Il cancro gastrico (GC) è la seconda causa di morte per cancro nel mondo, ed è legata all'infezione da *helicobacter pylori* (HP) e a fattori di rischio ambientali. Molti studi caso-controllo sono stati condotti finora ed una strategia di gruppo potrebbe portare a nuove scoperte circa la sua etiologia. Numerosi consorzi di studi epidemiologici sono stati creati in relazione a numerose patologie, ma nessuno ha focalizzato l'attenzione sul GC.

Il principale obiettivo dello studio è di creare un Consorzio internazionale sul cancro gastrico che includa il maggior numero possibile di studi osservazionali caso-controllo. Vengono studiati:

1. i polimorfismi dei geni delle mucine (legati all'aderenza di HP alla mucosa gastrica) in casi e controlli categorizzati come positivi e negativi all'infezione da HP.
2. i fattori legati alla dieta come singoli componenti o combinazioni di componenti, in relazione al rischio di sviluppare GC in base al sito tumorale e all'istotipo.
3. il ruolo dei fattori non legati alla dieta (alcol e fumo) nell'etiologia di GC.

Il consorzio (StoP Project) è stato creato e comprende più di 20 partner internazionali. Ogni partner ha condiviso il proprio database e ne è stato creato uno centralizzato. Per quanto riguarda gli obiettivi 2 e 3 il database centrale è stato armonizzato dalle due unità deputate ai 2 diversi obiettivi. L'analisi dei dati è in corso. Per l'obiettivo 3 è stata condotta e terminata un'analisi sul fumo di sigaretta e la prima bozza del lavoro scientifico è in fase di revisione da parte dei partner. Per l'obiettivo 1 cinque centri hanno aderito allo studio e i campioni biologici da analizzare sono stati selezionati per ogni centro. Il DNA corrispondente è stato individuato e sta per essere spedito all'unità principale per l'analisi genetica.

Si prevede di completare l'analisi genetica, i risultati preliminari dell'analisi statistica relativa all'obiettivo 2, la pubblicazione del lavoro sul fumo di sigaretta e la preparazione del lavoro sul consumo di alcol relativi all'obiettivo 3.

Laboratorio di Endocrinologia cardiovascolare

MINISTERO DELLA SALUTE
BANDO GIOVANI RICERCATORI

Anno 2011-2012. The role of Mineralocorticoid Receptor (MR) hyperactivation in obesity: effects of MR blockade in human and animal models of overfeeding

Studi condotti nel laboratorio hanno mostrato che l'attività del Recettore Mineralcorticoide regola la funzione e lo sviluppo degli adipociti. Aumentata attività del Recettore Mineralcorticoide (MR) è stata inoltre osservata nel tessuto adiposo di modelli murini di obesità, come pure in soggetti umani obesi suggerendo che MR può alterare il normale metabolismo del tessuto adiposo e portare all'obesità. Vista la crescente diffusione di obesità, diabete e sindrome metabolica, terapie volte a ripristinare la corretta funzionalità di MR in soggetti obesi potrebbero costituire un nuovo approccio terapeutico all'obesità e a patologie ad essa associate.

Il progetto prevede di studiare gli effetti del trattamento con l'antagonista di MR spironolattone in topi "wild-type" sottoposti a dieta normale o a dieta obesogena per 12 settimane. In tali topi viene valutato se il blocco farmacologico di MR può contrastare gli effetti attesi della dieta obesogena: aumento di peso, alterata espansione del tessuto adiposo, dell'espressione di adipochine e della tolleranza glucidica.

Si programma di estendere lo studio in topi sottoposti a dieta obesogena privi del gene MR nel tessuto adiposo (topi AT-MR-KO) per investigare gli effetti metabolici dell'assenza di MR specificamente nelle cellule adipose.

Infine l'attività di MR, il peso totale, la massa grassa e la sensibilità insulinica sono valutati in soggetti umani normopeso, soggetti obesi con normali parametri metabolici (soggetti MNO), e soggetti obesi con metabolismo alterato (soggetti MAO). Si valutano inoltre gli effetti del trattamento farmacologico con antagonista specifico di MR (eplerenone) nei soggetti obesi MAO trattati per 12 settimane.

Lo studio prevede di utilizzare topi C57BL/6 wild-type (topi WT, n=48) e topi C57BL/6 knockout per MR nel tessuto adiposo (topi AT-MR-KO, n=36), il Sistema di Risonanza Magnetica T1-weighted spin-eco whole-body multislice MRI per valutare la massa grassa dei topi, e la tomografia ad emissione di positroni (PET) per valutare l'attività metabolica del tessuto adiposo dei topi. Si impiegano real-time PCR e tecniche di immunostochimica per valutare, nel tessuto adiposo dei topi, rispettivamente espressione dei geni coinvolti nel processo di adipogenesi e morfologia/localizzazione di specifiche proteine. Viene effettuato nei topi indicati il test di tolleranza al glucosio tramite iniezione intraperitoneale di glucosio e successiva misura dei livelli di glucosio circolanti usando un glucometro. Inoltre vengono preparate, sia dai topi wild-type che knockout per MR, colture di adipociti primari e la capacità differenziativa di tali colture viene investigata con real-time PCR. Per lo studio su soggetti obesi, soggetti normopeso (n=14), soggetti obesi MNO (n=14) e soggetti obesi MAO (n=14) vengono analizzati tramite DXA, MRI e PET/CT scanner effettuare l'analisi della massa corporea e valutare l'attività metabolica del tessuto adiposo bruno.

Nei pazienti arruolati viene valutata la sensibilità insulinica impiegando la procedura "two-stage hyperinsulinemic-euglycemic clamp". Tali procedure di analisi sono applicate anche ad altri soggetti obesi MAO (n=14) che vengono trattati con eplerenone per 12 settimane (25 mg/giorno per 2 settimane, poi 50 mg/giorno).

Topi WT sottoposti a dieta obesogena e trattati con l'antagonista di MR spironolattone mostrano resistenza all'aumento di peso e all'espansione della massa grassa come pure presentano una migliore tolleranza al glucosio, indicando che il blocco di MR previene gli effetti deleteri della dieta grassa. Sia l'analisi dell'espressione genica che l'immunostochimica hanno mostrato che il blocco farmacologico di MR induce la conversione del tessuto adiposo bianco in tessuto adiposo

bruno, (processo chiamato "browning"), portando a benefici effetti metabolici anti-obesità. Tale conversione bianco-bruno è stata dimostrata anche in colture di adipociti primari murini trattati con spironolattone confermando, almeno in vitro, che il browning dipende dal coinvolgimento di MR espresso dall'adipocita. Indagini effettuate al livello molecolare hanno mostrato che il blocco di MR determina la riduzione del processo autofagico dell'adipocita, con conseguente induzione

del browning, indicando una nuova funzione per MR nel controllo del metabolismo dell'adipo dell'adipocita. Topi AT-MR-KO trattati con dieta obesogena non mostrano resistenza all'aumento di peso e all'incremento della massa grassa, né rivelano un miglioramento della tolleranza al glucosio, suggerendo che i benefici dell'antagonismo di MR osservato in topi WT derivano probabilmente dal blocco di MR espresso da altri tipi cellulari presenti nel tessuto adiposo.

Gli studi sui pazienti umani previsti dal progetto sono in corso e devono essere completati. Si prevede che almeno nei soggetti obesi MAO l'attività di MR sia "up-regolata" nel tessuto adiposo e che la sensibilità insulinica e l'attività metabolica del tessuto adiposo risulti compromessa rispetto ai soggetti obesi MNO e ai soggetti normopeso.

Anno 2009. The role of endothelial mineralocorticoid receptors in vascular inflammation and atherosclerosis

In collaborazione con l'Unità di Ricerca Clinica del Gruppo GVM Care & Research and Molecular Cardiovascular Research Institute, Tufts Medical Center.

Ricerche degli ultimi dieci anni hanno dimostrato che il Recettore Mineralcorticoide (MR) attivato dal ligando Aldosterone (ALDO) controlla diverse funzioni sistema cardiovascolare. Dati ottenuti dal laboratorio hanno mostrato che MR è espresso in cellule endoteliali vascolari, la sua attivazione determina aumento dell'espressione della molecola di adesione intercellulare 1 (ICAM-1) con conseguente aumento del reclutamento di leucociti al vaso, effetto che favorisce danno vascolare e aterogenesi. Il contributo di ICAM-1 nel mediare l'azione di MR nel reclutamento dei leucociti e quindi nel promuovere l'aterosclerosi non è tuttavia noto "in vivo".

Al fine di valutare il ruolo di ICAM-1 nel mediare gli effetti di MR sullo sviluppo dell'aterosclerosi si prevede di incrociare topi knockout per ApoE (ApoE-KO), proni a sviluppare aterosclerosi, con topi knockout per ICAM-1 (ICAM-1-KO), per generare topi doppi knockout per ApoE e per ICAM-1 (ApoE-ICAM-1 KO) in cui viene investigata l'aterosclerosi promossa da ALDO. In tali topi viene esaminata l'ampiezza delle placche, quantificandone il contenuto lipidico e di collagene e la presenza di macrofagi.

Per studiare al livello molecolare i meccanismi con cui MR promuove la trascrizione di ICAM-1 si prevede di effettuare una analisi in vitro dell'attività del promotore del gene ICAM-1 tramite trasfezione di cellule endoteliali con plasmidi in cui l'espressione del gene luciferasi è sotto il controllo di regioni di differente ampiezza del promotore di ICAM-1. Tali esperimenti evidenziano nel promotore la presenza di regioni regolatorie contenenti siti di legame per MR e porteranno ad individuare gli elementi regolatori ed gli eventuali cofattori trascrizionali coinvolti nella regolazione della trascrizione di ICAM-1 da parte di MR.

In topi ApoE KO (n=30) e topi ApoE-ICAM-1 KO (n=30) vengono impiantate minipompe osmotiche a rilascio di ALDO (6µg/kg/day) o di soluzione di controllo e lasciate nell'animale per 4 settimane. Le minipompe vengono inserite chirurgicamente in una tasca sottocutanea creata effettuando una piccola incisione sulla pelle del dorso e creando un tunnel sottocutaneo. L'incisione viene poi chiusa tramite apposito filo da sutura e disinfettata con iodopovidone. L'intera procedura chirurgica è effettuata dopo aver addormentato l'animale tramite anestesia gassosa con isoflurano. Dopo 4 settimane di trattamento, viene effettuato un prelievo di sangue periferico dal plesso submandibolare per effettuare sul siero analisi biochimiche di glucosio, insulina, colesterolo tramite saggio colorimetrico. Dopo che gli animali sono sacrificati tramite

dislocazione cervicale vengono dissecati cuore e aorta che poi sono inclusi in un'appropriata resina (OCT), conservati nel -80°C e successivamente tagliati in sezioni utilizzando il criostato. Tali sezioni vengono analizzate con appropriate tecniche di immunocistochemica (OilRed O, Picrosirius Red e Mac3 staining) per valutare ampiezza delle placche e loro contenuto di lipidi, collagene ed infiltrato macrofagico. Una regione di 3 Kilobasi (Kb) del promotore del gene umano ICAM-1 viene clonata in un plasmide a monte del gene luciferasi per studiare l'attività trascrizionale del promotore. Tramite tecniche di biologia molecolare saranno poi creati altri plasmidi contenenti porzioni diverse di differente ampiezza del promotore a monte del gene luciferasi. I plasmidi verranno trasfettati in cellule endoteliali HUVEC tramite lipofectamina. L'attività della luciferasi è valutata nei lisati cellulari, dopo trasfezione e stimolazione con ALDO, per mezzo del luminometro. Costrutti adenovirali codificanti dominanti negativi di c-Jun (Ad-dn-c-Jun) o di NF-κ B (Ad-dn-I κ B α) vengono impiegati per investigare il coinvolgimento di tali fattori trascrizionali nella trascrizione di ICAM-1.

Topi ApoE-ICAM-1 KO, rispetto a topi di controllo ApoE-KO, trattati con ALDO hanno mostrato nella radice aortica riduzione dell'area delle placche aterosclerotiche e diminuito contenuto lipidico come pure ridotto contenuto di macrofagi, mentre non hanno mostrato variazioni del contenuto di collagene nelle placche. Questi dati indicano chiaramente che l'assenza di ICAM-1 diminuisce le caratteristiche di instabilità della placca, riducendo lo sviluppo di aterosclerosi indotta da attivazione di MR. Questi esperimenti in vivo indicano che la funzione di ICAM-1 è fondamentale nel promuovere l'infiammazione della placca e mediare l'azione proaterogena di ALDO.

Esperimenti di trasfezione hanno mostrato che nel promotore umano di ICAM-1 esiste in posizione -nt 1141 e -871 una regione con potenziale sequenza di legame a MR (MRE) la cui presenza determina "up-regolazione" dell'attività della luciferasi in presenza di ALDO (10nM).

Il trattamento con in dominanti negativi Ad-dn-c-Jun e Ad-dn-I κ B α, precedente alla stimolazione con ALDO, riduce la responsività ad ALDO del promotore recante la regione MRE e indica che l'attività di c-Jun e IκB α è richiesta affinché l'attivazione di MR determini aumento della trascrizione di ICAM-1.

Sia gli esperimenti in vivo che quelli in vitro dimostrano l'importanza di ICAM-1 nell'aterosclerosi indotta da ALDO e individuano un meccanismo molecolare che spiega come l'attivazione di MR stimola l'espressione di ICAM-1.

Anno 2011. Action observation therapy: a chance for Parkinson Disease patients of improving mobility through a home-based training

Progetto in collaborazione con il Dipartimento di Neuroscienze dell'Università di Genova e il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, sezione Neuroscienze Cliniche dell'Università Politecnica delle Marche.

Il progetto si svolge in collaborazione con il Dipartimento di Neuroscienze dell'Università di Genova e con il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Sezione Neuroscienze Cliniche dell'Università Politecnica delle Marche. E' stata avviata la presentazione del progetto ai comitati etici, la stesura del protocollo valutativo e quello riabilitativo. Sono state inoltre avviate le prime riunioni per la discussione e la scelta dei filmati più idonei per la riabilitazione dell'arto superiore e quello inferiore. Dalla discussione e dall'analisi bibliografica è stato deciso il setting sperimentale, le dosi/tempi di somministrazione, la modalità e sono stati commissionati i primi video sperimentali.

Anno 2009. Transcranial stimulation for inducing sleep: effectiveness of tDCS and TMS stimulation

Il progetto si prefigge di verificare l'efficacia di tecniche non-invasive di stimolazione cerebrale finalizzate all'induzione di sincronizzazione elettroencefalografica (EEG) nell'uomo. L'intero progetto ha come obiettivo ultimo quello di aprire prospettive interessanti per indurre il sonno negli esseri umani con un approccio non farmacologico. Se le ipotesi verranno confermate, i risultati avranno un impatto diretto su molti pazienti che soffrono di disturbi del sonno e, soprattutto, sui pazienti con insonnia primaria, dal momento che una breve latenza di addormentamento è un improvement clinicamente significativo per la maggior parte di loro.

Il programma prevede una serie di studi che applicano Stimolazione transcranica in Corrente Continua (tDCS) o Alternata (tACS), e Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) in soggetti sani per indagare gli effetti sul sonno e la vigilanza.

Nello specifico, il progetto prevede una serie di esperimenti indipendenti con l'obiettivo di:

1. dimostrare l'efficacia delle procedure di stimolazione transcranica nell'incrementare la fisiologica pressione verso il sonno e l'attività EEG spontanea a bassa frequenza (che ne è la sua diretta espressione);
2. definire l'ampiezza delle modificazioni soggettive ed oggettive (EEG) indotte;
3. valutare il ruolo dei fattori permissivi/modulatori di questa efficacia.

Nel progetto sono coinvolte le seguenti strutture:

- Dipartimento di Psicologia, Università Sapienza Roma,
- Neuroscienze Cliniche e Neuroimmagini Funzionali, IRCCS San Raffaele Pisana,
- Dipartimento di Scienze della Salute, Università de L'Aquila.

Nell'ambito del progetto "Transcranial stimulation for inducing sleep: Effectiveness of tDCS and TMS techniques" sono stati eseguiti un totale di 11 studi/esperimenti per valutare l'efficacia delle tecniche di stimolazione transcranica nel modificare le caratteristiche dell'EEG a riposo (o durante il sonno) in funzione di opportune stimolazioni della corteccia cerebrale. I risultati della ricerca sono riassunti nei termini dei singoli esperimenti eseguiti:

- Stimolazione TMS: Modulazione dell'eccitabilità corticale: Il quadro dei risultati indica sintetica-

mente: [A] effetti più ampi nella condizione ad occhi aperti; [B] modificazioni regionali specifiche nelle due bande EEG espressione di sonnolenza /delta e theta), che interessano maggiormente le aree anteriori; [C] la presenza di una modulazione circadiana. Confronto della topografia EEG prima e dopo la stimolazione TMS: aumento dell'attività theta, ma non specifico per la condizione sperimentale.

- Stimolazione tDCS a 0.8 Hz: Assenza di un coerente incremento delle frequenze lente dell'EEG. Seppur in forma di tendenza (ben lontana da dignità statistica) si osservano, al contrario incrementi delle attività EEG a frequenza più rapida.

- Stimolazione tDCS a 5 Hz: La stimolazione anodica si associa ad un incremento delle frequenze lente dell'EEG (delta e theta), con una relativa specificità regionale (principalmente le aree corticali anteriori).

- Stimolazione tDCS a 0.8 vs. 5 Hz: Significativo incremento della slow-wave activity (SWA) nella condizione anodica a 5 Hz, correlato con le misure di sonnolenza soggettiva (variazioni dell'EEG spontaneo frequenza- e polarità-specifiche).

- Stimolazione tACS a 0.8 vs. 5 Hz: Efficacia della stimolazione tACS sulla corteccia frontale nell'incrementare l'attività delta perifocale alla stimolazione, associata alla sonnolenza soggettiva (effetti per frequenza di stimolazione a 0.8 Hz > 5 Hz).

- Studio pilota di stimolazione tDCS a 0.8 Hz in soggetti deprivati di sonno: Poche indicazioni di un effetto potenziante degli effetti della stimolazione tDCS in funzione dell'EEG di background (i.e., manipolando la pressione verso il sonno e il background di attività lenta dell'EEG).

- Stimolazione tACS a 5 Hz: L'attività EEG principalmente theta incrementa (rispetto alla condizione sham) in seguito a stimolazione tACS bitemporale principalmente sulle derivazioni temporali; l'ampiezza delle variazioni indotte è, comunque, al di sotto dei livelli di significatività statistica.

- Stimolazione tACS a 5 Hz e sonno successivo: Non esistono elementi statisticamente significativi e/o funzionalmente interpretabili che la stimolazione tACS le caratteristiche EEG del successivo sonno; anche la prossimità alla stimolazione (i.e., l'inizio del sonno, espresso come i primi tra i 20 intervalli equivalenti considerati) possa modulare l'effetto della stimolazione tACS a 5 Hz non forniscono indicazioni di efficacia.

- Stimolazione tACS a 30 Hz: La stimolazione induce un incremento regionalmente specifico di attività gamma lenta nel range tra 30 e 34 Hz, cioè in corrispondenza della frequenza di stimolazione tACS; tale incremento si riscontra parallelamente a una variazione coerente della vigilanza.

- Studio pilota di stimolazione tACS a 30 Hz in condizioni di aumentata pressione verso il sonno: nessuna chiara indicazione –seppur non definitiva- di una capacità della stimolazione tACS a 30 Hz di contrastare l'incremento di sonnolenza indotto da deprivazione di sonno.

- Stimolazione di doppia stimolazione tACS a 6 Hz (Oz) e a 11 Hz (Fz): Mancata efficacia di questo protocollo di doppia stimolazione tACS con diverse frequenze e sito stimolato nel modificare l'EEG a riposo.

Gli esperimenti eseguiti suggeriscono che effettivamente protocolli di stimolazione transcranica possono indurre modificazioni nell'EEG spontaneo. Mentre la specificità regionale – quando presenti effetti - appare una caratteristica costante, la specificità delle caratteristiche della stimolazione (i.e., frequenza, polarità, corrente continua o alternata) non sempre è riscontrabile.

Le metodologie di stimolazione transcranica, quando efficaci, sembrano nelle condizioni di indurre variazioni nella gamma delle frequenze lente [sincronizzazione (promozione del sonno)] o più rapide [desincronizzazione (aumento della vigilanza)]. Queste variazioni appaiono ancora di ampiezza relativamente piccola (quand'anche significative dal punto di vista statistico), tale da mettere in discussione –al momento attuale- l'esistenza di una chiara significatività clinica e di una traslazione diretta dei risultati al trattamento dei disturbi del sonno.

Determination of variability in cardiac r-r interval on ekg is an early feature of Parkinson disease and predicts the development of the parkinsonism classic motor features

La Malattia di Parkinson (PD) è un disordine neurodegenerativo caratterizzato dalla degenerazione dei neuroni dopaminergici nella sostanza nera compatta (SNc) associata a inclusioni proteiche intracellulari o Lewy bodies. Si è notato che i corpi di Lewy sono più generalmente diffusi in tutto il sistema nervoso centrale e coinvolgono le vie olfattive, gli emisferi cerebrali, il tronco encefalico, il midollo spinale, il sistema nervoso autonomo periferico. Inoltre, studi neuropatologici suggeriscono che la degenerazione del sistema nervoso autonomo periferico che coinvolge il cuore sia antecedente alla degenerazione dei neuroni dopaminergici della SNc. Disfunzioni del sistema autonomo e, in maniera specifica, denervazione dopaminergica cardiaca sono state descritte virtualmente in tutti i pazienti con Malattia di Parkinson. È stato stabilito che una ridotta variabilità nella frequenza cardiaca all'ECG è un fattore di rischio o addirittura una precoce manifestazione della Malattia di Parkinson e potrebbe rappresentare un semplice economico strumento di screening che potrebbe essere applicato alla popolazione generale per determinare un eventuale rischio di sviluppare la Malattia di Parkinson.

In questo studio, effettueremo un elettrocardiogramma di routine con misurazione della variabilità dell'intervallo R-R su un gruppo di familiari di primo grado (fratelli/sorelle o figli/e) di pazienti con PD e su un gruppo di controllo correlato per età e sesso.

Sarà possibile così verificare:

1) Se i familiari di primo grado dei pazienti con PD (che hanno un più alto rischio di sviluppare la malattia) hanno una ridotta variabilità dell'intervallo R-R rispetto al gruppo di controllo.

2) Se la variabilità della frequenza cardiaca è ridotta nei familiari di un sottogruppo di pazienti con PD affetti anche da anosmia e REM Behaviour sleep disorders.

Si sarà inoltre in grado di individuare coorti di: a) familiari di primo grado aventi una ridotta variabilità della frequenza cardiaca; b) familiari di primo grado aventi una normale variabilità della frequenza cardiaca e c) gruppi di controllo correlati per sesso ed età. Queste tre coorti saranno utilizzate per successivi studi a lungo termine per determinare se vi è un maggiore rischio di sviluppare le classiche manifestazioni motorie del PD in coloro che presentino una variabilità nulla o ridotta nell'intervallo R-R.

Questo tipo di ricerca può rivoluzionare il modo di diagnosticare e trattare i pazienti con PD, nonché portare ad una prevenzione secondaria qualora diventino disponibili farmaci in grado di modificare il decorso di malattia.

Si sono finalizzate le modalità di esecuzione dello studio e si sono raccolti dati ed ECG relativi a 130 partecipanti fra casi e controlli.

Tutti i partecipanti, oltre all'esecuzione dell'Elettrocardiogramma di routine, sono stati sottoposti al "Smell Olfaction Test", test di screening per l'eventuale riscontro di iposmia, e successivamente alla compilazione di una scheda raccolta dati per l'eventuale riscontro di altri segni o sintomi "premonitori" di MP (iposmia, disturbi del sonno, stipsi, ecc). L'analisi dei dati sarà effettuata a fine studio. Inoltre, sono stati screenati 168 soggetti presso l'Unità operativa del San Raffaele Cassino.

GRID-based system for the evaluation of the effects of cognitive rehabilitation in patients with Alzheimer's disease and Parkinson's disease

Il progetto prevede il coinvolgimento delle seguenti strutture esterne: GARR, Istituto di Neurologia dell'Università Cattolica ed il Consorzio Multi-Ente per la promozione e l'adozione di Tecnologie di calcolo Avanzato" (COMETA).

L'obiettivo del presente progetto (GRIDCORE) è di utilizzare un sistema a griglia per valutare se una riabilitazione, che prevede un allenamento giornaliero delle funzioni cognitive tramite l'utilizzo quotidiano di un tablet (training TABCOG), sia in grado di modulare i ritmi EEG e migliorare le prestazioni cognitive in soggetti malattia di Alzheimer (AD) e malattia di Parkinson (PD).

Per realizzare tale obiettivo, si stanno sviluppando i seguenti passi:

- implementazione dei compiti sperimentali per l'allenamento delle funzioni cognitive tramite l'utilizzo quotidiano di un tablet (training TABCOG) su piattaforma Android;
- modifica dell'infrastruttura DECIDE per il caricamento, l'archiviazione e la visualizzazione dei dati comportamentali delle sessioni giornaliere del training TABCOG provenienti dal tablet;
- modifica dell'infrastruttura DECIDE per il caricamento, l'archiviazione, la visualizzazione e l'analisi di dati EEG registrati in due sessioni sperimentali (prima e dopo training TABCOG o SHAM) su soggetti AD e PD;
- reclutamento di una popolazione di soggetti AD (N=30) e PD (N=30) suddivisi in due sottogruppi A e B. I gruppi PD-A e AD-A seguiranno il seguente protocollo TABCOG: (1) giorno 1 in ospedale: (i) raccolta di dati clinici e neuropsicologici, (ii) esecuzione di un test computerizzato da 5 minuti che studia l'attenzione e le funzioni esecutive (paradigma di Posner) e (iii) registrazione EEG nella condizione di veglia rilassata ad occhi chiusi (5 minuti) e aperti (5 minuti); giorni 2-15 a casa: esecuzione del training cognitivo con il programma TABCOG con il tablet (20 minuti al giorno); giorno 16 in ospedale: (i) esecuzione del test di Posner e (ii) registrazione EEG nella condizione di veglia rilassata ad occhi chiusi (5 minuti) e aperti (5 minuti). I gruppi PD-B e AD-B seguiranno il seguente protocollo SHAM: giorno 1 in ospedale: (i) raccolta di dati clinici e neuropsicologici, (ii) esecuzione del test di Posner e (iii) registrazione EEG nella condizione di veglia rilassata ad occhi chiusi (5 minuti) e aperti (5 minuti); giorni 2-15 a casa: esecuzione del training SHAM con la visione di filmati a scelta del paziente sul tablet (20 minuti al giorno); giorno 16 in ospedale: (i) esecuzione del test di Posner e (ii) registrazione EEG nella condizione di veglia rilassata ad occhi chiusi e aperti.

La figura che segue illustra schematicamente il protocollo sperimentale del presente progetto.



Nella prima metà del progetto GRIDCORE, sono stati effettuati 3 studi pilota i cui obiettivi sono i seguenti:

- Studio Pilota 1: individuazione di 2 compiti sperimentali da utilizzare per l'allenamento delle funzioni cognitive tramite l'utilizzo quotidiano di un tablet (training TABCOG) nei soggetti PD e AD;
- Studio Pilota 2: individuazione di marcatori EEG nella condizione di riposo (occhi chiusi) in grado di discriminare: (i) i soggetti PD rispetto ai soggetti Nold, MCI e AD e (ii) i soggetti AD rispetto ai soggetti Nold, MCI e PD;
- Studio Pilota 3: valutazione della stabilità dei marcatori EEG su una popolazione di soggetti MCI sottoposti per un mese ad un compito motorio che non abbia un meccanismo di azione terapeutica.

Bando Giovani Ricercatori

Anno 2009. Neural basis of social intelligence: a lesion-based multi-center study on stroke patients.

Responsabile: Dr.ssa Delia Lenzi

Il progetto si svolge in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Neurologiche dell'Università degli Studi "La Sapienza" di Roma.

Il progetto si prefigge di studiare le basi neurali dell'intelligenza sociale tramite voxel based lesion symptom mapping (VLSM) su pazienti con ictus cerebrali, ovvero attraverso l'analisi delle correlazioni tra lesione ischemica e deficit nell'ambito dell'intelligenza sociale.

Gli esseri umani sono animali sociali e una delle principali funzioni del cervello umano è quello di permetterci di interagire con successo all'interno di gruppi sociali. L'intelligenza sociale, che ci permette di socializzare, necessita dell'abilità di capire le intenzioni ed i pensieri altrui (teoria della mente – ToM o mentalizzazione) e della capacità di condividere i sentimenti degli altri (empatia). Il termine empatia si divide ulteriormente in due sotto-componenti, l'empatia emotiva e quella cognitiva. Una ridotta intelligenza sociale è caratteristica dei disturbi dello spettro autistico, della degenerazione lobare frontotemporale, della schizofrenia, dei disturbi di personalità e della depressione. Questa funzione si sviluppa nei primi anni di vita di un individuo ed è molto sensibile agli stress fino alla fine dell'età infantile (per esempio alla depressione materna, agli abusi, al neglect).

Su un campione totale di 590 pazienti pre-selezionati ne sono stati inclusi nello studio 307 (283 pazienti non rientravano nei criteri) con i seguenti criteri d'inclusione: i) singolo ictus ischemico emisferico destro > 2 mesi (questo criterio è stato allargato in quanto aggiornato ad i nuovi criteri di inclusione validi per questo tipo di studio che ritengono includibili anche ictus dopo i 6 mesi in quanto c'è stabilizzazione della lesione e della plasticità correlate); ii) NIH stroke scale > 10; iii) MMSE > 25; iv) non segni di afasia (ACE language > 21); v) nessuna controindicazione all'esecuzione di RM encefalo; vi) nessuna altra malattia neurologica e/o psichiatrica (vedi cut-off per la depressione) o medica importante associata. La diagnosi di stroke, secondo la classica definizione - sintomo neurologico acuto focale che persiste per almeno 24 ore - è stata formulata dai clinici neurologici che hanno visto i pazienti in accettazione, e la successiva radiodiagnostica ha poi confermato in tutti la diagnosi.

Il campione dei pazienti è così composto:

168 uomini/139 femmine; range di età: 50–85 years; età media: 65 anni; tempo medio dall'episodio 12, 21 months. Lingua madre: italiana.

Durante il reclutamento i 283 pazienti sono stati esclusi per i seguenti motivi:

- afasia conclamata e/o diagnosticabile all'esame neurologico e/o alla testistica (ACE language < 21 punti). Per questo motivo si è deciso di escludere i restanti pazienti (11) con ictus emisferico sinistro ed utilizzare solo i destri per avere un unico campione più significativo

- depressione (cut off HAM-D > 18; BDI > 28)
- deficit cognitivi altri che impedivano la comprensione del testo (es. deficit di attenzione, sonnolenza)
- lesioni ischemiche bilaterali
- altre cause tra cui peggioramento del quadro neurologico.

Lo studio è stato approvato dal comitato etico locale e tutti i partecipanti hanno firmato il consenso dopo aver letto i fogli informativi.

Nello specifico nella Unità operativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana si sono selezionati, secondo i criteri di inclusione, parte dei pazienti affetti da stroke, sono stati raccolti i dati di RM e sono stati effettuati i test neuropsicologici e neurologici per valutarne le caratteristiche. In particolare sono state studiate le seguenti funzioni con le seguenti scale/test: i) Teoria della mente (Test teoria della mente); ii) Empatia: IRI ; iii) BEES; iv) Depressione: HAM-D-BDI; v) Alessitimia: TAS-20; vi) Stato neurologico generale: NIH; vii) Stato cognitive: ACE.

I risultati dei test sull'intelligenza sociale hanno mostrato vari gradi di alterazione delle sottoscale dell'IRI (EC e PT) e della scala di BEES (vedi risultati complessivi). In particolare il gruppo di pazienti mostra una media che non si discosta da quella della popolazione, sebbene alcuni soggetti siano fuori dalla norma.

Nella Unità operativa dell'Università Sapienza sono state effettuate parte le analisi. L'analisi dei dati di VLSM è stata eseguita applicando in sintesi i seguenti procedimenti:

- I dati volumetrici T1-3D di tutti i soggetti sono stati pre-processed con SPM8 -Wellcome Department of Imaging Neuroscience, <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>; VBM Toolbox by Christian Gaser (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm/>).

- Sono state create delle maschere lesionali (MRIcroN) (www.mricron.com).

- Le mappe lesionali 3D sono poi state inserite nel Matlab-based VLSM code (Bates et al., 2003) con i corrispondenti dati relative ai test neuropsicologici, età, sesso e tempo dallo stroke.

- Voxel-by-voxel, il VLSM code separa i soggetti in due gruppi a seconda che sia presente o assente la lesione in quel dato voxel.

- Per ogni voxel è stato eseguito un t-test basato sui dati dei vari test e sottoscale neuropsicologiche e dei dati anagrafici.

Le mappe finali hanno quindi mostrato che le performance in questi test sono correlate a lesioni localizzate in sede frontale posteriore (IRI e ToM), in sede temporale media e superiore (IRI e BEES) e nel giro frontale inferiore, parte opercolare (BEES).

Anno 2010. Modulation of calcium release-activated calcium modulator 1 (ORAI-1) and Stromal interaction molecule 1 (STIM1) activity as a new therapeutic strategy in stroke

Responsabile: Dott.ssa Agnese Secondo

Il reticolo endoplasmatico (ER) ricopre un ruolo fondamentale nella fisiologia cellulare, partecipando a numerosi processi finalizzati a garantire la sopravvivenza, il mantenimento dell'omeostasi del Ca²⁺ intracellulare e la secrezione delle proteine. All'interno del lume si ritrova infatti la più alta concentrazione intracellulare di Ca²⁺, mantenuta a valori elevati dalle Ca²⁺-ATPasi, specifiche pompe ioniche di membrana deputate al trasporto degli ioni contro gradiente di concentrazione. E' noto che numerosi stimoli ed eventi patologici possono alterare l'equilibrio cellulare e le normali funzioni dell'ER, instaurando una condizione nota come "stress del reticolo endoplasmatico" la quale è caratterizzata dall'accumulo di proteine mal ripiegate o non ripiegate e da perdita massiva di ioni Ca²⁺. In condizioni fisiologiche tale perdita è normalmente compensata dall'attivazione di correnti entranti del Ca²⁺ definite SOC. Tali correnti, mediate dall'interazione di ORAI1 e STIM1, i due principali determinanti proteici, sono essenzialmente deputate al riempimento del reticolo e alla preservazione delle sue funzioni. E' ormai noto che lo stress del reticolo costituisca la base eziopatologica degli eventi neurodegenerativi alla base dello stroke. Pur

tuttavia il ruolo in tale patologia neurodegenerativa delle correnti SOC e delle sue componenti molecolari non è stato mai studiato.

Il progetto ha come obiettivo quello di studiare il possibile coinvolgimento delle correnti SOC nella patogenesi dello stroke al fine di identificare nuovi bersagli farmacologici verso cui eventualmente direzionare strategie terapeutiche innovative. Mediante l'uso di modelli in vitro e in vivo, tale studio evidenzia il ruolo neuroprotettivo di ORAI1 e STIM1 nello stroke. Infatti l'espressione proteica di ORAI1 e STIM1 risulta essere fortemente ridotta nella penumbra ischemica di animali esposti ad ischemia focale così come in neuroni corticali esposti a deprivazione di ossigeno e glucosio seguita da riossigenazione. Tale effetto è dovuto a variazioni della trascrizione genica. A tale riduzione si accompagna una inibizione delle correnti SOC, misurata mediante la tecnica elettrofisiologica del patch-clamp e con microfluorimetria su singola cellula con il probe fluorescente Fura-2AM. Come conseguenza, si registra una massiva perdita del contenuto dello ione Ca²⁺ dal reticolo endoplasmatico. In tali condizioni sperimentali, la riduzione delle correnti SOC determina un significativo aumento dell'espressione di noti marcatori di stress del reticolo quali BIP e caspasi-3, nonché un aumento della percentuale di sofferenza mitocondriale e di morte neuronale. Di contro, il preconditionamento ischemico in grado di ridurre la morte neuronale ed il volume ischemico, fa aumentare l'espressione e l'interazione tra le proteine d'interesse nonché le correnti SOC, ripristinando il contenuto fisiologico di Ca²⁺ nel reticolo endoplasmatico. Tali risultati lasciano intravedere un importante ruolo neuroprotettivo nello stroke dell'attivazione delle proteine ORAI1 e STIM1 sostenuto da evidenze precliniche ottenute in modelli predittivi della patologia sia in vitro che in vivo.

Anno 2008: Does rehabilitation with a 10-Hz sensory stimulation improve brain rhythms and cognitive-motor performance in neurological patients? Towards internet based clinical applications at subjects' home

Responsabile: Dott. Claudio Del Percio

Il progetto coinvolge le seguenti tre unità operative: IRCSS San Raffaele Pisana, Università di Foggia e l'Associazione Fatebenefratelli per la Ricerca di Roma.

Il progetto è stato sviluppato mediante un disegno sperimentale che ha compreso tre studi scientifici, i quali hanno concorso alla valutazione finale della ipotesi di lavoro.

Il primo studio ha avuto due obiettivi. Il primo obiettivo era quello di identificare le sorgenti corticali dei ritmi EEG nella condizione di riposo a occhi chiusi che fossero correlate con biomarcatori della progressione dell'AD quali l'ipometabolismo dei neuroni corticali, rivelato da indici FDG-PET, e la neurodegenerazione corticale, rivelata da indici di MRI. Il secondo obiettivo era quello di identificare le sorgenti corticali dei ritmi EEG nella condizione di riposo a occhi chiusi che fossero in grado di classificare singoli soggetti AD rispetto a singoli soggetti sani. La valutazione è stata effettuata in gruppi di soggetti Nold, MCI e AD. I risultati hanno mostrato che: (1) le sorgenti corticali dei ritmi alfa 1 nella regione occipitale correlavano con la neurodegenerazione del lobo occipitale nei soggetti Nold, MCI ed AD; (2) le sorgenti corticali dei ritmi delta globali correlavano con l'ipometabolismo corticale globale nei soggetti AD; (3) il rapporto tra le sorgenti corticali delta e alfa 1 nelle regioni parieto-occipitali permetteva una moderata classificazione (sensibilità: 77.2%, specificità: 65%, una accuratezza: 71.2%; area sotto la curva ROC: 0.75) dei soggetti AD rispetto ai soggetti Nold. Questi biomarcatori EEG sono stati usati come "end point" per la valutazione dell'effetto della stimolazione audio-visiva a 10 Hz nei soggetti MCI e AD.

Il secondo studio ha valutato le sorgenti corticali dei ritmi EEG nella condizione di riposo a occhi chiusi che fossero anormali nei soggetti Stroke nella fase sub-acuta (30-60 giorni dall'evento). La valutazione è stata effettuata in gruppi di soggetti Nold, MCI e Stroke. I risultati hanno mostrato che rispetto ai soggetti Nold, i soggetti Stroke mostravano un'ampiezza anormale delle sorgenti corticali dei ritmi EEG nella banda delta, alfa 1 e alfa 2. Inoltre i soggetti Stroke erano

caratterizzati da un'ampiezza anormale delle sorgenti corticali dei ritmi alfa 2 rispetto a soggetti MCI con pari stato cognitivo globale valutato tramite la scala MMSE. Questi risultati suggeriscono l'utilizzo delle sorgenti corticali dei ritmi delta ed alfa come "end point" per la valutazione dell'effetto della stimolazione audio-visiva a 10 Hz nei soggetti Stroke.

Infine, il terzo studio ha valutato la "prova del concetto" che un programma di stimolazione audio-visiva a 10 Hz di 20 minuti al giorno, per 20 giorni, fosse in grado (i) di modulare "end point" quali le sorgenti corticali delta ed alfa dei ritmi EEG a riposo a occhi chiusi e (ii) di migliorare le prestazioni cognitive e motorie in gruppi di soggetti AD, MCI e/o Stroke. I risultati hanno mostrato che il programma di stimolazione audio-visiva a 10 Hz aumentava l'attività delle sorgenti corticali alfa dei ritmi EEG in soggetti MCI e Stroke, tendendo a mitigare la riduzione di ampiezza di tali sorgenti corticali che si osserva in quelle condizioni patologiche. Questo effetto benefico sulle sorgenti corticali alfa era maggiore di quello osservato dopo procedure di controllo quali un analogo programma di stimolazione audio-visiva a 15 Hz e programmi di esercizi fisici e psicofisici della stessa durata. Va notato che alla fine del programma di stimolazione audio-visiva a 10 Hz si osservava anche un lieve miglioramento delle prestazioni cognitive e motorie sia nei soggetti MCI sia in quelli Stroke.

In conclusione, i risultati del presente progetto forniscono una prima importante evidenza dell'effetto positivo di un programma di stimolazione audio-visiva a 10 Hz nei pazienti MCI e Stroke, incoraggiando lo sviluppo di uno studio finale di cross-validazione prima dell'uso clinico di questa procedura, del tutto gratuita e innocua, per mitigare il deterioramento dei meccanismi neurofisiologici oscillatori alla base delle fluttuazioni dell'arousal corticale e della vigilanza dovuto alle suddette condizioni patologiche.

Overnutrition and brain health impairment: Epigenetic mechanisms potentially correlating metabolic and neurodegenerative diseases.

Responsabile: Dott. Salvatore Fusco

Il progetto di ricerca si svolge in collaborazione con l'Istituto di Fisiologia Umana dell'Università Cattolica di Roma.

L'ipotesi sperimentale alla base di questo progetto è che alterazioni del metabolismo durante la fase iniziale di sviluppo del sistema nervoso possano alterare il benessere cerebrale nel corso della vita, riducendo la plasticità di aree chiave per l'apprendimento e la memoria come l'ippocampo. L'ipotesi di lavoro è che i nutrienti possano modulare, in maniera trans-generazionale, le funzioni cognitive attraverso un meccanismo epigenetico. Il progetto si prefigge di:

1. Testare le funzioni cognitive di topi nati da femmine nutrite con una DRG. Nel corso del primo anno del progetto abbiamo eseguito test di memoria ippocampo - dipendenti su topi nati da madri alimentate con una dieta di controllo (DC) o una DRG da 4 settimane prima della gravidanza fino alla terza settimana di allattamento e riscontrato una alterazione della capacità di apprendimento e memoria nei discendenti di una madre ipernutrita fino alla terza generazione. In parallelo, mediante analisi elettrofisiologiche, è stata valutata la plasticità sinaptica a livello ippocampale che è risultata alterata nei discendenti da madre alimentata con DRG. Per analizzare la neurogenesi adulta si effettueranno esperimenti di immunostochimica sul cervello della prole valutando la proliferazione e maturazione delle cellule staminali neurali nella zona sottogranulare dell'ippocampo. Inoltre, al fine di indagare se le alterazioni comportamentali e funzionali correlano con la modificazione della espressione di geni chiave, sarà realizzata un'analisi di espressione genica ad ampio spettro.

2. Verificare se i cambiamenti comportamentali e funzionali sono ereditati con un meccanismo di tipo epigenetico. Una volta individuati i principali geni modulati dalla DRG materna, analizzeremo le sequenze regolatorie degli stessi geni mediante immunoprecipitazione della cromatina. In questo modo individueremo le modificazioni epigenetiche (es. acetilazione e metilazione degli istoni) alla base delle alterazioni funzionali indotte dai nutrienti. Inoltre valuteremo

se queste modificazioni comportamentali ed epigenetiche sono ereditate in maniera trans-generazionale.

3. Studiare il declino cognitivo di un modello murino di malattia di Alzheimer's (MA) in topi nati da femmine alimentate con una DRG. Per investigare se le alterazioni cellulari e molecolari indotte nella prole dall'ipernutrizione materna sono potenzialmente in grado di accelerare il declino cognitivo patologico, effettueremo gli stessi esperimenti comportamentali ed elettrofisiologici menzionati nell'obiettivo 1 utilizzando un modello transgenico di MA (topo 3xTg-AD). Si analizzeranno se gli effetti deleteri della dieta materna possono accelerare la neurodegenerazione in questi topi e peggiorare il loro deterioramento cognitivo.

Daily at-home follow-up of Parkinson's Disease patients motor performance through robotic and portable devices

Responsabile: Dott. Mario Tombini.

Il progetto di ricerca, si svolge in collaborazione con l'Unità di Ricerca di Neurologia e l'Unità di Ricerca di Robotica e Microingegneria Bio-Medica dell'Università Campus Biomedico di Roma.

Ricerca Traslazionale

Laboratorio di Brain Connectivity

Ministero della Salute - Bando Giovani Ricercatori Anno 2009. NEMESIS (NEurocontrolledMEchatronicprostheSIS)

Il progetto NEMESIS rappresenta il primo ambizioso tentativo di condurre prove cliniche per indagare l'usabilità e l'efficacia delle protesi di mano biomeccatroniche controllate dall'amputato attraverso elettrodi intraneurali impiantati nel sistema nervoso periferico (SNP).

L'obiettivo di ricollegare i nervi prossimali dell'arto amputato con una protesi biomeccatronica richiede da un lato la registrazione dei segnali motori efferenti dai muscoli (segnali elettromiografici, EMG) o dai nervi (segnali elettroencefalografici, ENG) e la decodifica di questi segnali per controllare la protesi di mano e dall'altro lato la stimolazione elettrica delle vie afferenti residue sulla base delle informazioni ottenute dai sensori presenti all'interno della protesi. Il progetto NEMESIS si propone quindi di affrontare il problema clinico di realizzare una protesi di mano che può essere controllata in modo naturale dall'amputato e che non venga percepita come un corpo estraneo.

Per la sperimentazione è stato selezionato un soggetto con amputazione transradiale della mano sinistra. Quattro elettrodi intrafascicolari TIME sono stati impiantati nei nervi ulnare e mediano di un amputato al fine di valutare la possibilità di ripristinare il feedback sensoriale naturale e di integrarlo nel loop di controllo EMG della protesi di mano. Durante la sperimentazione è stata utilizzata la protesi biomeccatronica Prensilia IH2 Azzurra, i segnali EMG utilizzati per controllare la protesi sono stati registrati con due amplificatori analogici Grass QP511 mentre la stimolazione elettrica dei nervi afferenti è stata effettuata con uno stimolatore elettrico Multichannel System STG4008. Quattro elettrodi TIME sono stati impiantati nella parte prossimale e distale del nervo mediano e ulnare del soggetto con una operazione chirurgica effettuata in anestesia generale. Sono stati scelti i nervi mediano e ulnare visto che le zone di innervazione di questi due nervi coprono quasi interamente i campi sensoriali del palmo della mano e delle dita. L'operazione chirurgica è durata 7 ore, considerando le procedure per l'esposizione dei nervi, l'impianto degli elettrodi, le procedure per garantire la stabilità degli elettrodi e la verifica del funzionamento degli elettrodi (misure di impedenza dei siti attivi). Dopo 30 giorni i quattro elettrodi sono stati rimossi. Il follow-up effettuato a distanza di 6 mesi dalla fine della sperimentazione non ha rivelato alcun problema clinico.

Sono stati sviluppati differenti protocolli sperimentali al fine di dimostrare che l'amputato ha potuto controllare la protesi in maniera più efficace grazie al feedback sensoriale e al relativo controllo bidirezionale. Durante tutti gli esperimenti, il partecipante è stato bendato e isolato acusticamente per eliminare il feedback visivo e uditivo e non ha effettuato alcuna pratica per controllare la protesi di mano ma ha imparato da solo come utilizzarla e controllarla bidirezionalmente.

L'analisi dei dati sperimentali ottenuti ha fornito riscontri scientifici confermano la possibilità di restituire, ad un soggetto rimasto vittima di amputazione di arto superiore, sensazioni tattili e capacità di manipolazione di oggetti vicine all'esperienza naturale. I risultati ottenuti durante la sperimentazione NEMESIS sono stati pubblicati.

Il paziente, in particolare, è stato rapidamente in grado di:

- combinare le aree sensoriali in modo da gestire in modo adeguato la forza esercitata durante la presa di differenti oggetti;
- distinguere la diversa consistenza di oggetti duri, intermedi e morbidi (con oltre il 78.7% di

accuratezza);

- riconoscere le dimensioni e le forme degli oggetti afferrati, come il cilindro di una bottiglia, la sfera di una pallina da baseball o l'ovale di un mandarino (con l'88% di accuratezza);
- capire la posizione di un oggetto rispetto alla mano e di conseguenza inviare alla protesi il comando più appropriato per realizzare la presa più adeguata (con il 97% di accuratezza);
- autocorreggere un errore nell'applicazione del livello di forza pressoria sull'oggetto durante il movimento stesso, grazie a un flusso di comunicazione tra la protesi e il cervello con tempi di reazione inferiori ai 100 ms;
- gestire in tempo reale differenti livelli di pressione per le due diverse parti sensorizzate (indice-pollice, mignolo) durante una presa palmare (93% di accuratezza).

Prima degli esperimenti con la protesi è stato condotto un periodo di test degli elettrodi durante il quale è stata caratterizzata la relazione che intercorre tra i parametri di stimolazione dei treni di impulsi elettrici bifasici catodici (durata, frequenza, ampiezza) e la sensazione riportata dal soggetto in seguito alla stimolazione (tipo, posizione, intensità). L'intensità della sensazione evocata veniva riportata dal soggetto in una scala da 1 (minima sensazione percepita) a 10 (ultima sensazione prima del dolore). Alla fine di tale periodo sono stati selezionati per la stimolazione elettrica 2 siti attivi degli elettrodi TIME: la stimolazione di uno di questi produceva una sensazione di tatto sul pollice e sull'indice della mano fantasma, mentre la stimolazione dell'altro produceva una sensazione di tatto sul mignolo. È stata trovata una relazione lineare tra l'ampiezza della corrente di stimolazione e l'intensità della sensazione elicitata. Il soggetto è stato in grado di controllare con precisione la forza della presa, in entrambe le prove (scala e random). I risultati mostrano chiaramente come l'amputato poteva produrre tre livelli di forza sia durante la presa pinza che durante e prese ulnare e palmare con un tasso di successo superiore al 90%. Nessun controllo di forza era invece possibile quando veniva disabilitato il feedback sensoriale. Le prestazioni rimanevano invece elevate quando la velocità di controllo della mano veniva cambiata senza avvisare l'utente. La precisione dell'amputato nell'esecuzione dei compiti richiesti è aumentata dal primo giorno fino alla fine dell'esperimento, a dimostrazione del fatto che il soggetto aveva subito un chiaro processo di apprendimento a seguito della integrazione delle informazioni sensoriali, elicitate attraverso il feedback sensoriale, nelle strategie di controllo a ciclo chiuso. È inoltre emerso che il compito di controllo di forza veniva eseguito dal soggetto in modo simile se eseguito con la mano sana o con quella protesica controllata in modo bidirezionale. Una notevole differenza è stata invece riscontrata con la mano protesica senza il feedback sensoriale. Il soggetto era in grado di eseguire il compito di esplorazione funzionale con un'accuratezza media del 97%.

Sorprendentemente, il soggetto è stato in grado di identificare oggetti con diversa rigidità dopo solo tre sessioni. Come previsto, la lettura del sensore nella mano differiva significativamente con la rigidità dell'oggetto: con l'oggetto più rigido, infatti, l'uscita del sensore (e quindi l'intensità di corrente) raggiunge la saturazione più rapidamente. Il valore della derivata media dell'ampiezza della corrente è risultata statisticamente differente per diverse rigidità ($p < 0,001$). È ragionevole ipotizzare che il soggetto abbia sfruttato queste informazioni per distinguere gli oggetti presentati. Infatti, il parametro che veniva utilizzato dall'amputato per distinguere la rigidità degli oggetti è stata proprio la pendenza media della curva forza-tempo associata al polpastrello durante la manipolazione di un oggetto. Infine, il soggetto è risultato in grado di classificare correttamente oggetti con tre forme diverse con un'accuratezza media del 88%. Per raggiungere questa capacità di discriminazione l'amputato utilizzava probabilmente il ritardo percepito tra il contatto dell'indice e il contatto del mignolo con la superficie dell'oggetto. Questo ritardo era infatti statisticamente differente tra l'oggetto sferico e quello cilindrico ($p < 0,01$).

La capacità del soggetto di controllare con precisione la forza esercitata durante una presa e di identificare le proprietà fisiche degli oggetti sono importanti evidenze dell'impatto che l'approccio investigato durante il progetto NEMESIS potrebbe avere in applicazioni cliniche/protesiche reali. In particolare, il soggetto era in grado di integrare efficacemente stimoli sensoriali iniettati nei diversi nervi. Il modo in cui l'utente integrava le informazioni sulla rigidità è simile a quello utilizzato da persone non affette da amputazione. Riconoscere forme diverse è il risultato di una

parti della mano è possibile riconoscere la forma di alcuni oggetti.

L'approccio adottato durante il progetto NEMESIS, e verificato durante il primo impianto di elettrodi nel SNP di amputati, apre quindi nuove possibilità per lo sviluppo di un controllo bidirezionale naturale ed efficace di protesi di mano.

Nel corso dei due anni si sono portate avanti numerose altre sperimentazioni per nuove modalità di impianti e software di stimolazione e codifica dei segnali neuronali che hanno portato a fine 2015 all'arruolamento di un successivo soggetto che è ad oggi ancora sotto sperimentazione dopo l'intervento di impianto di nuovi elettrodi.

Ruolo dello stato ossido-riduttivo di HMGB1 nella rigenerazione cardiaca e nella funzione delle cellule progenitrici cardiache

Destinatario Istituzionale: Centro Cardiologico Monzino-IRCCS

L'infarto del miocardio è associato a stress ossidativo e ad una risposta infiammatoria acuta che ha come conseguenza la sostituzione dei cardiomiociti morti con tessuto fibroso. Recentemente è stato dimostrato che il cuore è un organo dinamico in cui la spontanea rigenerazione dei miociti è il maggiore determinante della omeostasi cardiaca sia in condizioni fisiologiche che patologiche. Tuttavia, il cuore adulto è incapace di andare incontro a rigenerazione completa nel caso di un danno esteso, come può avvenire in caso di infarto, e quindi strategie per massimizzare la risposta riparativa sono necessarie.

La rigenerazione cardiaca è mediata da cellule progenitrici cardiache multipotenti (CPCs), residenti nel cuore, che sono responsabili della formazione dei nuovi miociti e vasi. Due sono le strategie adottate per indurre rigenerazione cardiaca: trapianto di CPCs o induzione delle CPCs endogene mediante fattori di crescita o citochine. La proteina HMGB1 (High mobilitygroup B1) rappresenta uno di tali fattori. HMGB1 è una proteina nucleare che funziona anche come una allarmina extracellulare capace di promuovere la rigenerazione tissutale e la cui attività dipende dal suo stato ossido-riduttivo e quello dell'ambiente circostante.

Studi recenti hanno dimostrato che la somministrazione di una isoforma ridotta di HMGB1 (wtHMGB1) in un modello murino di infarto acuto o di scompenso cardiaco sia in grado di indurre proliferazione e differenziamento delle CPCs endogene con conseguente rigenerazione del tessuto danneggiato e miglioramento funzionale. La generazione di specie reattive dell'ossigeno durante tali processi potrebbe comunque ossidare wtHMGB1 e limitare la sua emivita e funzionalità. A tale scopo, è stato generato un mutante di HMGB1 (HMGB1C3S) in cui i tre residui di cisteina sono stati sostituiti con residui di serina e quindi non suscettibile alle modificazioni redox che l'ambiente può indurre. È stato ipotizzato che le diverse forme ossidate e ridotte di HMGB1 possano influenzare diversamente la migrazione, proliferazione e differenziamento cellulare e quindi il rimodellamento e la rigenerazione cardiaca in seguito ad infarto del miocardio.

I principali obiettivi di questo progetto sono:

- Studiare la capacità delle forme ossidate e ridotte o dei corrispondenti mutanti ricombinanti di HMGB1 di modulare le funzioni biologiche delle CPCs, dei fibroblasti cardiaci e delle cellule endoteliali in vitro.

- Studiare gli effetti dello stato ossido-riduttivo di HMGB1 sulla rigenerazione cardiaca e vascolare and sul rimodellamento del ventricolo sinistro dopo infarto del miocardio in vivo.

- Studiare la capacità delle isoforme ossidate e ridotte di HMGB1 di attivare RAGE e attraverso questo recettore influenzare i meccanismi di riparo e rigenerazione cardiaca.

Studi recenti hanno dimostrato che la somministrazione di HMGB1 in un modello murino di infarto acuto o di scompenso è in grado di indurre proliferazione e differenziamento dei CPC endogeni con conseguente rigenerazione del tessuto danneggiato e miglioramento funzionale.

L'Unità Operativa afferente all'IRCCS San Raffaele Pisana ha come obiettivo l'analisi delle differenti forme redox della proteina HMGB1 sulla rigenerazione cardiaca dopo infarto acuto del miocardio. In particolare, vengono utilizzate le seguenti forme: la forma parzialmente ossidata (HMGB1wt), la forma ridotta (HMGB1C3S) e la forma inattiva (HMGB1C106E).

L'Unità Operativa ha come obiettivo l'analisi delle differenti forme redox della proteina HMGB1

sulla rigenerazione cardiaca e vascolare dopo infarto acuto del miocardio in topi wt e Rage^{-/-} (in collaborazione con l'UO1-4).

Nel corso dei primi 18 mesi, è stato valutato l'effetto delle tre forme redox di HMGB1 sul differenziamento in senso cardiomiocitario e vascolare dei CPCs. In particolare, l'infarto del miocardio è stato indotto nei topi mediante legatura della coronaria discendente sinistra. I topi sono stati suddivisi in 3 gruppi (n=6 topi/gruppo) e i cuori danneggiati sono stati trattati, mediante iniezione intramiocardica, con le tre forme redox di HMGB1, l'isoforma ridotta (wtHMGB1), il mutante non ossidabile (HMGB1C3S) e la forma inattiva (HMGB1C106E). Un quarto gruppo di animali trattati con la proteina denaturata è stato preparato come gruppo di controllo aggiuntivo rispetto a quello trattato con la forma inattiva HMGB1C106E. Tre giorni dopo l'infarto e il trattamento, i cuori sono stati prelevati e perfusi con collagenasi per poter separare i cardiomiociti dalle CPCs. In seguito ad estrazione dell'RNA dalle CPCs, sono state effettuate delle RT-PCR per determinare il livello di espressione in queste cellule di tre marcatori precoci del differenziamento cardiomiocitario, endoteliale e muscolare liscio ovvero Tbx5, Tie2 e smMHC, rispettivamente. I risultati ottenuti non hanno dimostrato alcuna differenza nell'espressione dei tre marcatori precoci del differenziamento cardiovascolare tra i cuori trattati con wtHMGB1 e HMGB1C3S (Fig.7, Media±SE). In seguito si valuterà l'effetto delle isoforme redox di HMGB1 sull'infiammazione e funzionalità cardiaca di topi Rage^{-/-}.

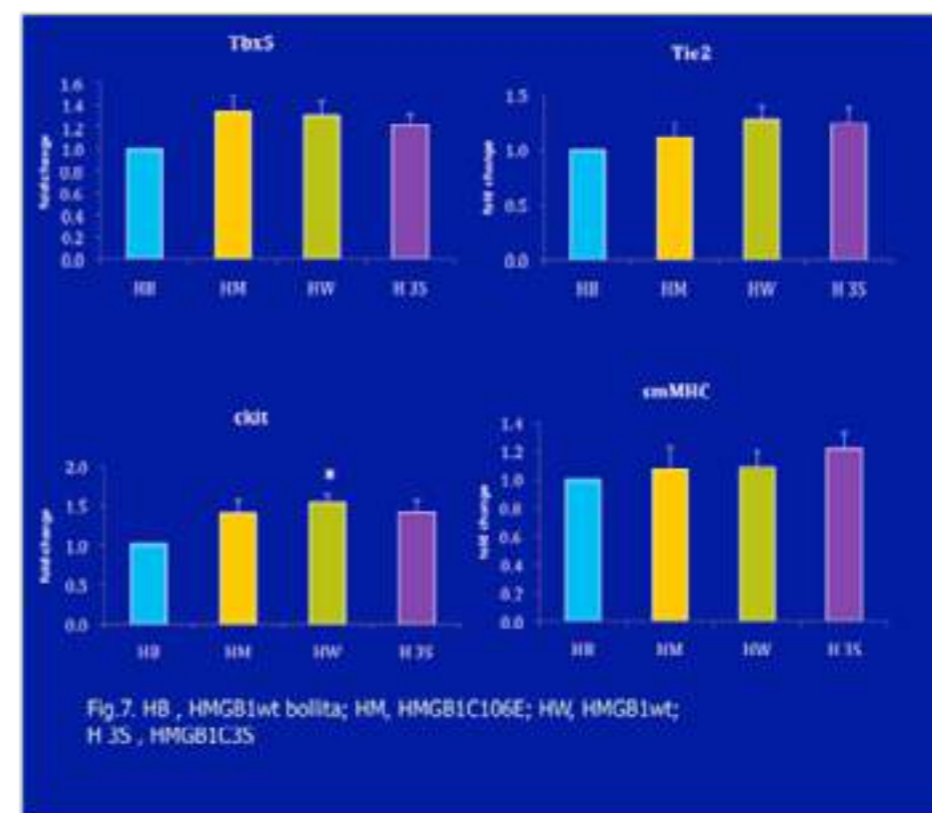


Fig.7. HB, HMGB1wt bolita; HM, HMGB1C106E; HW, HMGB1wt; H3S, HMGB1C3S

miRNAs del tessuto adiposo: legame tra insulino resistenza nel diabete di tipo 2 e malattia vascolare

Destinatario Istituzionale: Istituto Dermopatico dell'Immacolata (IDI) -IRCCS

L'aumento del rischio di malattie cardiovascolari associato alla resistenza all'insulina (IR) e al diabete di tipo 2 (T2D) è stato attribuito alla disfunzione vascolare, che comprende una pluralità di alterazioni funzionali nell'endotelio vascolare, quali la diminuita vasodilatazione e un'alterata

angiogenesi e rimodellamento vascolare.

La patogenesi della disfunzione vascolare è molto complessa; tuttavia l'aumento della produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) è la causa della compromissione della via di traduzione del segnale dell'insulina attraverso l'inibizione dell'asse dei recettori insulinici (IRS)/trasportatori di glucosio (GLUT) e deregolazione dei fattori endocrini e paracrini derivanti dagli adipociti (adipochine). Queste ultime, a loro volta, distruggono l'omeostasi vascolare riducendo la quantità di ossido nitrico (NO) endoteliale disponibile che è richiesto per il rilassamento vascolare e la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule endoteliali (EC), e compromettendo la vasodilatazione endotelio-dipendente stimolata dall'insulina.

L'iperglicemia è la principale causa della produzione di stress ossidativo.

Recentemente è stato dimostrato che il deposito di grasso locale attorno ai vasi arteriosi, il tessuto adiposo perivascolare (PAT), abbia un ruolo importante nelle malattie vascolari associate con l'obesità. La maggior parte delle arterie e delle vene con diametro superiore a 100 micron sono, infatti, circondate dagli adipociti. Luoghi noti per il PAT comprendono le coronarie, l'aorta ed i letti microvascolari del tessuto mesenterico, muscolare e adiposo. Una caratteristica unica del PAT è che gli adipociti non sono separati dalla parete del vaso sanguigno da uno strato fasciale, ma invadono la regione avventiziale, permettendo così un facile accesso dei fattori secreti dal PAT nei vasi sanguigni. Negli individui sani, il PAT ha un effetto anticontrattile mentre le adipochine aberranti derivate dal PAT sono cause importanti di sviluppo della disfunzione endoteliale.

Molecole di grande importanza che sono deregolate in molti processi patologici incluso il diabete sono i microRNA (miRNA).

Queste sono molecole di RNA di 21-23 nucleotidi che regolano la stabilità o l'efficienza traduzionale degli RNA messaggeri bersaglio. I miRNA controllano un'ampia gamma di funzioni cellulari e sono stati associati ad infiammazione, stress ossidativo, danneggiamento dell'adipogenesi e del segnale di trasduzione dell'insulina.

L'obiettivo principale di questo progetto è quello di indagare il ruolo e l'espressione di specifici miRNA sia nel PAT che nelle cellule vascolari nelle disfunzioni vascolari associate con IR e T2D. In particolare ci si è concentrati sul ruolo della famiglia dei miR-200 e del miR-216/217.

Il gruppo ha precedentemente dimostrato che la famiglia dei miR-200 (che comprende 5 membri: miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141, miR-429) è indotta in EC in seguito all'aumento dello stress ossidativo e in un modello murino di ischemia dell'arto. In particolare, in EC uno dei membri della famiglia, il miR-200c, risulta essere il più indotto e gioca un ruolo fondamentale nell'inibizione della proliferazione, della morte e della senescenza cellulare, attraverso l'inibizione della proteina bersaglio ZEB1.

Per cui si ipotizza che i topi diabetici, che mostrano più stress ossidativo rispetto ai topi normoglicemici, mostrino un aumento dell'espressione della famiglia miR-200 rispetto ai topi normoglicemici sia in condizioni basali che dopo ischemia dell'arto posteriore, dando una possibile spiegazione alla disfunzione vascolare.

In particolare, il laboratorio ha scoperto che i recettori dell'insulina (IRS) sono potenziali target dei miRNA della famiglia miR-200 e inoltre in EC sovraesprimenti miR-200c l'espressione di molecole infiammatorie è significativamente aumentata. Inoltre, il TNFα derivato dal tessuto adiposo, i cui livelli sono aumentati nell'obesità, è un potente induttore del gene soppressore tumorale p53 che il nostro studio ed altri hanno dimostrato essere necessario per l'aumento dell'espressione della famiglia miR-200. Il possibile coinvolgimento della famiglia dei miR-200 nell'obesità e nei disturbi correlati all'obesità, quali l'insulino-resistenza, è corroborato dal fatto che il locus cromosomico 10p12, che è stato collegato all'obesità comprende il gene di ZEB1. Pertanto è possibile ipotizzare che una deregolazione dell'asse miR-200/ZEB1 potrebbe essere coinvolto nello sviluppo dell'obesità e dell'insulino resistenza.

I miRNA più significativamente up-regolati nell'invecchiamento sono miR-217 e miR-216. MiR-216a e miR-217; hanno una struttura genica conservata in diverse specie ed entrambi si trovano nel secondo introne di un RNA non codificante nel cromosoma 2 umano e nel cromosoma 11 murino. E' stato dimostrato precedentemente che miR-217 inibisce il silent information regulator

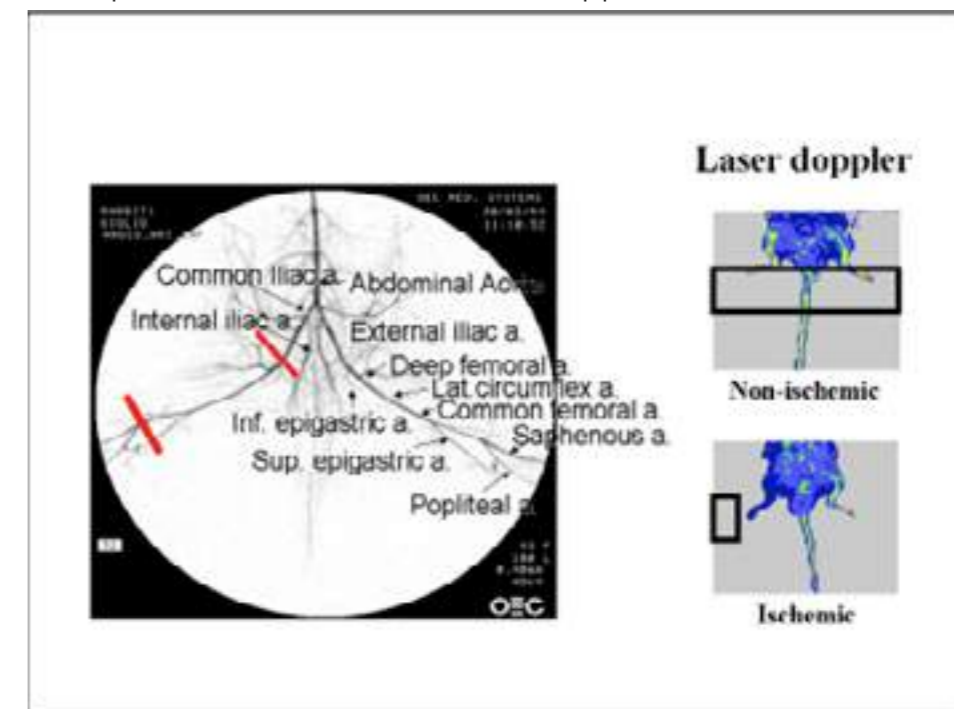
progressivamente durante l'invecchiamento. miR-217 agisce anche come regolatore negativo dell'angiogenesi e della crescita vascolare attraverso la perdita della funzione della deacetilasi SirT1 sul suo principale target: il fattore di trascrizione FoxO1.

SirT1 regolando FoxO1 modula l'espressione di molteplici geni coinvolti nell'omeostasi vascolare endoteliale e nel rimodellamento come l'angiopoietina 2 (Angp2) e l'ossido nitrico sintasi endoteliale (eNOS).

L'analisi computazionale suggerisce che LC3, Beclin 1 e Atg5 sono bersagli potenziali di miR-216, e Atg1 è un target putativo sia di miR-216 che di miR-217. E' interessante notare, che questi geni sono implicati nell'autofagia cellulare che è un processo coinvolto nella degradazione di componenti cellulari. Pertanto, si ipotizza che il cluster miR-216/miR-217 potrebbe essere coinvolto nel controllo autofagico direttamente o indirettamente tramite SirT1 e che diverse complicanze del diabete sono associate all'espressione aberrante di miR-216 e/o miR-217. Lo stress ossidativo e l'autofagia sono strettamente correlati poiché l'autofagia è responsabile anche della degradazione di organelli come i mitocondri, che sono i siti di produzione di ROS. Una compromissione dell'autofagia, infatti, provoca un accumulo di mitocondri disfunzionali che porta ad una maggiore produzione di ROS. E' importante sottolineare che nel diabete l'autofagia è alterata con conseguente incremento dei ROS.

Dato il ruolo della famiglia dei miR-200 e miR-216/217 nello stress ossidativo e nelle risposte all'iperglicemia, si è ipotizzato che essi potrebbero essere comuni regolatori del crosstalk tra PAT e la patogenesi della disfunzione vascolare causata dallo stress ossidativo prodotto dalle cellule vascolari tipicamente associata all'IR e al T2D.

Nello specifico, l'Unità Operativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana, nel corso dell'anno 2015 ha messo a punto la metodica di ischemia dell'arto inferiore in un modello murino, che successivamente utilizzata per gli esperimenti con l'antimiRin vivo per valutare gli effetti sull'angiogenesi. Tale metodica viene effettuata tramite la dissezione dell'arteria iliaca femorale, la mancata perfusione dell'arto viene poi controllata mediante laser doppler.



Hypoxia, inflammation and redox status as determinants of malignant progression of cancer stem cells

Il progetto di ricerca si svolge in collaborazione con il Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare dell'Istituto Superiore di Sanità e con il Laboratorio di Fisiopatologia Cellulare e Molecolare, Dipartimento di Scienze Chirurgiche e Oncologiche dell'Università degli Studi di Palermo.



Area di Ricerca Neuromotoria

PROGETTO CONTO CAPITALE MINISTERO DELLA SALUTE

Riabilitazione robot-assistita dell'arto superiore: nuove prospettive di trattamento e di ricerca

L'assistenza sanitaria in Italia deve affrontare una crescente domanda di necessità d'assistenza innovativa e ad alto contenuto tecnologico con un approccio multidisciplinare del paziente mirato a una sempre maggiore efficacia in tema di outcome e qualità della vita, con una riduzione complessiva dei costi. Con una popolazione che invecchia sempre più, con un'elevata incidenza di persone colpite da danni neurologici sia in fase acuta che cronica e un aumento dell'attesa di vita, i sistemi welfare devono affrontare problemi di supporto sociale, salute e disabilità. Uno dei grandi limiti fino ad oggi nella valutazione degli outcome dei trattamenti riabilitativi e nel miglioramento dei risultati attesi è legato all'uso di valutazioni funzionali con scale cliniche di natura osservazionale (Fugl-Meyer, Chedoke, etc.) che non sempre sono efficaci nel predire e nel modificare l'approccio terapeutico dei soggetti trattati. Negli ultimi anni studi clinici hanno dimostrato sempre più che l'esercizio fisico, quando eseguito mediante movimenti volontari, promuove il recupero funzionale dopo lesioni traumatiche del sistema nervoso centrale (Jones 1999), stimolando a tale livello anche il processo di neurogenesi (Kempermann 2000), oltre a promuovere la plasticità neurale (Gomez-Pinilla 2002). Per massimizzare il recupero funzionale del paziente, la neuroriabilitazione si sta quindi sempre più concentrando su percorsi di eccellenza mirati a un recupero funzionale con esercizi motori volontari e finalizzati mediante diversi approcci come la robotica e la realtà virtuale (Franceschini 2009, Sale 2011, 2013). E' stato dimostrato che questi nuovi approcci terapeutici favoriscono la riorganizzazione corticale (Franceschini Sale 2011, Franceschini 2009, Nudo 1999, Staines 2001). Il sempre maggiore utilizzo di tecniche neurofisiologiche come l'EEG, la TMS hanno portato inoltre nella pratica clinica all'integrazione di nuovi percorsi terapeutici combinati che possono dare indicazioni importanti sull'andamento dei trattamenti con la possibilità di modificarli e renderli sempre più efficaci in termini di plasticità e recupero funzionale. Un utilizzo sinergico di sistemi robotici e di realtà virtuale immersiva, dunque, potrebbe permettere lo svolgimento di una terapia con il massimo coinvolgimento durante l'esercizio riabilitativo anche dei pazienti con gravi deficit motori, stimolando al meglio l'attivazione dei meccanismi sottostanti la neuro plasticità funzionalmente legata al recupero (Rahman e Shaheen 2011, Brüttsch et al., 2010, Mirelman et al., 2009). Queste nuove piattaforme di riabilitazione multimodale per la terapia motoria e cognitiva ci permetteranno di arricchire le procedure cliniche attualmente utilizzate al trattamento neuro-riabilitativo con una serie di benefici dimostrati, in termini di risultati sul paziente e di costi/benefici. L'utilizzo nella pratica clinica di questi sistemi integrati permette di avere risultati efficaci in ambito di recupero funzionale e cognitivo, con dei costi limitati (Krebs et al., 2011) e permette lo svolgimento di terapie in ambiente ecologico con il risultato di un trattamento sempre più motivato e che dà risultati maggiori in termini di recupero del gesto funzionale. Il presente progetto vede la collaborazione dell'IRCCS San Raffaele Pisana e di alcuni Istituti di riabilitazione di Fondazione Salvatore Maugeri, dell'IRCCS Casimiro Mondino. Le tecnologie robotiche e quelle di realtà immersiva impiegate nel presente progetto, sono introdotte in integrazione e/o in aggiunta ad altre già presenti. L'IRCCS San Raffaele Pisana accreditato per la riabilitazione neuromotoria Pediatrica e dell'Adulto è un centro all'avanguardia del trattamento riabilitativo delle disabilità di origine neurologica, neuromuscolare e ortopedica. Nell'ambito della rete clinica-assistenziale riabilitativa l'IRCCS San Raffaele Pisana è uno dei centri di eccellenza della Regione Lazio accreditato per il trattamento riabilitativo in regime di

Ricovero Ospedaliero, Day Hospital e Regime Estensivo. Attualmente sono in corso trials clinici di tipo farmacologico e riabilitativi per la gestione motoria e non della malattia di Parkinson, dello Stroke, della Sclerosi Multipla e delle disabilità dell'infanzia. L'IRCCS San Raffaele Pisana è inserita in una rete di percorsi assistenziali che consentono tempestivi trasferimenti dalla fase acuta a quella riabilitativa con l'obiettivo di concludere l'iter sanitario con un intervento riabilitativo che possa condurre la persona assistita al raggiungimento del suo massimo recupero possibile sul piano sia motorio che, soprattutto, delle capacità di riprendere autonomamente le sue principali attività nella vita quotidiana. L'organizzazione riabilitativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana consente al suo interno un percorso riabilitativo completo e globale sia per le persone adulte che per i bambini. Tale rete include diversi ospedali tra cui le principali collaborazioni sono con gli Ospedali San Camillo, Fatebenefratelli (Isola Tiberina), Policlinico Universitario Campus Bio-Medico, Policlinico Universitario Gemelli, Ospedale Bambino Gesù, Policlinico Universitario Tor Vergata, Policlinico Universitario Sant'Andrea, Ospedale di Cassino, Aurelia Hospital. Nell'ambito di questa rete sono stati attuati dei protocolli di collaborazione in ambito assistenziale che consentono la presa in carico precoce del malato, la gestione di studi clinici e lo sviluppo di nuovi percorsi e nuove strategie terapeutiche e/o tecnologiche. L'IRCCS inoltre è sede elettiva per le scuole di Specializzazione e per i Corsi di Laurea breve in ambito sanitario e Riabilitativo dell'Università degli Studi di Tor Vergata e della Università Sapienza.

Obiettivo di questo studio è creare un sistema integrato di trattamento e valutazione per i soggetti ricoverati al fine di mettere in atto cure sempre più mirate al raggiungimento del recupero funzionale dell'arto superiore. L'ottimizzazione di una piattaforma riabilitativa basata su diversi sistemi robotici, ciascuno dei quali progettato per specifiche funzioni sia per l'arto superiore (spalla gomito polso e mano), implementati con sistemi di realtà virtuale, ne permette l'utilizzo su un ampio numero di disabilità sia del bambino, come la Paralisi Cerebrale Infantile che nel soggetto adulto con disabilità neuromotorie su qualsiasi basi esse siano (acute vascolari, infettive, neurodegenerative, etc.). In particolare, ci si propone la costituzione di una piattaforma avanzata di Robotica Immersiva con un sistema di valutazione della plasticità mediante l'implementazione e l'integrazione di sistemi di cui si è già in possesso (Robot Mit Manus, Erigo, Amadeo, Robot Script) e con sistemi da acquisire (haptic Master, Armeo Springe) e con sistema di realtà virtuale immersiva e sistemi di valutazione come EEG ed EMG che permettano da una parte una valutazione mirata e dall'altra un nuovo approccio più efficace nel recupero funzionale dell'arto superiore, e dei deficit cognitivi in pazienti con disabilità neurologiche e ortopediche. La piattaforma robotica immersiva permette di misurare durante l'interazione con il paziente le variabili cinematiche e dinamiche d'interesse clinico, collaborando così alla valutazione quantitativa degli specifici meccanismi fisiologici, dei recuperi spontanei e dell'abilità funzionale (Zollo, Rossini et al., 2011, Mazzoleni, Sale et al., 2011, Sale et al 2013). L'originalità della piattaforma integrata di trattamento e valutazione e la base scientifica internazionale dei dati finora prodotti sia dal gruppo dell'IRCCS San Raffaele, sia da altri gruppi permettono un immediato utilizzo e un'immediata ricaduta nel trattamento e valutazione delle disabilità neuro-motorie.

L'ingresso di tecnologie riabilitative innovative che supportano il trattamento nella pratica clinica da qualche anno ha infatti sempre più contribuito a identificare i trattamenti adeguati e assicurare risultati positivi, in termini di sostenibilità finanziaria, equità e integrazione degli interventi. La flessibilità dell'apparecchiatura scelta inoltre permette l'utilizzo di queste apparecchiature su un'ampia casistica. I sistemi di realtà virtuale immersiva scelti, infatti, offrono in particolare il massimo della flessibilità nell'integrare un'ampia tipologia di scenari, esercizi e possibilità d'interazione con altri sistemi di assistenza e valutazione. Tale flessibilità permette, inoltre, di integrare trattamenti riabilitativi sperimentali e nuovi protocolli riabilitativi, ampliandone e migliorandone di volta in volta le capacità di coinvolgimento dei pazienti. Nella pratica clinica l'attuazione di attività rieducativa con sistemi di realtà virtuale per incentivare la funzionalità dell'arto superiore, mediante la somministrazione di esercizi specifici e customizzati sul singolo soggetto, porta il paziente a sentirsi in un contesto di vita quotidiana determinando una maggior significatività per i sistemi cerebrali favorendo i meccanismi di plasticità neuronale e quindi le possibilità di re-

cupero. Dal punto di vista dei costi benefici il trattamento è più efficace e motivante in quanto il singolo terapeuta può gestire in contemporanea più trattamenti riabilitativi in Ospedale. La scelta di utilizzare un sistema programmabile e gestibile da remoto permette di migliorare l'intervento sulla base della reale disabilità con una scelta più raffinata di strumenti e programmi che permettono un recupero mirato e più efficiente della persona con disabilità. Questo approccio integrato è a disposizione della rete riabilitativa del SSN per una più efficace gestione dei pazienti in termini sia di costi che di benefici per tutti coloro che accederanno a questi trattamenti innovativi dal punto di vista metodologico che di valutazione.

I risultati ottenuti dalla pratica clinica contribuiscono anche ad aumentare l'efficacia e la qualità dei servizi sanitari, per migliorare l'offerta complessiva di tali servizi per il paziente e, di conseguenza, a definire le future linee guida per l'ottimizzazione delle risorse di riabilitazione.

Il progetto è organizzato secondo i seguenti workpackages:

1. Integrazione di un sistema di realtà immersiva con dispositivo robotico a 2 gradi di libertà.
2. Integrazione di un sistema di realtà immersiva con dispositivo robotico a 3 gradi di libertà.
3. Sviluppo di esercizi per il training ADL mediante l'ambiente di realtà immersiva.

L'IRCCS San Raffaele Pisana è dotato di un sistema robotico InMotion 2 end-effector per la spalla e il gomito progettato dal MIT (Massachusetts Institute of Technology, Boston, USA), di un Robot per la verticalizzazione precoce dei gravi cerebrolesi con movimentazione passiva dell'arto inferiore Erigo (Hocoma AG, Volketswil, Svizzera) di un robot end-effector per l'arto inferiore G-EO-Systems (Reha Technology AG Zurigo), di un robot per la mano AMADEO e di un robot per la mano SCRIPT. Inoltre è dotato di un sistema di rieducazione posturale mediante pedana stabilometrica robotizzata (Biodex) e di Gait Trainer (Biodex) a bassissima velocità con feedback audio-video molto utile nel recupero del cammino ed in particolare nei pazienti con Parkinson. Nell'ambito dell'analisi strumentale l'IRCCS San Raffaele Pisana è dotato di un laboratorio per la valutazione quantitativa tridimensionale della postura e del movimento (composto da un sistema optoelettronico a 12 Telecamere per la valutazione della cinematica del movimento, 2 piattaforme di forze per la rilevazione dello scambio di forze durante l'esecuzione del gesto motorio, un sistema di elettromiografia di superficie, un sistema di ripresa video, un sistema di misura della distribuzione delle pressioni e di un ergospirometro per lo studio del costo energetico associato al movimento) ed un sistema di cinematica dedicato alla valutazione di movimenti fini. Tale tecnologia è attualmente utilizzata nella routine della pratica clinica per le valutazioni quantitative pre e post trattamenti specifici avvalendosi di protocolli internazionali validati. La struttura inoltre è dotata di un sistema di EEG/EMG a 64 canali e di un sistema di tDCS (per stimolazione trans-cranica di corrente elettrica) e di un sistema di TMS (stimolazione magnetica trans-cranica) correlata di un neuro-navigatore. Da ultimo, nella rete San Raffaele sono operative metodiche di functional MRI che permettono l'analisi di attivazione di aree cerebrali task-specifiche con cui valutare nel tempo l'impatto delle metodiche neuro riabilitative robot-assistite.

Nella struttura sono operativi diversi protocolli di eccellenza del trattamento riabilitativo e di ricerca clinica sull'utilizzo avanzato del robot, sia per l'arto superiore che inferiore, nei pazienti con Stroke, Parkinson, Sclerosi Multipla e Paralisi Cerebrali Infantili e mediante l'utilizzo di stimolazione audio visive dei neuroni mirror in pazienti con esiti di stroke e con Parkinson per il miglioramento della destrezza e dei movimenti fini. Risultati importanti in questo campo sull'utilizzo clinico su larga scala sono stati pubblicati dal nostro gruppo su riviste internazionali. Nell'ambito della pratica clinica il trattamento con questi sistemi robotici per l'arto superiore e per l'arto inferiore è normalmente prescritto ed utilizzato sui pazienti ricoverati (in degenza ordinaria e Day Hospital). La somministrazione dei compiti motori è eseguita con l'ausilio di un sistema di realtà virtuale immersiva che consente la creazione di ambienti virtuali interattivi proiettabili su superfici orizzontali e verticali. In tal modo, potranno essere creati esercizi specifici per le diverse problematiche attentive e motorie associate alla disabilità ed alle abilità residue del paziente. Grazie ad uno specifico dispositivo optoelettronico a raggi infrarossi, il paziente è in grado di interagire attraverso il semplice movimento sottoposto a trattamento.

Gli specifici esercizi riabilitativi presentano diverse modalità di interazione e livelli di difficoltà

crescenti, tra cui la riproduzione di situazioni tipiche delle attività della vita quotidiana (ADL). Inoltre, ciascun sistema è caratterizzato da numerosi feedback sensoriali tra cui quello aptico, ottenuto grazie all'abbinamento con il dispositivo robotico in uno spazio di lavoro a 2 (2D) oppure a 3 dimensioni (3D). Rispetto ad un approccio terapeutico convenzionale, il paziente riceve in questo modo maggiori stimoli cognitivi e motori che influiranno sul profilo motivazionale.

I protocolli di trattamento prevedono l'esecuzione di almeno una seduta di esercizio al giorno per almeno 5 settimane di trattamento in aggiunta alla consueta terapia fisica.

Il presente progetto svolge un ruolo importante nel raggiungimento di questi obiettivi giacché contribuisce a migliore percorsi terapeutico/riabilitativo per i pazienti con esiti di danni neurologici. Il trattamento riabilitativo con il supporto di nuovi sistemi tecnologici integrati in ospedale per la terapia motoria e la valutazione funzionale permettono di pianificare un programma di riabilitazione specifico per ciascun paziente: questo è in accordo con la Classificazione Internazionale del Funzionamento, Disabilità e Salute (ICF), basata sul ruolo centrale della persona nei processi della salute e del benessere. Con una popolazione che invecchia sempre più, con una elevata incidenza di persone colpite da un danno neurologico e un aumento della attesa di vita, i sistemi welfare devono affrontare problemi di supporto sociale, salute e disabilità. Dal punto di vista dei costi benefici il trattamento risulta più efficace e motivante e il singolo terapista può gestire in contemporanea più trattamenti robotici. Da un'analisi dei costi, con l'introduzione di trattamenti riabilitativi robotici si riesce a fornire un numero maggiore di trattamenti al singolo paziente e dato non sottovalutabile trattamenti altamente specifici e motivanti. La scelta di allargare il "parco-macchine" con robot esoscheletrici attivi e passivi (Armeo spring) e con un sistema robotico di tipo aptico (Haptic Master), e con 2 sistemi di realtà virtuale, 1 sistema di elettromiografia di superficie e 1 sistema di EEG permette di migliorare l'intervento sulla base della reale disabilità con una scelta più raffinata di strumenti e programmi che permettono un recupero mirato e più efficiente della persona con disabilità. L'integrazione di questi sistemi con nuovi scenari dati dalla realtà virtuale e immersiva (nirvana bts) permette una migliore stimolazione del paziente e permette l'integrazione di diversi sistemi che attuando strategie diverse permettono il raggiungimento del risultato atteso. Questo approccio integrato è a disposizione della rete riabilitativa del SSN per una più efficace gestione dei pazienti in termine sia di costi che di benefici per tutti coloro che accederanno a questi trattamenti innovativi dal punto di vista metodologico che di valutazione.

I risultati del progetto volgono in tre direzioni:

- al sistema sanitario nazionale: il progetto consente di sostanziare e consolidare le strategie attualmente impiegate per i trattamenti di terapia robot-assistita, di sviluppare e validare nuovi protocolli di trattamento resi disponibili all'intera rete e condivisi anche da altre strutture sanitarie.
- addestramento dei riabilitatori: i risultati e le esperienze acquisite nell'ambito della rete possono essere impiegati da terapisti e riabilitatori nell'ambito di specifiche esperienze educative.
- società: i risultati del progetto risultano evidenti anche a livello sociale; infatti l'ottimizzazione del percorso riabilitativo ottenuto grazie alla terapia robotica, comporta una riduzione della disabilità dei pazienti, un miglioramento della loro autonomia, con una conseguente riduzione delle cure e dei costi sociali.

CENTRO NAZIONALE PER LA PREVENZIONE E IL CONTROLLO DELLE MALATTIE - BANDO CCM 2012

La presa in carico delle persone con mielolesione nelle regioni italiane: implementazione dei percorsi di cura integrati ospedale e degli strumenti di gestione.

Consulenza scientifica a cura di Marco Franceschini

Nello studio osservazionale sono stati incluse 2851 persone, di cui 1888 con eziologia Traumatica (TSCI) e 963 con eziologia non Traumatica (NTSCI). Di queste persone 1453 sono state ricoverate in fase cronica (1052 TSCI e 401 NTSCI) e quindi considerate come riammissione in strutture riabilitative complesse. 1009 erano invece ricoverate nelle strutture riabilitative per la prima volta in fase post-acuta (539 TSCI e 470 NTSCI). 389 pazienti sono stati selezionati nelle aree di Emergenza/Chirurgia Vertebrale (297 TSCI e 92 NTSCI). Delle 1009 persone ricoverate in area riabilitativa ad alta specializzazione 815, al momento, sono state dimesse dalle strutture (346 TSCI e 389 NTSCI) e quindi di questi vi sono i dati sia all'ingresso in Riabilitazione (T1) che alla dimissione (T2). Nell'ambito delle persone ammesse in Riabilitazione l'età media è di 48 anni (DS 17) per TSCI e di 57 (DS 17) per i NTSCI. L'83% pazienti nei TSCI erano uomini, mentre nei NTSCI il 60%.

Dai dati preliminari in fanno riferimento alle persone ricoverate in struttura Riabilitativa in fase post-acuta (539 persone) di cui, di 426 persone (79.0%) si hanno anche i dati al T2. In queste persone la distanza tra evento acuto e ricovero in riabilitazione è di 30 giorni in media e di 18 come mediana, mentre la lunghezza della degenza è in media di 130 giorni con una mediana di 120.

Per quanto invece attiene l'eziopatogenesi del trauma che ha causato la lesione midollare vi sono le cadute (dall'alto o a terra) come prima causa con il 42%; gli incidenti della strada al 41%. Gli atti di violenza e gli incidenti sportivi rappresentano entrambi il 5% come causa. Nell'ambito di queste cause il 13.5% è rappresentato da incidenti casalinghi; 11.1% da incidenti sul lavoro e il 6.7% da tentativi di suicidio.

Il 52% delle persone presentavano una lesione cervicale con quadro clinico di Tetraparesi-plegia. Il 52.7% aveva poi una lesione completa dal punto di vista motorio (ASIA A e B), mentre il 24.1% aveva lesione incompleta grave (ASIA C) ed il 19.5% lesione incompleta moderata (ASIA D).

Le persone che entrano in riabilitazione con una lesione completa motoria (ASIA A) hanno poche possibilità di migliorare passando in un livello della classificazione migliore (11%). Molto migliore l'evoluzione per chi all'ingresso presenta un deficit motorio completo, ma con una presenza di percezione sensitiva sotto lesionale (ASIA B). In questa situazione clinica il 36% di pazienti migliora e solo il 2% peggiora. Globalmente dall'analisi della valutazione funzionale eseguita al T1 e al T2 tutti i pazienti evidenziano un guadagno di performance notevole.

Da sottolineare come la presenza di piaghe da decubito che al T1 era del 35% delle persone, al T2 era una complicanza presente in circa la metà (17%) delle persone.

Alla dimissione dal Centro di Riabilitazione il 72% delle persone hanno avuto la possibilità di essere reinserite al domicilio.

PROGETTI UNIONE EUROPEA

eWall for Active Long Living - e-Wall: Electronic Wall to Improve Quality of Life for the Elderly. Studio della fattibilità della piattaforma eWall per vivere in autosufficienza l'invecchiamento

Una delle principali sfide del progetto europeo dal titolo "eWall for Active Long Living", presentato nel 7° programma quadro nel Programma specifico "Cooperation", è quella di dare agli

vita stessa dei soggetti, dei parenti e dei caregivers, anche sui sistemi sanitari e assicurativi nazionali.

La piattaforma eWALL è un sistema domotico intelligente che fa uso di un ampio schermo con tecnologia touch per il controllo dell'interfaccia utente. eWALL è stato sviluppato per rispondere alle esigenze di soggetti che vanno incontro al naturale declino cognitivo e fisico o a soggetti con specifiche patologie croniche che minano l'autonomia e la qualità di vita.

Lo sviluppo e la validazione della piattaforma eWALL si pongono nell'ambito della progettualità legata ai finanziamenti europei del settimo programma quadro.

La piattaforma offre diversi servizi per il benessere generale e per un'esperienza aumentata del monitoraggio delle abitudini quotidiane e di variabili fisiologiche e comportamentali, come riportate di seguito: monitoraggio delle attività giornaliere; monitoraggio della qualità del sonno; monitoraggio della qualità degli ambienti domestici (temperatura e qualità dell'aria); monitoraggio dell'attività fisica giornaliera.

eWALL consiste in:

- Una rete di sensori domestici per la raccolta dei dati sull'ambiente e le abitudini dell'utente;
- Un monitor principale di circa 40 pollici installato in casa dell'utente;
- Una unità di processamento centrale che controlla lo schermo principale e la gestione delle interfacce utente;
- Una piattaforma cloud web-based per la raccolta dei dati, il processamento e il processo di intelligent decision-making.

Tra il 2014 e il 2015 l'IRCCS San Raffaele Pisana ha portato il suo contributo al progetto contribuendo alla stesura delle linee guida, alla definizione degli "user requirements", alla valutazione dei prototipi e alla validazione delle specifiche tecniche, grazie all'intervento di professionisti altamente specializzati nella riabilitazione motoria e cognitiva, e la telemedicina. Inoltre l'IRCCS San Raffaele Pisana ha assunto il ruolo di leader clinico per le procedure di validazione della piattaforma su larga scala, coordinando i partner internazionali per la stesura e l'attuazione dei protocolli di studio.

Gli altri partner internazionali coinvolti sono:

- Aalborg Universitet (Danimarca)
- Hewlett Packard italiana srl (Italia)
- Ericsson Nikola Tesla D.D. (Croazia)
- Roessingh Research and Development bv (Olanda)
- Cure Centrum für die Untersuchung und Realisierung Endbenutzerorientierter interaktiver systeme (Austria)
- Research and Education Laboratory in Information Technologies (Grecia)
- Universitatea Politehnica din Bucuresti (Romania)
- Ss. Cyril and Methodius University in Skopje (Macedonia)
- Javna Ustanova Univerzitet Crne Gore Podgorica (Montenegro)
- Technical University of Sofia (Bulgaria)
- Sveuciliste u Zagrebu Fakultet Elektrotehnike i Racunarstva (Croazia)
- AIT Austrian Institute of Technology
- Stellar Security Technology Law Research (Germania)

Si tratta di uno studio pilota osservazionale longitudinale, con dispositivo domotico non medico, e avrà una durata complessiva di 11 mesi.

Obiettivo primario dello studio è investigare la fattibilità e l'accettazione da parte di soggetti con declino cognitivo lieve (MCI), o con broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) o anziani sani, della piattaforma eWALL, sistema integrato per l'invecchiamento attivo, volto all'autonomia e al benessere psico-fisico dei soggetti attraverso il monitoraggio e la rilevazione di diversi parametri fisiologici, comportamentali e misure ambientali.

Obiettivo secondario dello studio è la valutazione preliminare dell'efficacia della piattaforma sull'autonomia nelle attività quotidiane, lo stato fisico e cognitivo generale e qualità della vita.

Fondazione Gossweiler

Does the Action Observation treatment improve the upper limb speed of movement and deftness of parkinsonian patients?

L'obiettivo di questo progetto è quello di valutare l'efficacia dell'osservazione di azioni svolte, come prendere una mela o aprire una bottiglia, per aumentare la velocità e la precisione dei movimenti degli arti superiori e per migliorare le prestazioni delle attività della vita quotidiana e quindi la qualità della vita dei pazienti con malattia di Parkinson (PD).

Altro obiettivo è quello di verificare l'efficacia di un programma di "Action Observation" in soggetti con PD, relativamente alla destrezza e alla qualità di vita. Si intende verificare se a distanza di 2 mesi i pazienti a mantengano il miglioramento ottenuto a seguito di 20 sessioni di trattamento. I pazienti sono stati valutati in quattro tempi diversi: al basale (T0), dopo 10 sessioni di trattamento (T1/2), al termine del trattamento dopo 20 sessioni (T1) e due mesi dopo la fine del trattamento (T2).

Gli outcome sono stati confrontati nei tre gruppi di trattamento: il gruppo di controllo ha guardato un video "placebo" con immagini statiche della natura o di paesaggi; il secondo gruppo ha eseguito un protocollo di "osservazione dell'azione" osservando il terapeuta eseguire una serie di azioni che dovevano essere ripetute in seguito; il terzo gruppo ha guardato un video in cui l'attore ha eseguito le stesse operazioni che erano state mostrate al secondo gruppo.

Lo studio è stato uno studio randomizzato e controllato. Le valutazioni sono state effettuate da un investigatore cieco. I soggetti sono stati assegnati in modo casuale a tre gruppi composti da 5 pazienti ciascuno, ogni gruppo è risultato omogeneo per quanto riguarda lo stadio della malattia in base alla classificazione Hoehn e Yahr.

Nella fase preliminare dello studio, sono stati arruolati consecutivamente 15 pazienti con PD e sono stati suddivisi in 3 gruppi: uno di controllo e due gruppi sperimentali (Tavole 1A, 1B, 1C).

Tab. 1a: Caratteristiche cliniche del gruppo di controllo.

Name	Age (Years)	Gender (M/F)	Hoehn& Yahr	Diseaseduration (years)	Moca	UPDRS I	UPDRS II	UPDRS III	UPDRS IV
MG	68	M	3	13	22	6	19	22	5
ED	71	F	2	5	21	4	24	33	4
GG	71	M	2	7	16	4	9	15	11
LMN	71	M	3	16	23	7	13	8	4
DB	59	M	2	3	19	6	16	18	0

Tab. 1 b: Caratteristiche cliniche del gruppo 1.

Name	Age (Years)	Gender (M/F)	Hoehn& Yahr	Diseaseduration (years)	Moca	UPDRS I	UPDRS II	UPDRS III	UPDRS IV
MC	76	F	2,5	2	17	3	10	31	0
MGCC	71	F	3	15	29	3	11	10	4
BC	71	M	1,5	5	25	5	11	12	0
RM	71	F	1,5	11	24	3	7	7	6
FG	59	M	3	13	26	6	15	4	8

Tab.1 c: Caratteristiche cliniche del gruppo 2.

Name	Age (Years)	Gender (M/F)	Hoehn& Yahr	Diseaseduration (years)	Moca	UPDRS I	UPDRS II	UPDRS III	UPDRS IV
GP	76	F	2	6	20	2	10	16	5
DG	51	F	1,5	9	25	1	10	5	15
GM	69	M	3	7	---	3	29	47	10
MC	76	F	2	7	26	4	10	15	2
GB	61	M	2	7	28	0	7	9	1

Durante i trattamenti e le valutazioni i pazienti erano in stato ON. Criteri di inclusione: diagnosi di malattia di Parkinson (secondo la United Kingdom Parkinson's Disease Brain Bank Society); Fase 2-3 della scala di Hoehn & Yahr; Montreal Cognitive Assessment (MoCA): >15/30; Beck Depression Inventory (BDI) < 19; Età 18-80 anni; Punteggio di > 2 alle voci "battere il dito" E/O "movimento della mano" E/O "movimento alternativo rapido" della UPDRS; regime stabile di farmaci antiparkinsoniani per almeno 4 settimane prima dell'arruolamento nello studio.

Criteri di esclusione: stimolazione cerebrale profonda; trattamento con Duodopa; soggetti con malattia neurologica o ortopedica.

Per tutti i gruppi di studio, il trattamento è stato suddiviso in 20 sessioni di 90 minuti ciascuna e svolte tre volte alla settimana. La prima ora della sessione di trattamento era comune ad ogni gruppo e consisteva di esercizi tradizionali utilizzati per avere un approccio con i pazienti parkinsoniani. Nei restanti 30 minuti i pazienti venivano sottoposti a due sessioni distinte di 15 minuti, una all'inizio e l'altra alla fine della singola sessione. Durante questi 15 minuti, i 3 gruppi di studio sono stati sottoposti a diversi protocolli per il miglioramento della destrezza. Il gruppo di controllo ha dovuto guardare per 2 minuti un video con immagini statiche della natura come splendidi paesaggi. Ai soggetti sono state rivolte domande come: "Cosa evoca questo paesaggio? Tristezza, Armonia, etc. ", per testare la loro attenzione e sono stati quindi invitati a svolgere il compito in conformità al protocollo per 3 minuti consecutivi per un totale di 3 sequenze per sessione.

Le due sessioni di trattamento sono state diverse per velocità o arto usato (sinistro-destro). Il protocollo consisteva in "attività di raggiungimento" con presa grossolana o fine in una direzione parallela o perpendicolare a terra con una gamba sola per sessione o alternata.

Il primo gruppo sperimentale ha dovuto guardare un fisioterapista eseguire le stesse azioni per 2 minuti e poi riprodurle a 3 minuti consecutivi per un totale di 3 sequenze per sessione.

Il secondo gruppo sperimentale doveva invece guardare per due minuti un video con un attore che esercitava un'attività e quindi eseguire la stessa azione durante i 3 minuti consecutivi. L'attore era dello stesso sesso del soggetto che guardava il video. Anche per quest'ultimo gruppo, il numero totale di sequenze per sessione era 3. Durante il video, i soggetti sono stati invitati a prestare la massima attenzione al movimento eseguito.

I movimenti proposti sono stati scelti tra le 20 Attività di vita quotidiana (ADL) assumendo che avessero già imparato come prendere una mela e metterla in un cestino, stendere una camicia con mollette e aprire il tubetto di dentifricio. Queste attività sono state svolte in una situazione ambientale arricchita che ricreava un ambiente domestico reale.

Alla visita iniziale sono state effettuate le seguenti valutazioni e divise in outcome primari e secondari:

Outcome primario: miglioramento rilevato con il test di Box and Block (BB) e Nine Hole Peg Test (NHPT) in termini di riduzione del tempo trascorso per completare i test.

Outcome secondari: miglioramento delle voci relative alla bradicinesia nella UPDRS II e III; miglioramento al Parkinson's disease questionnaire-39 (PDQ-39); miglioramento Small Coin Rotation task (SCR) and Small Lock Rotation task (SLR) in termini di tempo impiegato per completare le attività necessarie; miglioramento nel punteggio BDI.

In particolare, gli item correlati alla bradicinesia nell'ambito della UPDRS e la performance regi-

strata nel Box and Block Test sono stati usati per misurare la variazione nella funzione motoria, mentre Small Coin Task Rotation (SCR) and the Small Lock Task Rotation (SLR) sono stati utilizzati per misurare la limitazione nelle ADL.

Con l'eccezione del MoCA, le scale citate sono state somministrate anche nei T1/2, T1 e T2. Dall'analisi descrittiva e dalla valutazione del campione a T0. Emerge che sono stati arruolati sedici soggetti che soddisfacevano i criteri di selezione. Un paziente ha abbandonato a causa di una caduta accidentale complicata da una frattura al polso. Le caratteristiche cliniche e demografiche dei pazienti al basale sono descritti nella tabella 2.

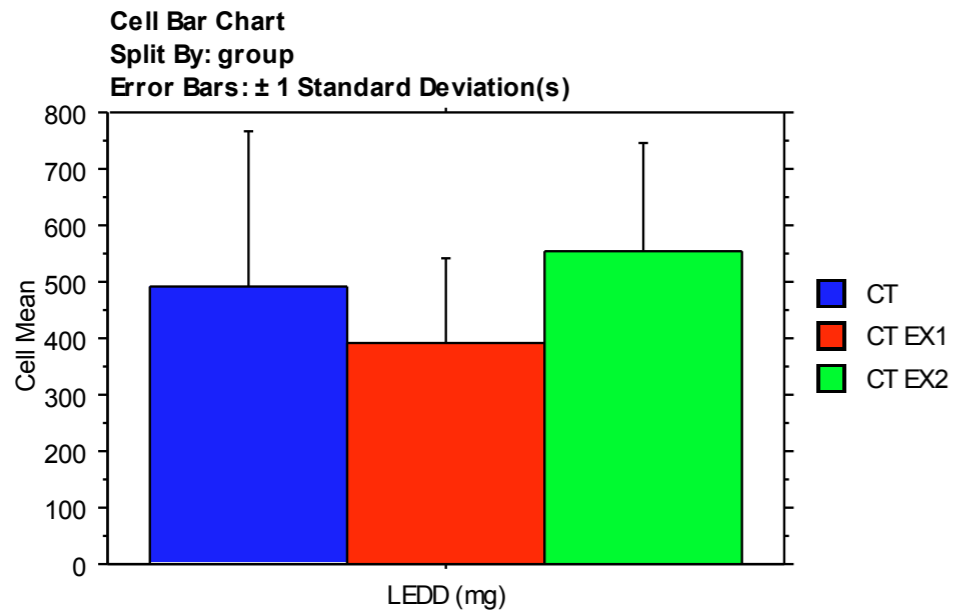
Tab. 2: Caratteristiche cliniche e demografiche dei pazienti arruolati

Descriptive Statistics Split By: group

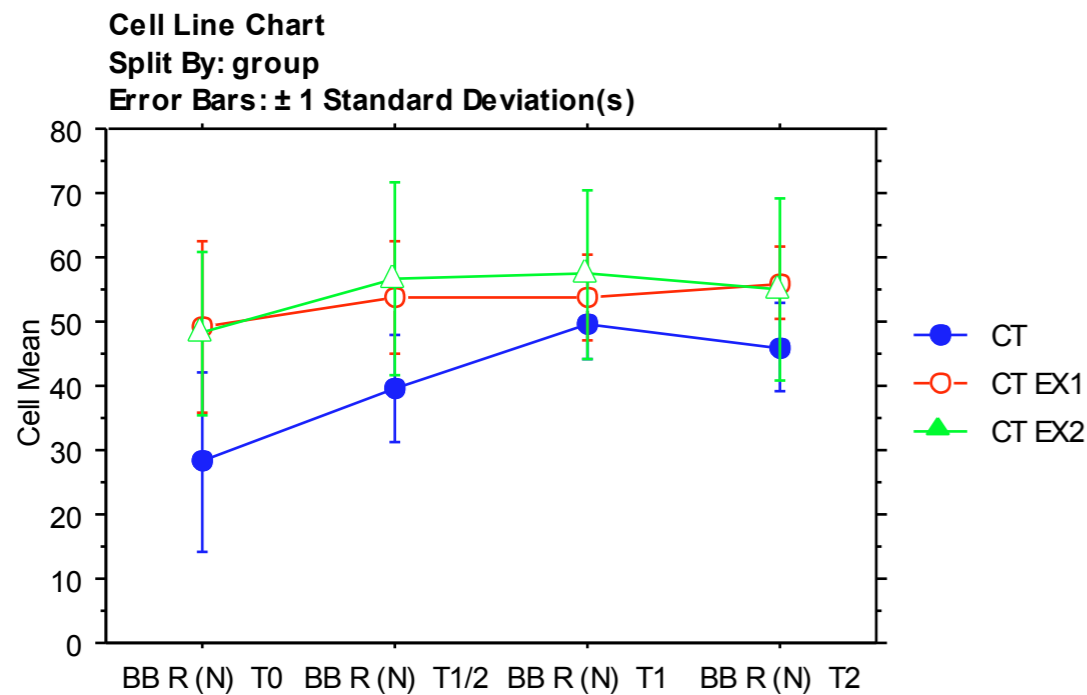
	Mean	Std. Dev.	Count	Minimum	Maximum	Median	IQR
age (Years), Total	66,133	8,026	15	51,000	77,000	68,000	11,500
age (Years), CT	68,000	5,196	5	59,000	71,000	71,000	5,250
age (Years), CT EX1	63,600	8,142	5	55,000	76,000	63,000	11,250
age (Years), CT EX2	66,800	10,918	5	51,000	77,000	69,000	17,750
Hoehn & Yahr, Total	2,267	,594	15	1,500	3,000	2,000	1,000
Hoehn & Yahr, CT	2,400	,548	5	2,000	3,000	2,000	1,000
Hoehn & Yahr, CT EX1	2,300	,758	5	1,500	3,000	2,500	1,500
Hoehn & Yahr, CT EX2	2,100	,548	5	1,500	3,000	2,000	,375
disease duration (years), Total	9,067	5,873	15	2,000	25,000	7,000	7,250
disease duration (years), CT	8,800	5,495	5	3,000	16,000	7,000	9,250
disease duration (years), CT EX1	11,200	8,899	5	2,000	25,000	11,000	11,750
disease duration (years), CT EX2	7,200	1,095	5	6,000	9,000	7,000	,750
Moca, Total	23,000	3,817	15	16,000	29,000	24,000	5,500
Moca, CT	20,200	2,775	5	16,000	23,000	21,000	4,000
Moca, CT EX1	24,200	4,438	5	17,000	29,000	25,000	4,500
Moca, CT EX2	24,600	2,966	5	20,000	28,000	25,000	3,500
UPDRS I T0, Total	3,800	1,971	15	0,000	7,000	4,000	2,750
UPDRS I T0, CT	5,400	1,342	5	4,000	7,000	6,000	2,250
UPDRS I T0, CT EX1	4,000	1,414	5	3,000	6,000	3,000	2,250
UPDRS I T0, CT EX2	2,000	1,581	5	0,000	4,000	2,000	2,500
UPDRS II T0, Total	13,400	6,300	15	7,000	29,000	11,000	5,750
UPDRS II T0, CT	16,200	5,718	5	9,000	24,000	16,000	8,250
UPDRS II T0, CT EX1	10,800	2,864	5	7,000	15,000	11,000	2,750
UPDRS II T0, CT EX2	13,200	8,927	5	7,000	29,000	10,000	5,500
UPDRS III T0, Total	16,800	12,007	15	4,000	47,000	15,000	12,750
UPDRS III T0, CT	19,200	9,257	5	8,000	33,000	18,000	11,500
UPDRS III T0, CT EX1	12,800	10,616	5	4,000	31,000	10,000	10,500
UPDRS III T0, CT EX2	18,400	16,607	5	5,000	47,000	15,000	15,750
UPDRS IV T0, Total	5,000	4,424	15	0,000	15,000	4,000	6,250
UPDRS IV T0, CT	4,800	3,962	5	0,000	11,000	4,000	3,500
UPDRS IV T0, CT EX1	3,600	3,578	5	0,000	8,000	4,000	6,500
UPDRS IV T0, CT EX2	6,600	5,857	5	1,000	15,000	5,000	9,500

Non sono emerse differenze statisticamente significative nelle variabili elencate al T0, anche nel dosaggio giornaliero di Levodopa (Fig. 1).

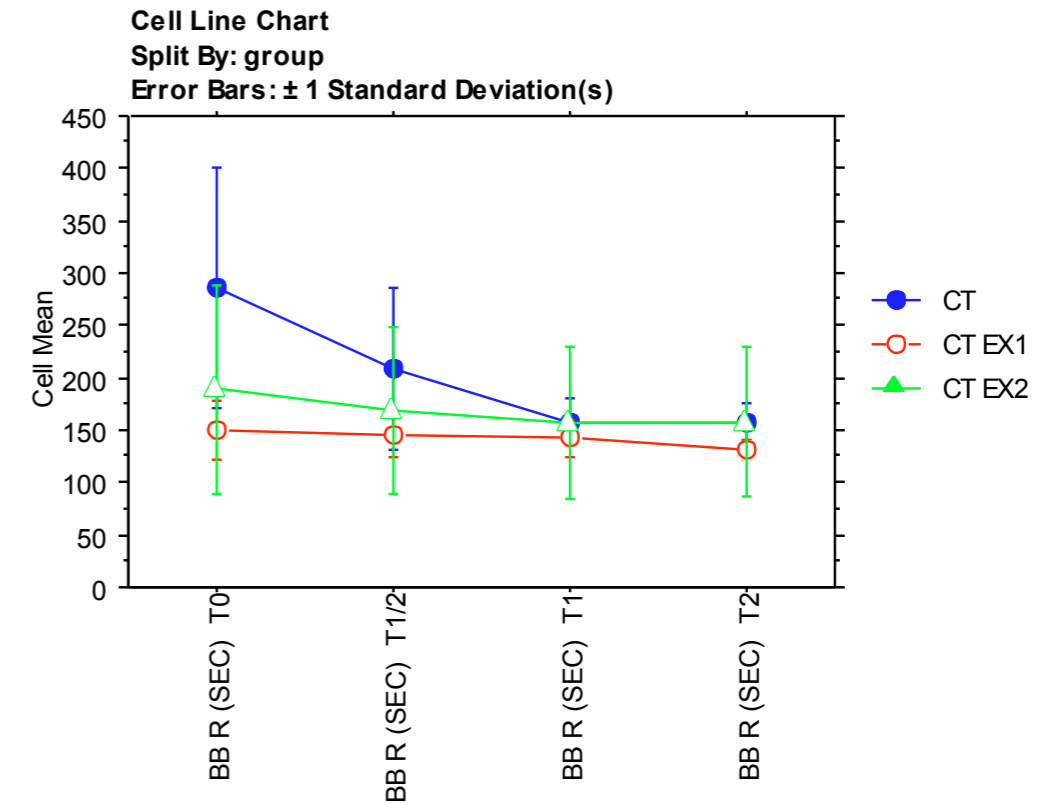
Fig. 1: Dose giornaliera equivalente di (LEDD)al T0 nei tre gruppi di trattamento.



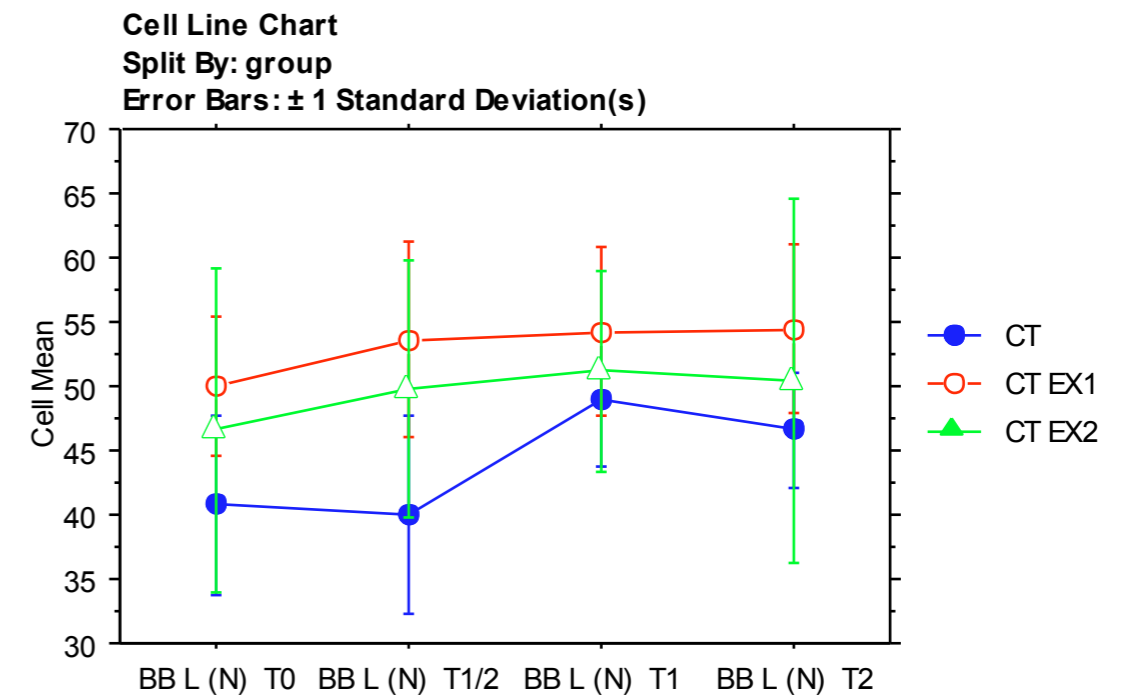
Misure di outcome primari: misure specifiche per l'arto superiore.
 The number of cubes moved per unit of time, at the BB test performed with the right hand, significantly increases at T1 ($\chi^2 = 13$; $p = .005$) at T1, with no difference between groups. There was not statistically significant change at T2.
 Il numero di cubi spostati per unità di tempo, nei test BB eseguito con la mano destra, aumenta significativamente al T1 ($\chi^2 = 13$; $p = 0,005$), con nessuna differenza tra i gruppi.
 Non vi era un cambiamento statisticamente significativo a T2.



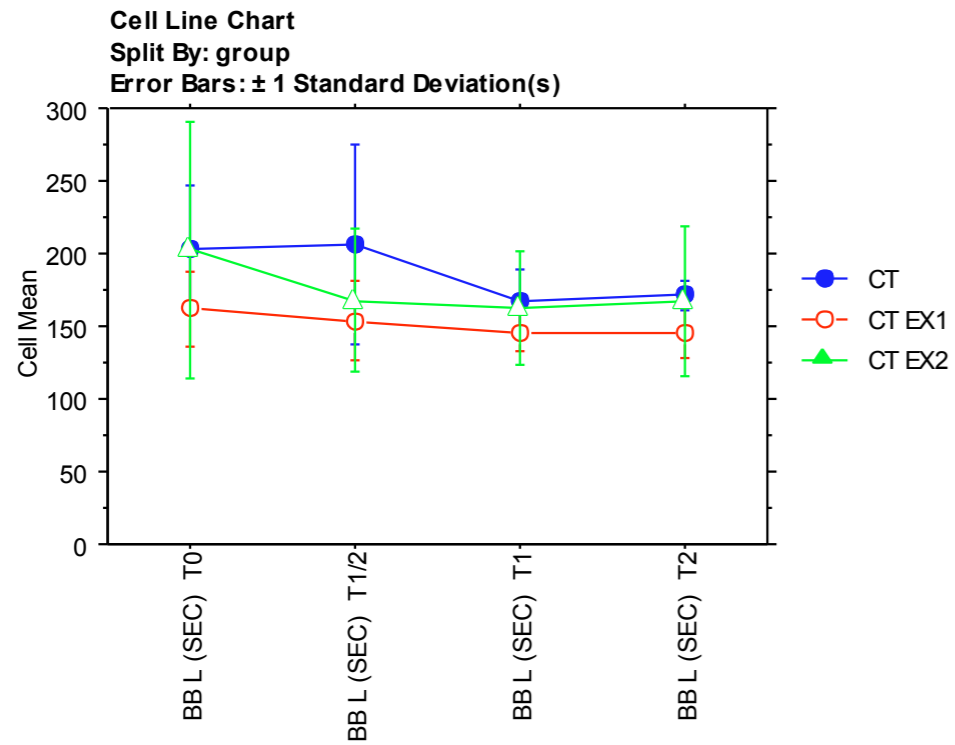
Il tempo necessario per completare il test BB, effettuato con la mano destra, migliorava significativamente al T1 ($\chi^2 = 12.2$; $p = 0,002$), senza alcuna differenza tra i gruppi a T1/2, T1 e T2 (una piccola differenza si è registrata al T0). Non è emersa differenza statisticamente significativa a T2.



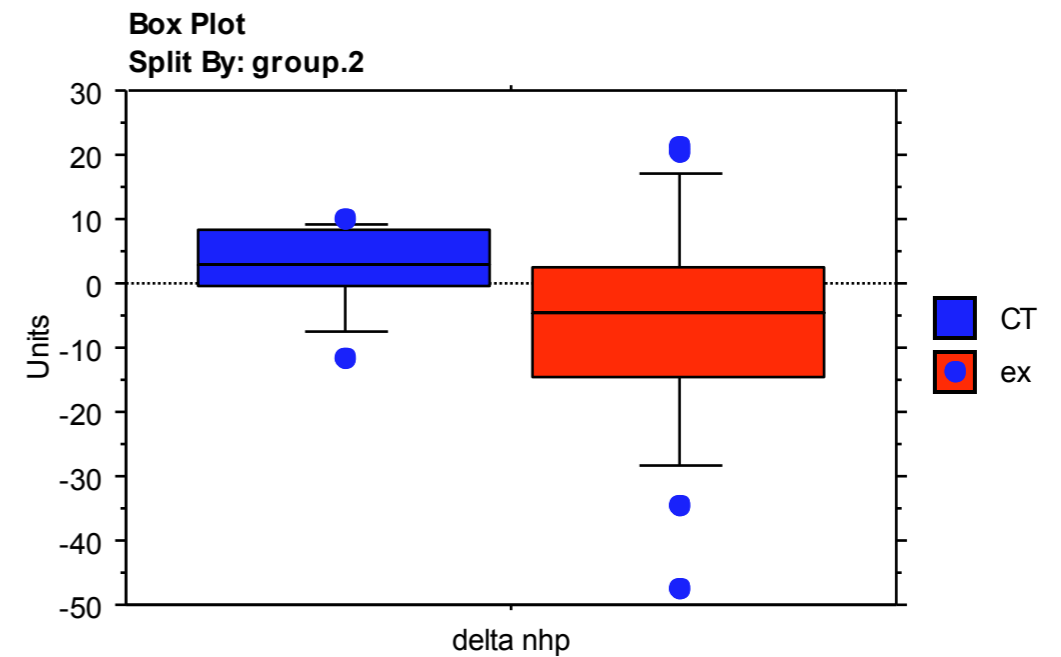
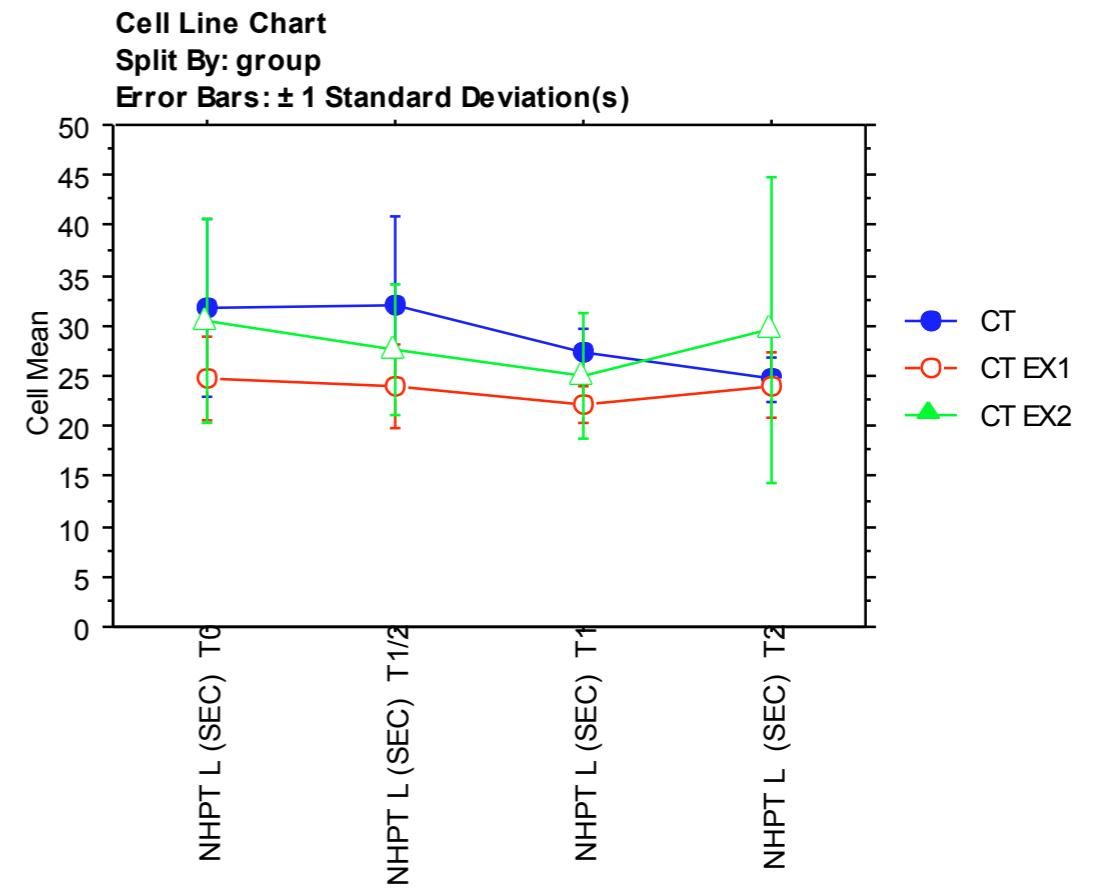
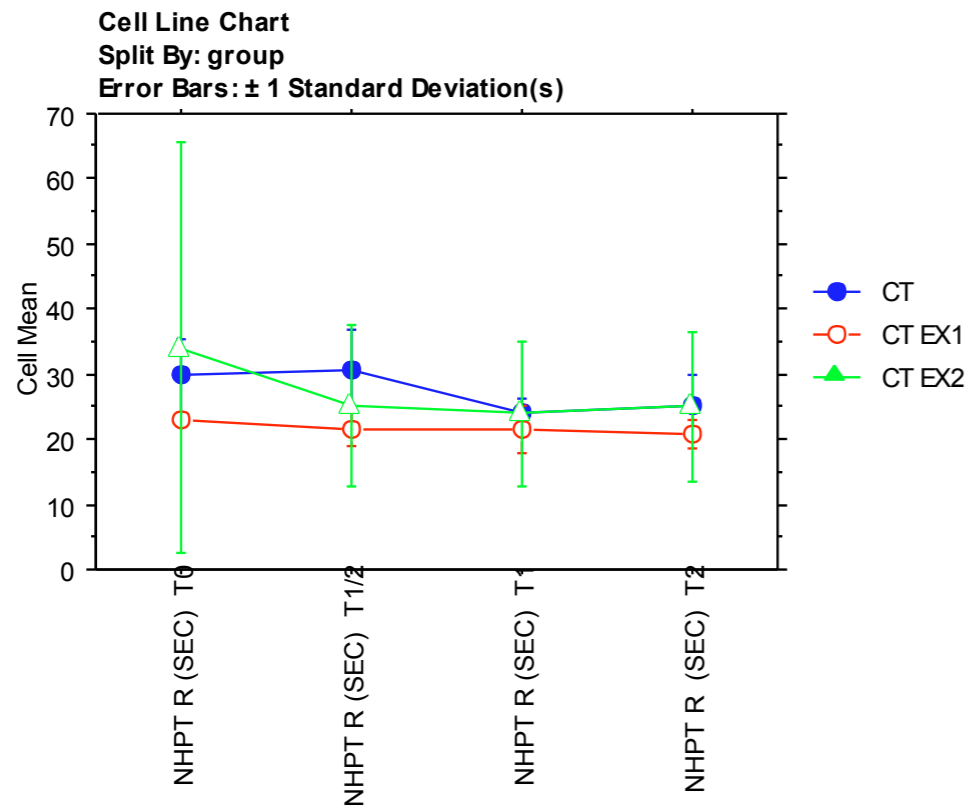
Il numero di cubi spostati per unità di tempo, al test di BB eseguito con la mano sinistra, aumentava significativamente al T1 ($\chi^2 = 10$; $p = 0,007$). T2 non è cambiato in maniera statisticamente significativa. A T0 i gruppi fornivano prove confrontabili; a T1/2 i pazienti del gruppo di controllo non miglioravano a differenza dei soggetti arruolati negli altri due gruppi (dati di significatività $p = .06$) anche se alla fine del trattamento tutti i gruppi erano paragonabili.



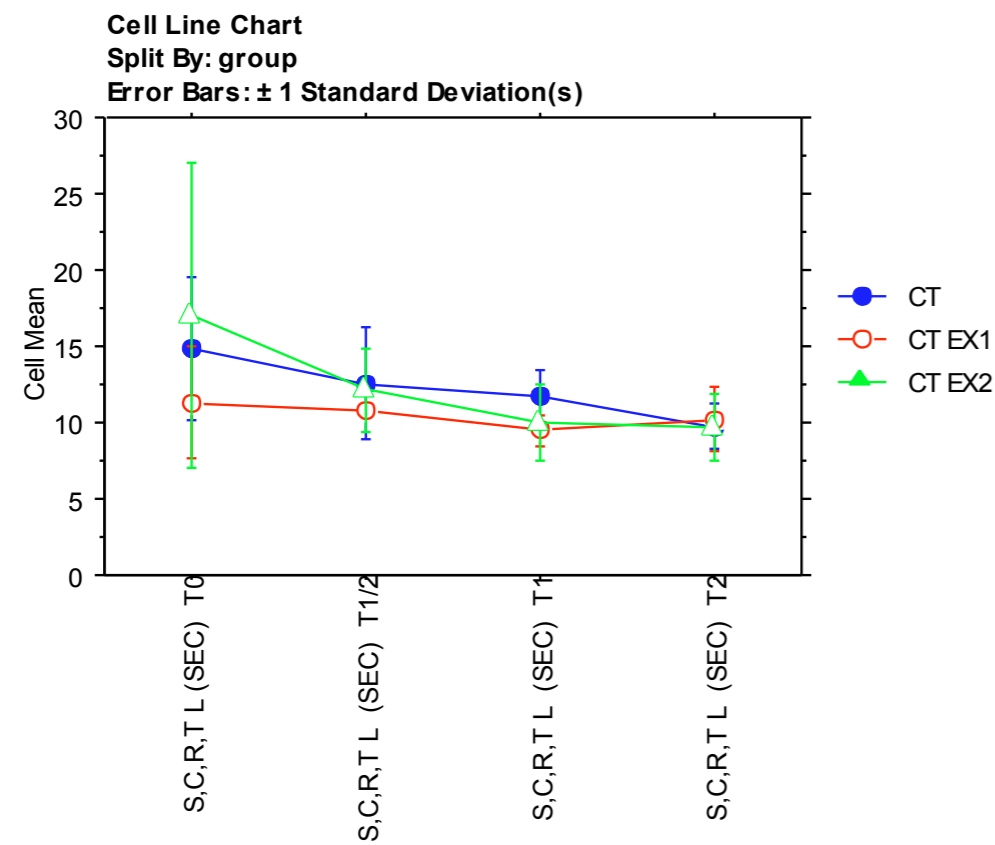
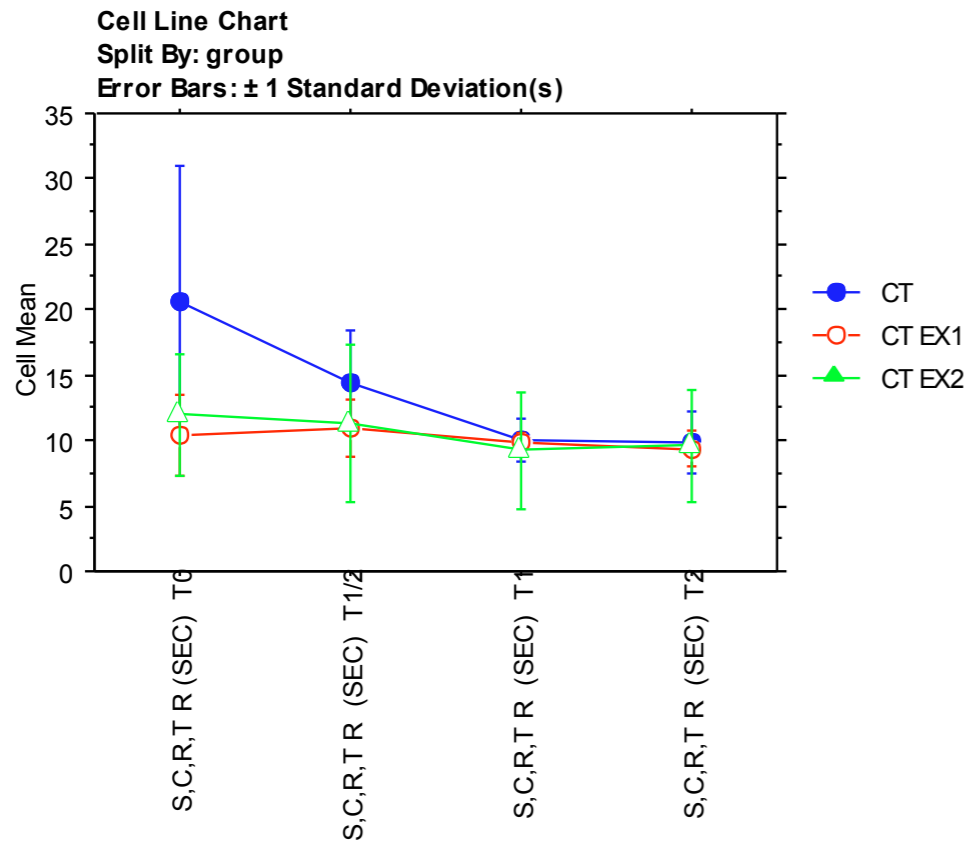
Il tempo necessario per completare il test BB, effettuato con la mano sinistra, migliorava significativamente ($\chi^2 = 9.8$; $p = .008$) al T1, senza alcuna differenza tra i gruppi. T2 non è cambiato in maniera statisticamente significativa.



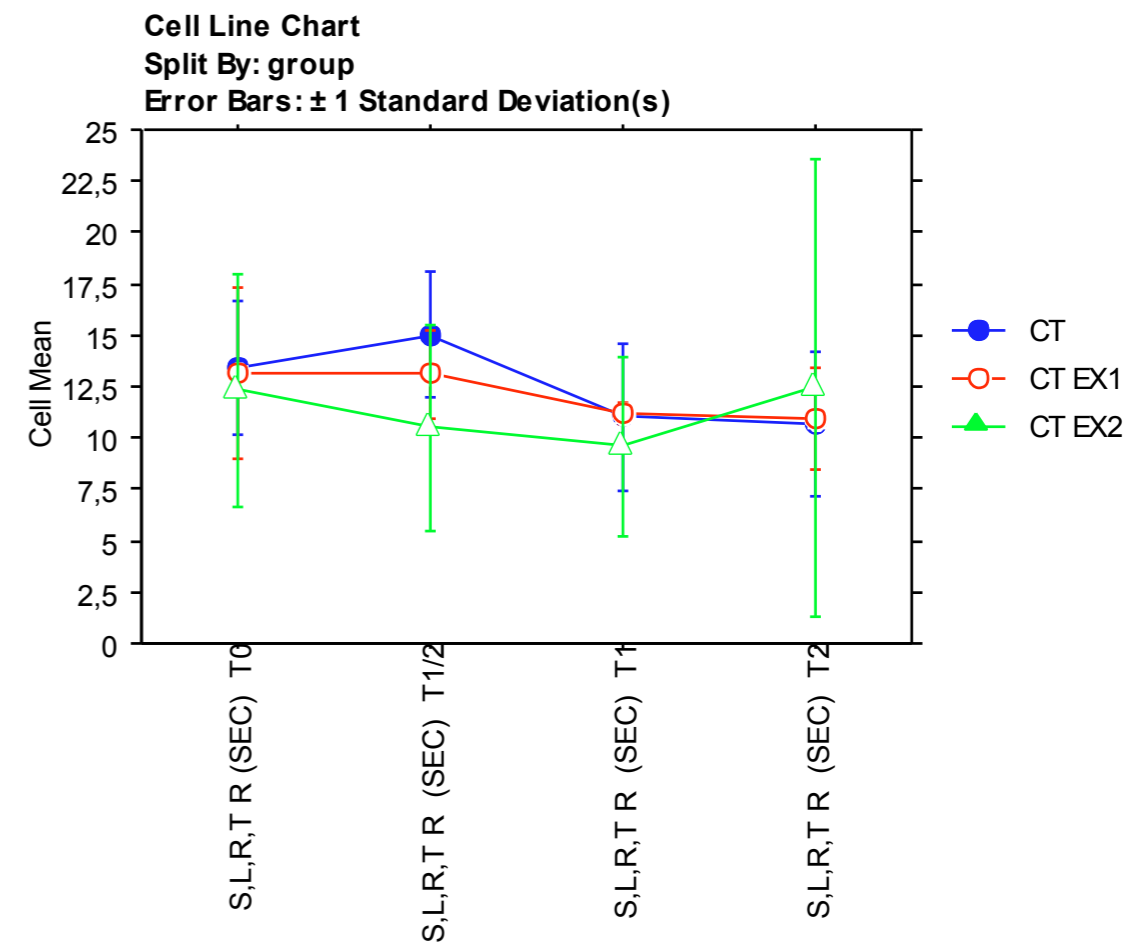
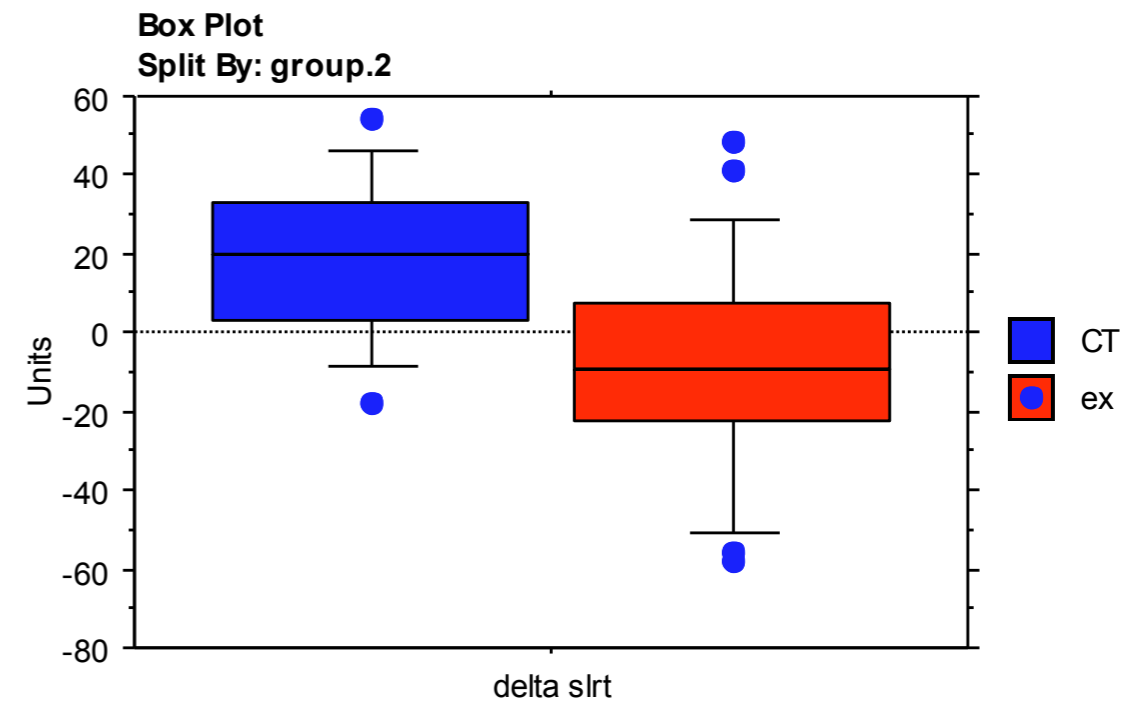
NHPT migliorava nei gruppi sperimentali già a T1/2. Al T1 NHPT in tutti i gruppi era migliore che a T0 e il vantaggio era mantenuto a T2 ($\chi^2 = 9.7$; $p = 0,008$). La tendenza tra i gruppi è stata diversa a T1/2.

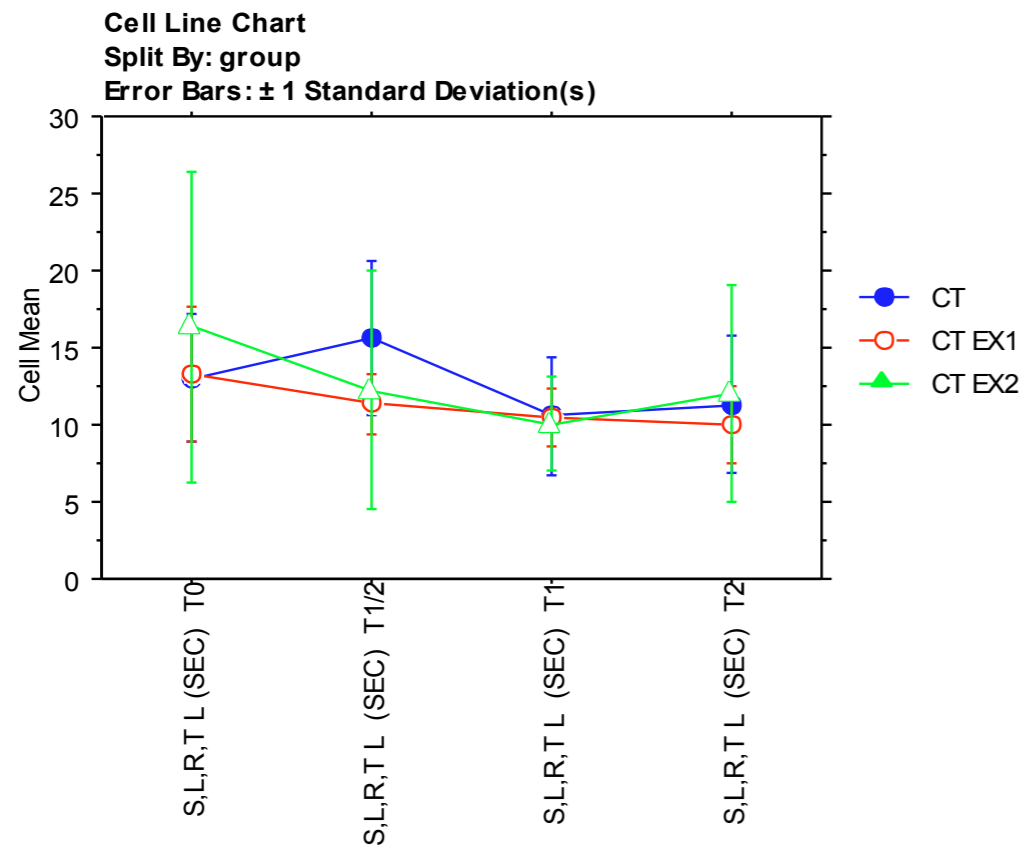


I risultati ottenuti nello Small Coin Rotation task (SCR) e nello Small Lock Rotation task (SLR) hanno mostrato una differenza tra i due gruppi sperimentali e di controllo uno a T1/2. I risultati non hanno raggiunto la significatività statistica.

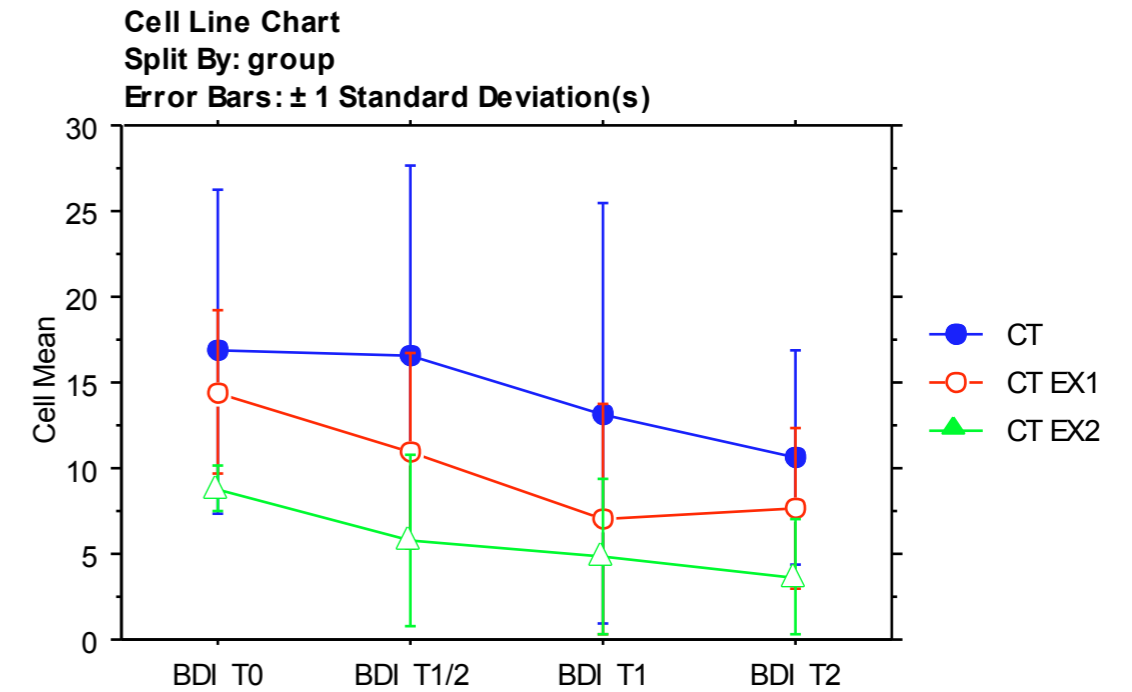
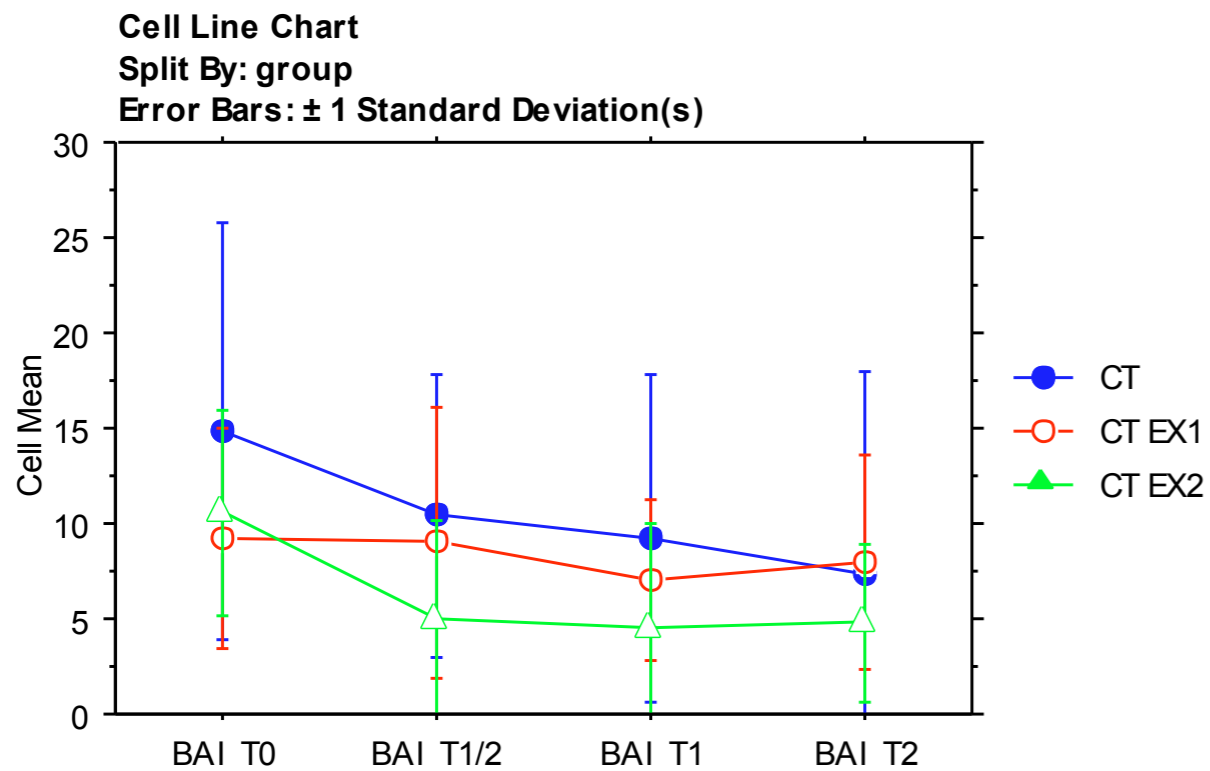


Considerando la differenza percentuale di prestazioni tra T1/2 e T0, si è osservato che soltanto i gruppi sperimentali (che effettuano il protocollo "osservazione dell'azione") sono migliorati a T1/2; la differenza tra i soggetti nei gruppi sperimentali e di controllo è stata significativa: $Z = -2.5$ $p = .01$. Guardando la tendenza generale, i soggetti che hanno subito il trattamento "di osservazione dell'azione", hanno raggiunto al T1/2 gli stessi risultati che tutti i pazienti hanno raggiunto a T1.





L'ansia e la depressione si sono significativamente e costantemente ridotti nel tempo nei tre gruppi (BAI chi2 = 10.3; p = 0,006; BDI: chi2 = 8.2; p: .02).



Infine, la qualità della vita è significativamente e costantemente migliorata in tre gruppi (chi2 = 15,9; p = .0004). Non sono emerse differenze tra i gruppi.

RICERCA IN RETE

Un nuovo strumento per valutare la Malattia di Parkinson, la Parkinson's Disease Composite Scale (PDCS): uno studio pilota per conto dell'Associazione Parkinson Europea (EPDA)

Lo scopo del progetto Parkinson Disease Composite Scale (PDCS) è quello di creare una semplice scala in grado di misurare la gravità della malattia, tenendo conto dei sintomi motori e non motori cardinali e il trattamento delle complicanze.

La PDC deve tener conto della qualità della vita e della rilevanza di particolari sintomi dal punto di vista dei servizi (ad esempio il tremore può essere importante per le persone con la Malattia di Parkinson, ma meno importante per i servizi sanitari). Al contrario, le cadute sono molto importanti perché hanno un grande impatto per i servizi).

La nuova scala composita non sostituirà le altre scale di valutazione che rimangono fondamentali per valutare con precisione diversi aspetti della malattia (quali ad esempio: la Non-Motor Symptom assessment scale – NMSS- per sintomi non motori e la Unified Dyskinesia Rating Scale – UdysRS- per la discinesia, ecc).

La PDC sarà un semplice strumento di valutazione rapida, che fornirà l'idea immediata della gravità della malattia per il paziente e che può essere utilizzata negli ospedali per valutare non solo le esigenze dei pazienti, ma anche dalle autorità per stabilire che i pazienti meritano e necessitano di un particolare trattamento o servizi.

La PDCS includerà i più importanti sintomi motori e non motori e il trattamento delle complicanze dei sintomi. I sintomi riportati nella scala sono quelli che secondo l'esperienza, e secondo quanto riferito dai pazienti, determinano la gravità della malattia (con un impatto sulla qualità della vita). La PDCS si prefigge di attribuire un peso diverso a sintomi differenti in base al loro impatto sulla qualità di vita.

ISTITUTO NAZIONALE PER L'ASSICURAZIONE CONTRO GLI INFORTUNI SUL LAVORO (INAIL)-BANDO 2010

Studio del ruolo dell'ambiente lavorativo nella patogenesi del Morbo di Parkinson

La malattia di Parkinson (MdP) è una malattia neurodegenerativa cronica, progressivamente invalidante, a forte impatto sulla qualità della vita dei pazienti e sui costi sanitari. Si stima che in Italia le persone affette dalla MDP siano circa 230.000; la prevalenza della malattia è pari all'1-2% della popolazione sopra i 60 anni e al 3-5% della popolazione sopra gli 85 anni. L'età media di comparsa dei sintomi è intorno ai 60 anni, ma il 5% dei pazienti può presentare una forma ad esordio precoce, con manifestazione dei sintomi prima dei 50 anni (dati Ministero della Salute, 2013).

Una delle ipotesi più accreditate sulla patogenesi della MdP è che essa sia una patologia multifattoriale, causata da una interazione sfavorevole tra numerosi fattori ambientali a cui il paziente è esposto durante la propria vita (sostanze tossiche, farmaci, stili di vita, ecc) ed una predisposizione genetica ereditata all'interno della famiglia. In condizioni di particolare suscettibilità individuale, infatti, questa interazione può promuovere delle reazioni di "stress ossidativo" a livello dei neuroni della sostanza nigra, provocandone la degenerazione e favorendo lo sviluppo della MdP. Attualmente, le sostanze chimiche accreditate per un possibile ruolo neurotossico sono: solventi

organici, fumi esausti, monossido di carbonio, metalli pesanti, erbicidi e pesticidi.

Alcuni lavori scientifici presenti in letteratura hanno analizzato l'associazione tra tali fattori di rischio e l'insorgenza di MdP, ma ad oggi, il nostro è uno degli studi con più ampia numerosità campionaria realizzati.

In questo progetto sono state indagate, attraverso uno studio caso-controllo, eventuali associazioni della MDP con determinate professioni, ambienti lavorativi, stili di vita.

L'endpoint primario dello studio è stato il calcolo dell'Odds Ratio per i singoli fattori di rischio ambientali per MDP.

Endpoints secondari sono stati:

- classificare le esposizioni a tossici professionali mediante costruzione di job exposure matrices e valutare il rischio di sviluppo di MdP ad essi correlato;

- stabilire il ruolo di alcune SNPs riportate dalla letteratura come associate alla MdP nella modificazione dell'effetto dei fattori di rischio ambientali in un subset di 100 soggetti (50 casi e 50 controlli).

Sono stati complessivamente arruolati nello studio 637 casi affetti da malattia di Parkinson secondo i criteri diagnostici clinici della UK PDS Brain Bank e 529 controlli appaiati per sesso ed età (\pm 5 anni) ai casi selezionati fra gli afferenti agli ambulatori dell'IRCCS San Raffaele Pisana e del San Raffaele Cassino, per prestazioni non legate a patologie di tipo neurodegenerativo e fra i soggetti non malati afferenti alle strutture, che consecutivamente abbiano accettato di partecipare allo studio e abbiano firmato il consenso informato.

A tutti i partecipanti è stato somministrato da personale addestrato un questionario, della durata di 15 min circa, validato per la rilevazione dell'esposizione ad agenti ambientali-occupazionali e per l'analisi dello stile di vita. Le aree indagate dal questionario sono state:

- Zone di residenza attuale e pregressa (veniva chiesto indirizzo, città, provincia e di specificare se rurale o urbana, date di residenza).

- Occupazione attuale e pregressa/e (in caso di occupazione a rischio venivano indagate la durata dell'esposizione e le eventuali sostanze implicate).

- Attività del tempo libero: veniva richiesto se l'intervistato svolgesse un'attività nel tempo libero che potesse comportare il contatto con sostanze tossiche.

- Uso di sostanze d'abuso: veniva richiesto l'uso attuale o pregresso delle più comuni sostanze d'abuso.

- Fumo: veniva indagata l'eventuale esposizione a fumo di sigaretta, sigaro o pipa, attivo o passivo.

- Dieta: venivano indagati peso (attuale e pregresso), altezza, abitudini alimentari prima dell'insorgenza della malattia, uso di integratori, vino, birra, superalcolici.

- Familiarità: veniva indagata la composizione della famiglia e l'eventuale presenza di familiarità per Parkinson Idiopatico, Tremore Essenziale, Alzheimer, Atrofia Multisistemica, Paralisi Soprannucleare Progressiva.

Ad un sottogruppo di 50 casi con MdP e 50 controlli, coniugati o conviventi con i casi, quindi presumibilmente esposti agli stessi tossici ambientali e a stili di vita simili, sono stati prelevati 3 ml circa di sangue venoso periferico dal quale è stato estratto il DNA.

Su tale DNA è stato effettuato lo studio dei polimorfismi di alcune SNPs (polimorfismi a singolo nucleotide) associati alla MdP (polimorfismo MTHFR e SEMA5A) al fine di valutare, tramite uno studio esplorativo, l'eventuale presenza di differenze fra i due gruppi in merito alla frequenza allelica delle SNPs esaminate.

Tutti i dati raccolti sono stati caricati su supporto elettronico ed analizzati con analisi statistica al fine di esplorare gli endpoints previsti dallo studio.

La raccolta dei casi per lo studio caso-controllo si è svolta nelle due strutture dell'IRCCS San Raffaele Pisana e presso il San Raffaele di Cassino. La diversa tipologia geografica e sociale delle due aree ha suggerito un'analisi differenziata, per tener conto delle diverse tipologie di rischi ambientali e occupazionali prevalenti.

Per quanto riguarda l'IRCCS San Raffaele Pisana, nel corso dello studio, presso gli Ambulatori

Neurologici dell'Istituto, sono stati raccolti 994 questionari somministrati a pazienti con MdP e controlli sani. La descrizione delle principali caratteristiche dei due gruppi in studio sono riportate in Tabella 1.

Tabella 1

Variabile	Casi (n.550)	Controlli (n.444)	Totale (n.994)	P value
Sesso				
Maschi	324 (58.9%)	219 (49.3%)	543	P<0.01
Femmine	226 (41.1%)	224 (50.5%)	450	
Età				
Media in anni (DS)	68.4 (9.6)	66,3 (9.6)		P<0.001
Titolo di Studio				
Scuola Primaria	99 (18.0%)	62 (14.0%)	161	P=0.086
Scuola Secondaria	131 (23.8%)	124 (27.9%)	255	
Scuola Superiore	185 (33.6%)	165 (37.2%)	350	
Università	130 (23.6%)	88 (19.8%)	218	
Residenza				
Urbana	426	340	766	n.s.
Rurale (almeno una volta nella vita)	120	101	221	
Maschi				
Peso (abituale) (kg)	78.5 (11.7)	80.0 (13.2)		n.s.
Altezza (cm)	173.0 (7.3)	173.5 (6.8)		n.s.
BMI	26.2 (3.8)	27.0 (4.1)		P<0.02
Femmine				
Peso (abituale) (kg)	63.7 (10.7)	64.7 (10.9)		n.s.
Altezza (cm)	160.9 (6.6)	162.1 (6.8)		P<0.06
BMI	25.2 (4.5)	25.5 (4.2)		n.s.
Familiarità				
Alzheimer/Demenza	51 (9.3%)	42 (9.5%)	93	P<0.0001
PD/Tremore ess.	139 (25.3%)	59 (13.3%)	198	

La descrizione delle principali caratteristiche della casistica evidenzia come, nonostante sia stato effettuato un light matching per età e sesso, la presenza di residual confounding e la discrepanza nel numero di casi e di controlli non siano stati completamente rimossi e dovranno essere considerati nelle successive analisi. La suddetta discrepanza numerica è attribuibile alla difficoltà riscontrata dagli sperimentatori nel reclutare soggetti appaiabili ai casi, non affetti da patologia, che fossero motivati e disponibili a dedicare il loro tempo per rispondere al questionario.

I dati mostrano anche la presenza di una non marcata differenza nella scolarità e in alcuni parametri fisici.

Il confronto fra la presenza di familiari con MdP in casi e controlli mostra una frequenza significativamente più elevata nei casi.

Gli stessi risultati ottenuti con le analisi univariate sono confermati dalla modellistica.

Nella Tabella 2 sono riportate le variabili significativamente associate con la condizione di MdP fra i parametri individuali valutati nella Tabella 1.

Tabella 2. Regressione logistica delle principali caratteristiche dei soggetti in studio

Number of obs = 992

LR chi2 (4) = 46.79

Prob > chi2 = 0.0000

Log likelihood = -658.53123

Pseudo R2 = 0.0343

Variabile	Odds Ratio	Stand. Err.	z	P value	IC 95%
Sesso (M)	1.49	0.19	3.07	0.002	1.15-1.93
Età (anni)	1.02	0.007	3.50	0.001	1.01-1.04
Familiarità (PD)	2.00	0.52	2.62	0.009	1.19-3.35

Tra le variabili considerate, i principali fattori di rischio sono confermati essere il sesso, con un rischio aumentato di circa il 50% di sviluppare MdP nei maschi (OR=1.49; IC 95% 1.15-1.93). Similmente, l'incremento dell'età provoca un aumento del rischio di sviluppo della malattia pari a circa il 2% per ogni anno (OR=1.02; IC 95% 1.01-1.04). Infine, è risultato particolarmente elevato il rischio per coloro che hanno dichiarato di avere un parente affetto da MdP, con un valore dell'OR raddoppiato (2.00 [1.19-3.35]). Tale dato potrebbe essere influenzato dalla presenza di un bias nel ricordo, in quanto si suppone che un paziente affetto da MDP è sicuramente più attento alla eventuale presenza della patologia nella sua storia familiare.

Nelle tabelle successive è riportato l'effetto dell'alimentazione sul rischio di ammalarsi di Parkinson.

I dati sono presentati inizialmente con un approccio univariato e poi tramite analisi di regressione logistica, con l'inserimento di tutti gli actual confounders ed alcuni potential confounders quali età e sesso in tutti i modelli.

Tabella 3. Effetto dell'alimentazione sul rischio di MdP. Analisi univariata.

Variabile	1 o più volte al giorno	1 o più volte alla settimana	1 o più volte al mese	Mai	P value
Salumi					
Casi (548)	73 (13.3%)	340(62.0%)	95(17.3%)	37(6.8%)	P<0.02
Controlli (436)	32 (7.3%)	279(64.0%)	90(20.6%)	34(7.8%)	
Frutta					
Casi (548)	455	86	6	1	n.s.
Controlli (436)	373	54	6	3	
Verdura					
Casi (548)	376 (68.6%)	162 (29.5%)	9 (1.6%)	3 (0.6%)	P<0.01
Controlli (436)	340 (78.0%)	89 (20.4%)	5 (1.2%)	1 (0.2%)	
Carne					
Casi (548)	54	413	57	24	P<0.05
Controlli (436)	23	331	57	25	
Pesce					
Casi (548)	9	402	120	16	n.s.
Controlli (436)	11	327	87	11	

Dalla valutazione dell'analisi univariata emerge chiaramente la presenza di alimenti che aumentano il rischio di malattia e di alimenti il cui consumo, al contrario, riduce il rischio di malattia. Il consumo di carni e di salumi è significativamente associato alla condizione di caso, così come, invece, il consumo di verdura risulta protettivo (p<0.05). Meno chiaro il ruolo della frutta e del pesce, il cui effetto benefico non raggiunge il livello di significatività statistica.

La valutazione tramite regressione multivariata conferma i risultati precedenti, anche dopo la correzione per i principali confondenti.

Emerge chiaramente come il consumo giornaliero di carni e di salumi, quando confrontato con chi non consuma mai questi alimenti, riveli circa un raddoppio del rischio di sviluppare MdP. I dati presenti in letteratura ad oggi, riguardo l'uso di carne ed il rischio di MdP sono inconsistenti. Un vasto studio americano non ha evidenziato risultati significativi sull'associazione consumo di carne e rischio di MdP, mentre uno studio finlandese ha evidenziato una riduzione del rischio di MdP associata al consumo di carne processata.

Lo studio ha invece evidenziato una associazione significativa tra consumo di carne rossa e salumi e rischio di MdP. In ogni caso, sono necessari ulteriori approfondimenti con studi mirati, comprendenti l'analisi delle sostanze contenute nelle carni rosse e processate, per arrivare a conclusioni più complete e definitive sull'argomento.

Il consumo giornaliero di frutta e verdura, da quanto emerge dai risultati dello studio, è in grado di dimezzare il rischio di malattia, anche se i risultati non sono supportati dalla significatività statistica. Il ruolo protettivo di frutta e verdura è probabilmente legato ad un effetto antiossidante, che contrasta lo stress ossidativo presumibilmente legato alla patogenesi della MdP. Anche in questo caso la letteratura non giunge ad una conclusione univoca sull'argomento. E' stato ipotizzato che l'azione neuroprotettiva ed antiossidante potrebbe essere in alcuni casi mascherata dall'effetto tossico di erbicidi e pesticidi contaminanti i prodotti agroalimentari.

Tabella 4. Regressione logistica delle abitudini alimentari dei soggetti in studio (stime aggiustate per sesso, età e familiarità)

Variabile	Odds Ratio	Stand. Err.	z	P value	IC 95%
Salumi (Tutti i giorni vs mai)	2.11	0.69	2.29	0.022	1.11-4.01
Carne (Tutti i giorni vs mai)	2.16	0.83	1.99	0.047	1.01-4.61

Il consumo di caffè ed altri stimolanti, mostra un'associazione inversa con il rischio di MdP, in accordo con quanto riportato dalla letteratura. Lo studio ha evidenziato come il consumo, una o più volte al giorno, di caffè risulti in una riduzione del 30% della probabilità di sviluppare MdP, anche se, come nei casi precedenti, questa associazione non è risultata statisticamente significativa (OR=0.71 [0.46-1.10], n.s.).

Un particolare interesse è stato rivolto al ruolo eziologico dell'esposizione a fattori di rischio occupazionali. Un'attenta anamnesi occupazionale è stata condotta in casi e controlli per ricostruire esposizioni professionali attuali e pregresse. In particolare, per ogni occupazione è stato valutato il datore di lavoro, la mansione e la presenza di esposizione a sostanze a rischio tramite la consultazione di matrici lavoro-esposizione estratte dalla letteratura. Nella tabella seguente sono riportati i gruppi di occupazioni categorizzate e utilizzate per l'analisi di associazione con la presenza di MdP.

La tipologia di esposizione è particolarmente varia, passando dall'esposizione a pesticidi (agricoltura), ad idrocarburi policiclici aromatici (autisti), a radiazioni (medici, personale sanitario, piloti), ad ossido di etilene (medici). La presenza di esposizione a virus e prioni è stata presa in considerazione nei soggetti che hanno dichiarato di svolgere attività sanitarie e di macelleria o con pellicce. L'esposizione a numerose vaccinazioni è stata considerata nel personale militare. La distribuzione della categorie investigate, suddivise per mansione e condizione di caso o di controllo è riportata nella tabella successiva (Tabella 5).

Tabella 5. Distribuzione di casi e controlli per occupazioni selezionate

GRUPPI A RISCHIO	altro	Conteggio	CASO/CONTROLLO		Totale
			Control	Case	
			166	220	386
		% entro	37,4%	40,0%	38,8%
		CASO/CONTROLLO			
Agricoltori		Conteggio	5	9	14
		% entro	1,1%	1,0%	1,4%
		CASO/CONTROLLO			
Autista		Conteggio	8	13	21
		% entro	1,8%	2,4%	2,1%
		CASO/CONTROLLO			
Area Medica		Conteggio	5	3	8
		% entro	1,1%	,5%	,8%
		CASO/CONTROLLO			
Casainga		Conteggio	40	55	103
		% entro	10,8%	10,0%	10,4%
		CASO/CONTROLLO			
Commercio		Conteggio	28	28	54
		% entro	5,8%	5,1%	5,4%
		CASO/CONTROLLO			
Militari		Conteggio	7	15	22
		% entro	1,6%	2,7%	2,2%
		CASO/CONTROLLO			
Impiegato		Conteggio	114	109	223
		% entro	25,7%	19,8%	22,4%
		CASO/CONTROLLO			
Medico		Conteggio	6	16	22
		% entro	1,4%	2,9%	2,2%
		CASO/CONTROLLO			
Insegnante		Conteggio	31	38	69
		% entro	7,0%	6,9%	6,8%
		CASO/CONTROLLO			
Macellaio		Conteggio	1	3	4
		% entro	,2%	,5%	,4%
		CASO/CONTROLLO			
Operaio		Conteggio	22	28	50
		% entro	5,0%	5,1%	5,0%
		CASO/CONTROLLO			
Parrucchiere		Conteggio	3	4	7
		% entro	,7%	,7%	,7%
		CASO/CONTROLLO			
Pellicciaio		Conteggio	0	3	3
		% entro	,0%	,5%	,3%
		CASO/CONTROLLO			
Pilota		Conteggio	2	8	8
		% entro	,5%	1,1%	,8%
		CASO/CONTROLLO			
Totale		Conteggio	444	550	994
		% entro	100,0%	100,0%	100,0%
		CASO/CONTROLLO			

Per questa associazione è riportata solo l'analisi di tipo univariato, in quanto anche la modellistica, visti i piccoli numeri di ogni categoria, non è stata in grado di identificare associazioni statisticamente significative con la professione. Dal confronto delle distribuzioni di frequenza si osserva come alcune categorie risultino distribuite in maniera notevolmente asimmetrica, come i medici (16 casi e 6 controlli), i militari (15 casi e 7 controlli), i piloti di aereo ed il personale di volo (6 casi e 2 controlli), gli agricoltori (9 casi e 5 controlli).

Queste indicazioni sono di particolare interesse, in quanto la letteratura sulla MdP riporta un'estesa valutazione dei rischi di tipo occupazionale per alcune professioni (agricoltori, saldatori), mentre non segnala un aumento del rischio in alcune categorie che andranno ulteriormente investigate, quali piloti e militari.

L'aumentato rischio riscontrato nella professione medica è descritto in letteratura ed è stato solitamente correlato alla maggiore esposizione di questa categoria ad agenti infettivi e all'ipotesi neuroinfiammatoria nella eziopatogenesi della MdP. E' stato inoltre ipotizzato che una precoce alterazione dei circuiti nigrostriatali, ben prima dell'esordio della sintomatologia, potrebbe essere responsabile di modificazioni del carattere tali da determinare una "selezione" tra le carriere lavorative e porterebbe i futuri pazienti a scegliere professioni lavorative con particolari caratteristiche (minore fatica fisica, elevata richiesta di precisione).

Per completare la valutazione dei fattori di rischio legati ad esposizione ad agenti chimici o fisici, è stata presa in considerazione anche l'attività extralavorativa, che a volte si configura come hobby ed è spesso condotta in condizioni non altrettanto protette quali quelle godute in un ambito professionale. La prima indicazione dell'importanza di questo parametro è l'auto-dichiarazione di lavorare con sostanze definibili genericamente come pericolose. In tabella 6 si vede chiaramente come la proporzione di soggetti che dichiarano tale esposizione sia circa doppia nei casi.

Tabella 6. Esposizione a sostanze pericolose in attività extraprofessionali

	Esposto	Non esposto	totale	P value (chi2)
Casi	55	495	550	P<0.01
controlli	22	422	444	
	77	917	994	

Tali esposizioni sono state suddivise in 5 gruppi, omogenei per esposizione e tipologia della attività. La distribuzione di frequenza della varie attività in casi e controlli è riportata in Tabella 7.

Tabella 7. Distribuzione di frequenza delle principali attività extra professionali

Tavola di contingenza Attivita' extra professionali * CASO/CONTROLLO

			CASO/CONTROLLO		Totale
			Control	Case	
Attivita' extra professionali	Giardinaggio e Agricoltura	Conteggio	18	30	48
		% entro Attivita' extra professionali	37,5%	62,5%	100,0%
	Sport	Conteggio	8	11	19
		% entro Attivita' extra professionali	42,1%	57,9%	100,0%
	Brico-Modellismo	Conteggio	15	10	25
% entro Attivita' extra professionali		60,0%	40,0%	100,0%	
Pittura vernici	Conteggio	2	12	14	
	% entro Attivita' extra professionali	14,3%	85,7%	100,0%	
Altro	Conteggio	6	14	20	
	% entro Attivita' extra professionali	30,0%	70,0%	100,0%	
Totale		Conteggio	49	77	126
		% entro Attivita' extra professionali	38,9%	61,1%	100,0%

L'attività extraprofessionale è stata valutata anche tramite un modello di regressione logistica. I risultati hanno mostrato valori significativi per le attività associate all'uso di vernici e pitture (quindi di solventi, tricloroetilene ed altre sostanze tossiche contenute nelle vernici) che hanno presentato, dopo correzione per sesso, età e familiarità, un rischio elevato anche se solo con una significatività borderline (OR= 4.2 [0.86-20.54]). La letteratura conferma l'associazione di queste sostanze con un aumento del rischio di MdP.

Passando alle esposizioni legate allo stile di vita, particolare attenzione è stata rivolta al fumo di sigaretta, esposizione che la letteratura lega ad un ridotto rischio di MdP. I dati confermano questa evidenza, con una proporzione di fumatori più bassa nei casi quando confrontati con il gruppo di controllo (Tabella 8).

Tabella 8. Distribuzione di casi e controlli in base all'abitudine al fumo

Tavola di contingenza CASO/CONTROLLO * FUMA

			FUMA			Totale	
			EX FUMATORE	NO	SI		
CASO/CONTROLLO	Control	Conteggio	0	146	203	95	
		% entro CASO/CONTROLLO	,0%	32,9%	45,7%	21,4%	100,0%
	Case	Conteggio	1	196	288	65	
		% entro CASO/CONTROLLO	,2%	35,6%	52,4%	11,8%	100,0%
Totale		Conteggio	1	342	491	160	
		% entro CASO/CONTROLLO	,1%	34,4%	49,4%	16,1%	100,0%

La valutazione del ruolo dell'abitudine al fumo nell'eziologia della MdP è stata quindi analizzata anche tramite approccio multivariato, per rimuovere l'effetto dei principali fattori di confondimento. Dopo correzione per età, sesso, dieta, e familiarità i soggetti che non hanno mai fumato presentano un rischio circa doppio di contrarre la malattia [OR=2.04; 1.39-2.99], mentre per gli ex-fumatori, categoria che include molti individui che hanno cessato di fumare dopo la diagnosi, il rischio è solo poco più basso [OR=1.64; 1.09-2.47].

E' stato valutato anche il consumo di altre sostanze stimolanti e sostanze di abuso (Tabella 9), anche se i piccoli numeri rilevati non consentono alcun commento. Tali numeri sono attribuibili alla difficoltà di ottenere informazioni attendibili su un dato così sensibile, raccolto in forma non anonima.

Tabella 9. Consumo di sostanze stimolanti e sostanze di abuso in casi e controlli.

Tavola di contingenza SOST1 * CASO/CONTROLLO

Conteggio	CASO/CONTROLLO		Totale
	Control	Case	
SOST1	2	5	7
ANFETAMINA	3	1	4
CANNABINOIDI	6	3	9
COCAINA	6	5	11
NESSUNA	427	536	963
Totale	444	550	994

All'interno delle variabili che descrivono gli stili di vita è stato dato rilievo al consumo di alcool. I risultati dell'analisi descrittiva rivelano una associazione borderline, con una presenza più elevata di bevitori di vino nel gruppo dei soggetti con MdP(41.8 vs 36.3%, p=0.05). Tabella 10.

Tabella 10. Descrizione dell'abitudine al consumo di alcolici (10a Vino; 10b birra e 10c liquori) in casi e controlli.

a) VINO

Tavola di contingenza

		CASO/CONTROLLO		Totale
		Control	Case	
VINO	Conteggio	3	1	4
	% entro CASO/CONTROLLO	,7%	,2%	,4%
ASTEMIO	Conteggio	118	112	230
	% entro CASO/CONTROLLO	26,6%	20,4%	23,1%
BEVE	Conteggio	161	230	391
	% entro CASO/CONTROLLO	36,3%	41,8%	39,3%
BEVE OCCAS	Conteggio	162	207	369
	% entro CASO/CONTROLLO	36,5%	37,6%	37,1%
Totale	Conteggio	444	550	994
	% entro CASO/CONTROLLO	100,0%	100,0%	100,0%

b) BIRRA

Tavola di contingenza

		CASO/CONTROLLO		Totale
		Control	Case	
BIRRA	Conteggio	3	1	4
	% entro CASO/CONTROLLO	,7%	,2%	,4%
ASTEMIO	Conteggio	192	211	403
	% entro CASO/CONTROLLO	43,2%	38,4%	40,5%
BEVE	Conteggio	16	24	40
	% entro CASO/CONTROLLO	3,6%	4,4%	4,0%
BEVE OCCAS	Conteggio	232	313	545
	% entro CASO/CONTROLLO	52,3%	56,9%	54,8%
NON RISPONDE	Conteggio	1	1	2
	% entro CASO/CONTROLLO	,2%	,2%	,2%
Totale	Conteggio	444	550	994
	% entro CASO/CONTROLLO	100,0%	100,0%	100,0%

c) LIQUORI

Tavola di contingenza LIQUORECAT * CASO/CONTROLLO

			CASO/CONTROLLO		Totale
			Control	Case	
LIQUORECAT	astemio	Conteggio	354	448	802
		% entro CASO/CONTROLLO	83,5%	86,3%	85,0%
	una volta a settimana	Conteggio	32	30	62
		% entro CASO/CONTROLLO	7,5%	5,8%	6,6%
	piu' volte settimana	Conteggio	26	32	58
		% entro CASO/CONTROLLO	6,1%	6,2%	6,2%
	tutti i giorni o piu'	Conteggio	12	9	21
		% entro CASO/CONTROLLO	2,8%	1,7%	2,2%
Totale		Conteggio	424	519	943
		% entro CASO/CONTROLLO	100,0%	100,0%	100,0%

Per consentire una valutazione più generale della associazione fra MdP e consumo di alcool, gli individui in studio sono stati separati in bevitori (any time) e non bevitori (never) (Tabella 11).

Tabella 11. Consumi di alcool in casi e controlli.

Tavola di contingenza ALCOOLCAT * CASO/CONTROLLO

			CASO/CONTROLLO		Totale
			Control	Case	
ALCOOLCAT	Astemio	Conteggio	8	8	174
		% entro CASO/CONTROLLO	20,1%	15,6%	17,6%
	Bevitore	Conteggio	353	461	814
		% entro CASO/CONTROLLO	79,9%	84,4%	82,4%
Totale		Conteggio	442	546	988
		% entro CASO/CONTROLLO	100,0%	100,0%	100,0%

I risultati mostrano un incremento significativo del rischio di MdP nei bevitori (p<0.05). L'analisi logistica, dopo la correzione per gli actual confounders mantiene un lieve incremento di rischio per i bevitori non occasionali di vino che però non è più significativo [OR=1.18; 0.83-1.69]. Similmente, anche il fatto di essere stato bevitore nella vita o anche di bere occasionalmente, non incrementa in modo significativo il rischio nei confronti di chi non ha mai bevuto [OR=1.23; 0.86-1.76]. I risultati dell'analisi sembrano essere in contrasto con quanto riportato in letteratura. Una recente meta-analisi su 32 studi ha evidenziato un minor rischio di MdP nei bevitori di birra, dato non riscontrato invece nei bevitori di vino e liquori. Alcuni lavori, che riportano un ridotto rischio di MdP nei bevitori, in realtà non hanno dissociato il consumo di alcool dal dato sull'abitudine al fumo di sigaretta, fattore riconosciuto come protettivo verso la malattia. Per una migliore valutazione dei risultati, va considerato che il consumo abituale di birra nel campione considerato è risultato notevolmente ridotto, per le abitudini alimentari della vecchie generazioni della italiana.

popolazione italiana. Infine, sono state valutate in maggior dettaglio alcune delle caratteristiche fisiche di casi e controlli, per evidenziare possibili associazioni con parametri antropometrici, quali peso, altezza e la loro combinazione, cioè l'indice di massa Corporea (BMI). Le analisi descrittive di peso e altezza non rivelano alcuna associazione significativa, mentre il BMI, con un p value di 0.74 richiede ulteriore valutazione (Tabella 12 a,b,c)

Tabella 12

a) PESO

Tavola di contingenza

			CASO/CONTROLLO		Totale
			Control	Case	
NTILES of PESO_ABIT	1	Conteggio	161	180	341
		% entro CASO/CONTROLLO	36,9%	32,9%	34,7%
	2	Conteggio	129	182	311
	% entro CASO/CONTROLLO	29,6%	33,3%	31,6%	
	3	Conteggio	146	185	331
	% entro CASO/CONTROLLO	33,5%	33,8%	33,7%	
Totale		Conteggio	436	547	983
		% entro CASO/CONTROLLO	100,0%	100,0%	100,0%

a) ALTEZZA

Tavola di contingenza

			CASO/CONTROLLO		Totale
			Control	Case	
NTILES of ALTEZZA	1	Conteggio	155	176	331
		% entro CASO/CONTROLLO	36,6%	32,5%	34,3%
	2	Conteggio	132	186	318
	% entro CASO/CONTROLLO	31,1%	34,3%	32,9%	
	3	Conteggio	137	180	317
	% entro CASO/CONTROLLO	32,3%	33,2%	32,8%	
Totale		Conteggio	424	542	966
		% entro CASO/CONTROLLO	100,0%	100,0%	100,0%

c) BMI

Tavola di contingenza

			CASO/CONTROLLO		Totale
			Control	Case	
NTILES of BMI	1	Conteggio	137	187	324
		% entro CASO/CONTROLLO	32,3%	34,5%	33,5%
	2	Conteggio	129	190	319
	% entro CASO/CONTROLLO	30,4%	35,1%	33,0%	
	3	Conteggio	158	165	323
	% entro CASO/CONTROLLO	37,3%	30,4%	33,4%	
Totale		Conteggio	424	542	966
		% entro CASO/CONTROLLO	100,0%	100,0%	100,0%

La distribuzione dei percentili di BMI fra casi e controlli non è omogenea per sesso, anche se il relativo termine di interazione non raggiunge la significatività statistica. L'analisi stratificata per sesso, rivela comunque un OR più elevato per i maschi, dove la presenza nel percentile di BMI più elevato appare ridurre il rischio di MdP [OR=0.59;0.41-0.86] anche dopo la correzione per i confondenti. In questo caso si pone un possibile effetto di multiple comparisons da tenere in considerazione.

I risultati concordano con quanto riportato in letteratura, per cui i pazienti parkinsoniani tendono ad avere un minore BMI rispetto ai controlli; questa caratteristica sembrerebbe comparire già dieci anni prima dell'insorgenza della malattia. Inoltre un basso peso corporeo risulterebbe associato ad una maggiore gravità di malattia. Un recente lavoro ha associato un basso BMI e il dimagrimento ad una ridotta rappresentazione dei neuroni dopaminergici nigrostriatali nei pazienti parkinsoniani in fase precoce di malattia. Lo scarso apporto di nutrienti e la conseguente riduzione di tessuto adiposo potrebbero determinare un aumento dello stress ossidativo, della eccitotossicità, della disfunzione mitocondriale e della neuroinfiammazione, fenomeni che favorirebbero la neurodegenerazione. Come ipotesi alternativa, si potrebbe supporre che la perdita di neuroni dopaminergici striatali determini un'alterazione dei circuiti della dopamina che rivestono un ruolo importante nella regolazione dell'assunzione di cibo, con diminuzione dell'appetito e ridotto BMI nei pazienti con MdP.

Progetto in collaborazione con Istituto Superiore di Sanità e altri centri Cefalee Italiani

Secondo le recenti stime dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, i pazienti affetti da emicrania nel mondo sono 1.012.944.000 (Lim et al 2012). L'emicrania è quindi la terza malattia più frequente del genere umano e si conferma la malattia neurologica più disabilitante (2.6 volte più della Sclerosi Multipla, 3.3 volte più dell'Alzheimer, 40.6 volte più del Parkinson).

L'emicrania cronica (EC) - cefalea presente >15 giorni al mese da almeno 3 mesi - deriva dall'evoluzione progressiva di un'emicrania episodica (EE). Si calcola che ogni anno approssimativamente il 2.5% dei soggetti affetti da EE presenti una trasformazione in forma cronica (Manack AN et al 2011) e che tale percentuale possa raggiungere il 14% se rilevata in centri specialistici (Katsarava et al 2004). La prevalenza della EC nella popolazione generale varia considerevolmente in rapporto all'area geografica ed anche in relazione ai diversi criteri classificativi. Essa oscilla dal 0.5% al 5.1%, con una prevalenza media del 1.4%-2.2%, simile a quella della epilessia (Natoli JL et al 2010).

Esistono dei fattori di rischio riconosciuti per la trasformazione dell'emicrania episodica (EE) in EC: sesso femminile, età, basso livello socioeconomico, separazione o divorzio, eventi stressanti, obesità, russamento, patologie dolorose concomitanti, traumi cranici o cervicali, abuso di caffeina, iperuso di farmaci, ansia, depressione, presenza di allodinia durante l'attacco emicranico ed una frequenza degli attacchi emicranici > 6/mese (Lipton RB et al 2009).

E' dimostrato che i soggetti con EC, rispetto a quelli con EE, hanno maggiori comorbidità (psichiatriche, cardiocerebrovascolari, respiratorie, dolori cronici, osteoartrosi e obesità) (Buse et 2010; Bigal et al 2008) ed imponenti costi economici diretti (spese mediche, farmaci, ospedalizzazione) ed indiretti (mancata produttività, assenteismo); in Italia circa 3.5 miliardi di euro all'anno (Bloudek LM et al 2012).

L'EC è una patologia ad alto impatto economico sia per il soggetto sia per il sistema sanitario. Lo studio longitudinale americano AMPP (American Migraine Prevalence and Prevention) ha stimato una media di costi annuali per persona, includendo i costi diretti e quelli indiretti, circa 4.4 volte maggiori per i soggetti affetti da EC rispetto a quelli con EE (7.750\$ vs 1.757\$) (Munakata et al 2009). Le spese mediche, l'accesso al pronto soccorso, le visite mediche generali o specialistiche sono significativamente maggiori nei soggetti con EC rispetto a quelli con EE con costi totali diretti per individuo oltre 10 volte superiori e quasi 50 volte maggiori rispetto a soggetti con altre forme di cefalea episodica (Lantéri-Minet M et al 2003). I soggetti affetti da EC hanno maggiore disabilità (scala MIDAS: 63.4 EC vs 10 EE) (Lipton 2010), significativa riduzione della qualità della vita (Lantéri-Minet M et al 2011), minore produttività, e minor probabilità di avere impieghi full time (37.8% EC vs EE 52,3%) e circa il doppio di probabilità di essere disoccupati (20% EC vs EE 11.1%) (Buse et al 2010; Blumfeld et al 2011). Più della metà dei pazienti con EC (57.4%) ha riportato una perdita di 5 giorni di lavoro o scuola in più nei precedenti 3 mesi rispetto a quelli affetti da EE (24.3%) ed il 58.1 % una ridotta produttività in confronto al 18.2% nella EE (Buse et al 2012). Malgrado l'alta prevalenza e la disabilità della EC, solo il 6.6% dei soggetti con EC assume un farmaco preventivo antiemicranico, i restanti 84,6% solo farmaci analgesici per l'attacco, in prevalenza antinfiammatori, che per altro risultano efficaci solo nella metà dei casi (Lantéri-Minet M et al 2003). Non stupisce come la metà dei soggetti con EC vada incontro alla medication overuse headache (MOH) con un rischio globale che si aggira tra 31.1%-69.2% (Prencipe M et al 2001; Zwart et al 2004; Castillo et al 1999). Solo un quarto dei pazienti con EC ritorna a forma episodica in un periodo di 2 anni, quelli che continuano ad essere cronici malgrado la profilassi hanno un aumento della disabilità correlato alla cefalea (Manack A et al 2010). L'utilizzo di esami diagnostici e strumentali nei soggetti con CDH è molto alto; nel lavoro di Lantéri-Minet M (Lantéri-Minet M et al 2003) si è stimato che il 53,8% dei soggetti avesse effettuato esami strumentali per la cefalea. Lo scopo del progetto è quello di creare un registro nazionale per le cefalee croniche in collaborazione in rete con altri centri, valutando:

- gli aspetti clinico-assistenziali (garantire identificazione, visibilità ed accesso alle cure per la popolazione affetta da EC);
- gli aspetti economici (consentire la riduzione dell'enorme aggravio economico, rappresentato da tali pazienti, in termini di costi diretti per il SSN e per la società - visite mediche, procedure diagnostiche o terapeutiche inutili/inadeguate, accessi al Pronto Soccorso o ospedalizzazioni - ed indiretti - riduzione della produttività, assenteismo) mediante il controllo del grado di appropriatezza diagnostico-terapeutica dei diversi centri/ospedali, promuovendo l'applicazione delle vigenti linee guida AGENAS. Il progetto si prefigge inoltre di regolamentare l'accesso dei

pazienti alle moderne procedure terapeutiche ad alto costo (impianto di neurostimolatori, tossina botulinica, anticorpi monoclonali, ecc);

- gli aspetti medico-legali (definire i criteri di farmacoresistenza nella EC allo scopo di ottenere l'estensione a tutto il territorio nazionale di quanto previsto dalla Circolare Regionale della Lombardia n° 30 del 14/12/06 pubblicata sul BUR regionale il 15/1/07 in tema di invalidità civile per le cefalee croniche farmacoresistenti);

- gli aspetti scientifici (creare il primo database al mondo sulla EC. Al database clinico-epidemiologico è associato un database biologico che consente lo sviluppo di studi di correlazione fenotipo-biotipo (biobanca, system-medicine).

Materiali e Metodi:

Interlocutori:

- Riferimento del registro sono i medici operanti nei centri cefalee ospedalieri, universitari e territoriali italiani selezionati

- Figure professionali coinvolte: Neuroepidemiologo, Biostatistico, Neurologi, Data Manager, Biologo.

Strumenti e metodi per la rilevazione dei dati:

- I dati demografici, epidemiologici e clinici dei pazienti vengono raccolti mediante una apposita scheda su un portale web creato ad hoc

- Sono identificati 2 neurologi di riferimento disponibili a fornire per via telefonica, web o fax informazioni dettagliate su procedure ecc.

Durata del progetto: 36 mesi.

Attività svolte:

Nella prima fase del progetto, sono stati coinvolti complessivamente 4 centri. Successivamente sarà valutato l'inserimento di altri centri nel progetto.

Elenco dei centri partecipanti:

- Roma: IRCCS San Raffaele Pisana – Centro Cefalee (centro coordinatore)
- Milano: Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta- Centro Cefalee
- Bologna: Alma Mater Studiorum Università di Bologna – Centro Cefalee
- Parma: Università di Parma- Centro Cefalee

E' stato creato un registro/database informatizzato per la raccolta dei dati, suddiviso nei seguenti moduli:

1. Dati anagrafico-demografici
2. Dati fisiologici
3. Dati clinici su cefalea cronica e precedente cefalea episodica
4. Dati socio-sanitari

La raccolta dati avviene durante la prima visita ambulatoriale.

Ad ogni centro e ad ogni paziente è assegnato un codice per garantire l'anonimato.

Si valuta la creazione di una piattaforma con web-based data entry, che permette l'unione di tutti i dati, la verifica dell'andamento e il monitoraggio delle attività e della qualità dei dati.

La fase pilota del progetto è terminata. Prima dell'arruolamento si è progettato e validato un database ad hoc per la raccolta dei dati.

I 4 Centri Cefalee coinvolti (IRCCS San Raffaele Pisana di Roma, Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Università degli Studi di Parma, IRCCS Istituto Besta di Milano) hanno arruolato 77 pazienti affetti da emicrania cronica. Per ogni paziente sono state raccolte più di 400 variabili riguardanti il settore anagrafico-demografico, socio-sanitario, le caratteristiche cliniche della cefalea cronica e di quella pregressa episodica, gli accertamenti strumentali e medici riguardanti la cefalea effettuati nel corso della vita, le eventuali comorbidità, la terapie farmacologica sintomatica e di profilassi.

I dati preliminari hanno evidenziato che l'età media dei soggetti era di 47.5 (DS± 14.7), il sesso in prevalenza femminile 65 F:12 M. La media dell'età di esordio della cefalea episodica era di 15.4 (DS ±6.7), nel 37.7% dei casi i pazienti avevano un familiare di primo grado affetto da cefalea. Nella forma episodica prima della cronicizzazione si è potuto riscontrare che in prevalenza i pazienti

assumevano FANS (64.9%) rispetto ai triptani e farmaci di associazione. Il 32.5% dei soggetti che ha poi sviluppato l'emicrania cronica aveva un'alta frequenza di attacchi (> 6 attacchi/mese) all'esordio, la forma di cefalea più frequente era l'emicrania senza aura (43%), il dolore era più frequentemente unilaterale (43%) e di intensità moderata (64%) con caratteristiche pulsante (62%), nel 50% dei casi veniva riferita allodinia e nel 60% una disabilità moderata legata agli attacchi. Lo stress è un fattore di cronicizzazione statisticamente significativo ($p=0.028$).

La modalità di ricorso a cure era di tipo 'fai-da te' nel 22.1% dei pazienti e l'11.7% dei pazienti aveva effettuato accertamenti strumentali auto prescritti. I ricoveri ospedalieri per cefalea sono stati riferiti dal 24.7% dei pazienti, gli accessi in pronto soccorso per cefalea si sono verificati nel 32.5% dei casi.

E' in corso l'arruolamento di altri pazienti. L'analisi statistica dei dati verrà effettuata in forma definitiva a fine progetto.

Area di Ricerca Cardiovascolare

CENTRO NAZIONALE PER LA PREVENZIONE E IL CONTROLLO DELLE MALATTIE (CCM2011)

Modelli innovativi di gestione integrata tele-gestita ospedale-territorio del malato cronico a fenotipo complesso: studio di implementazione, validazione ed impatto.

Centro coordinatore: Fondazione Salvatore Maugeri Lumezzane
IRCCS San Raffaele Pisana, Unità Operativa 2
Altre Unità Operative coinvolte: Regione Veneto, Università di Firenze.

La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) è comune nei pazienti con scompenso cardiaco (SCC) ed è predittiva di mortalità in modo indipendente; la stessa cosa vale per lo SCC che è, a sua volta, comune nei soggetti affetti da BPCO, nei quali si riuniscono molteplici fattori di rischio cardiovascolare.

Si tratta quindi di un malato complesso, multimorbido, spesso fragile che mostra un altissimo rischio di re-ospedalizzazioni e che necessita di una cura integrata con un approccio personalizzato e multidisciplinare. Il programma proposto vuole intervenire sui molteplici problemi medico-infermieristici e gestionali che il paziente con patologia cronica deve affrontare alla dimissione.

Si tratta di uno studio randomizzato (1:1), controllato, prospettico della durata di 4 mesi più ulteriori 4 mesi di follow-up. Sono arruolati nei quattro centri coinvolti 120 pazienti con fenotipo complesso (SCC e BPCO accertate e documentate) con almeno una ospedalizzazione per una delle due cause nei 6 mesi precedenti. Nel gruppo di trattamento i pazienti sono seguiti al domicilio tramite un percorso di telemonitoraggio e ri-Allenamento domiciliare all'esercizio fisico. I pazienti del gruppo controllo sono seguiti tramite l'assistenza usuale fornita a questa tipologia di pazienti. Vengono eseguite visite di controllo a 4 mesi ed 8 mesi in cui vengono eseguiti esami clinici, questionari e scale di valutazione.

Il percorso domiciliare dei pazienti arruolati nel gruppo di trattamento nei primi 4 mesi prevede:

1. Telemonitoraggio domiciliare: Contatti telefonici programmati dall'infermiere e dal fisioterapista, contatti telefonici occasionali richiesti dal paziente per la gestione delle richieste di assistenza su sintomatologia 24 ore su 24 e gestione di un database clinico – comune e disponibile su web – consultabile da tutto lo staff sanitario della U.O.

2. Telemonitoraggio: trasmissione telematica di dati clinici (ECG monotraccia, saturimetria)
3. Attività fisica effettuata con mini-ergometro (massimo wattaggio 40 W) e pesi (da 500 gr) forniti dalla U.O, tramite un pacchetto riabilitativo personalizzato ed un DVD esplicativo per gli esercizi callistenici da eseguire (già disponibile presso la Fondazione Maugeri IRCCS Lumezzane). L'attività fisica è valutata con la versione italiana della scala PASE che viene somministrata all'inizio del percorso, dopo un mese al domicilio, dopo 4 e 8 mesi. Il paziente viene incentivato a camminare ogni giorno per tutta la durata del percorso. Viene consegnato un podometro e gli verrà chiesto di cercare di eseguire una quantità di passi ogni giorno superiore al giorno precedente. Gli viene chiesto inoltre di segnarsi i passi effettuati ogni giorno da riferire all'infermiere o al fisioterapista durante la telefonata programmata.

4. Visite domiciliari del fisioterapista effettuate una il giorno successivo all'arruolamento, per impostare ed altre a necessità dopo averlo concordato con l'infermiere tutor e il medico di riferimento.

Il percorso domiciliare dei pazienti arruolati nel gruppo A nei successivi 4 mesi.

Alla fase intensiva educativa svolta dal personale infermieristico e fisioterapico nei primi 4 mesi di percorso, segue una fase a minore intensità assistenziale, nei successivi 4 mesi (bassa intensità) con l'esecuzione di un minor numero di contatti programmati sia da parte dell'infermiere sia del fisioterapista (uno ogni due settimane), mantenendo la possibilità di contatto occasionale da parte del paziente se necessario. L'obiettivo è verificare l'empowerment del paziente e valutare il grado di mantenimento degli obiettivi raggiunti.

Centro Servizi di Telemedicina

Il centro servizi svolge un duplice ruolo:

- Da un lato offre il supporto tecnologico per i servizi di telemedicina, consentendo la trasmissione dei dati clinici, l'applicazione del protocollo decisionale e la gestione del database centralizzato.
- Dall'altro offre un servizio di call center "clinico" di 2° opinion nei festivi e nelle ore serali e notturne.

Il centro servizi è anche responsabile della elaborazione periodica dei dati per la costruzione degli indicatori di sintesi e di valutazione del servizio sperimentale.

Punto di forza della sperimentazione è la continuità di gestione dei pazienti. Ciò implica che il centro servizi debba condividere tutte le informazioni relative al percorso (ad es. telefonate e dati relativi alle segnalazioni dei pazienti) con l'infermiere tutor afferente all'unità operativa ospedaliera coinvolta.

Risultati dei Gruppi arruolati nell' IRCCS San Raffaele Pisana ,Cardiologia Riabilitativa

Nel mese di Marzo si è concluso il follow-up dello studio, nel quale sono stati arruolati 42 pazienti (20 gruppo A e 22 gruppo B).

I 20 pazienti che componevano il gruppo A (trattamento), 18 uomini e 2 donne, hanno portato a termine lo studio in assenza di drop-out. In questo gruppo tra T0 e T4 sono stati necessari 3 ricoveri per patologie cardiache (1 ricovero per scompenso cardiaco, 1 ricovero per angina ingravescente, 1 ricovero per impianto di PMK).

Dei 22 pazienti che componevano il gruppo B (controllo), 15 uomini e 7 donne, in 18 hanno terminato studio, ci sono stati 3 drop-out tra T0 e T4 ed un drop-out tra T4 e T6 (i pazienti hanno rifiutato di continuare lo studio in oggetto). Nei pazienti appartenenti al gruppo B (controllo) sono stati necessari, tra T0 e T4, 3 ricoveri per patologie cardiache (1 ricovero per impianto ICD, un ricovero per scompenso cardiaco, un ricovero per scompenso cardiaco associato ad FA ad elevata risposta ventricolare) e 3 ricoveri per patologie polmonari (2 BPCO riacutizzata, 1 polmonite). Al termine del percorso effettuato dai soggetti arruolati, è stato rilevato un miglioramento statisticamente significativo della tolleranza allo sforzo, un miglioramento della sintomatologia ed una riduzione della frequenza di riospedalizzazioni per riacutizzazione

Tabella. Test Funzionali Gruppo A

Test funzionali	Inizio	Fine
MWT	301.8 ± 90.7	447.7 ± 81.2
PASE	141.5 ± 68.4	151.9 ± 73
MINNESOTA	20.5 ± 8.1	9.8 ± 5.6
CAT	12.8 ± 3.1	6.3 ± 3.3
BARTHEL	87.1 ± 3.9	100

AGENZIA SPAZIALE ITALIANA (ASI)

Programma di esercizio fisico strutturato come contromisura verso l'intolleranza ortostatica indotta dalla permanenza nello spazio

Secondo i dati disponibili, nessun programma di esercizio fisico strutturato è mai stato svolto dagli astronauti, specificamente rivolto a valutare gli adattamenti neurovegetativi in risposta a uno specifico programma di allenamento, quale definito dalla dose di attività fisica da svolgere al fine di prevenire o almeno ridurre l'intolleranza ortostatica che si verifica al rientro nello spazio gravitazionale terrestre dopo voli spaziali.

La prescrizione ottimale di esercizio (in termini di modalità, frequenza, intensità e durata) per raggiungere questo scopo negli astronauti non è stata ancora identificata.

In altre parole, la domanda: "quanto e quale tipo di esercizio fisico è necessario per migliorare la tolleranza ortostatica", rimane attualmente senza risposta.

Recentemente, il gruppo di ricerca ha sviluppato un nuovo metodo chiamato TRIMPi (individualized Training IMPulses) che rappresenta una misura integrata, e individualmente determinata, delle risposte biologiche al carico di allenamento. Questo metodo utilizza un unico parametro che tiene conto degli effetti sia del volume che dell'intensità del programma di allenamento, cioè la dose di esercizio, sulla regolazione nervosa cardiovascolare. Questo metodo è stato utilizzato sia in corridoi di maratona che in pazienti affetti da insufficienza cardiaca.

E' stato riscontrato un rapporto dose-response curvilineo tra il carico di allenamento individualizzato (cioè il valore di TRIMPi) e i parametri che esprimono il funzionamento del sistema nervoso autonomo con un incremento della variabilità del componente a bassa frequenza del battito cardiaco e della pressione arteriosa, marker di modulazione simpatica cardiaca e vascolare, al picco del carico di esercizio allenante.

L'aumento di attività simpatica diretta al cuore e ai vasi potrebbe essere fondamentale nel prevenire l'intolleranza ortostatica, poiché una ridotta risposta simpatica vasocostrittrice rappresenta un meccanismo predominante dell'intolleranza ortostatica, assieme al contributo di un incremento relativamente attenuato della FC. Pertanto piani di allenamento di resistenza aerobica, di elevata intensità, programmati individualmente sulla base del TRIMPi, potrebbero dimostrarsi efficaci nel contrastare l'intolleranza ortostatica degli astronauti dopo voli spaziali.

Di conseguenza, lo scopo del progetto è valutare l'efficacia di un programma di allenamento aerobico strutturato, personalizzato in base al TRIMPi, nel prevenire l'intolleranza ortostatica e i meccanismi che ne sono all'origine, legati principalmente alla regolazione nervosa cardiovascolare, in astronauti durante un volo spaziale. Come consolidata metodologia per la valutazione del controllo nervoso del sistema cardiovascolare durante lo stress ortostatico (ortostatismo attivo) pre- e post-volo spaziale, sono utilizzati l'analisi spettrale della variabilità della FC e della pressione arteriosa e la sensibilità baroriflessa.

A questo fine, gli astronauti fanno uso dei sistemi esistenti di esercizio e di monitoraggio cardiovascolare presenti a bordo della ISS come il tapis-roulant, il modulo ARMS, un sistema di ricerca fornito dall'Agenzia Europea Spaziale che dovrebbe essere disponibile a terra e a bordo dello shuttle o dell'European Physiological Module. Tutto ciò consente di prevedere un'alta possibilità di successo di questo progetto.

I dati ottenuti da questo studio potrebbero fornire una base per la progettazione efficace di programmi di addestramento all'esercizio fisico che possono effettuare gli astronauti in future missioni di lunga durata sull'ISS, in cui protocolli di contromisure di attività fisica sono fortemente consigliate dall'Agenzia Spaziale Europea e dalla NASA

Lo sviluppo di contromisure specifiche per accelerare la riabilitazione di equipaggi in missioni di esplorazione potrebbe trovare delle applicazioni cliniche nel prevenire disturbi legati all'inattività o a problemi di gravitazione e ai disabili qui sulla terra. Queste contromisure saranno benefiche

per prevenire disfunzioni autonome legate allo stress gravitazionale come quelle riscontrate nei soggetti allettati e con scompenso cardiaco come ipotensione ortostatica, l'atrofia o antigravità dei muscoli, ecc. Questo punto è particolarmente importante nella nostra società che sta invecchiando con molte persone anziane costrette a letto. La conoscenza accumulata dagli studi sulle funzioni neurali autonome nello spazio dovrebbe essere di grande utilità per stabilire contromisure e metodi preventivi efficaci per diverse categorie di pazienti caratterizzati da segni e sintomi di disfunzioni autonome.

In conseguenza di indisponibilità dell'astronauta ad eseguire il protocollo oggetto dello studio, insorti durante la fase di baseline data collection a terra prima del volo, in accordo con l'Agenzia Spaziale Italiana si è stabilito di procrastinare lo studio alla prossima missione spaziale sulla ISS prevista per il 2017, con l'astronauta italiano Paolo Nespoli a bordo.

AGENZIA ITALIANA DEL FARMACO (AIFA) – BANDO 2009

Trattamento farmacologico nell'anziano con patologia cardiovascolare associata a malattie croniche: inappropriata prescrittiva e valutazione di esito nella popolazione istituzionalizzata e residente in comunità

Centro Coordinatore: Dipartimento di Farmacologia Clinica e Preclinica, Università di Firenze
 Unità 1: IRCCS San Raffaele Pisana, in collaborazione con le Regioni Lazio e Puglia
 Ruolo dell'Unità: definizione degli indicatori di prescrizione inappropriata (PI); raccolta dati; analisi statistiche.

Il presente studio è osservazionale retrospettivo multicentrico e coinvolge tra le varie Unità Operative anche l'Area di Scienze Internistiche dell'IRCCS San Raffaele Roma Pisana. Il protocollo in oggetto è volto a identificare, come obiettivi primari:

- i principali indicatori di prescrizione inappropriata (PI) tra pazienti anziani, istituzionalizzati e residenti in comunità, affetti da malattie cardiovascolari (ovvero insufficienza cardiaca, aritmia cardiaca, malattia coronarica, ictus ischemico ed emorragico) e altre comorbidity croniche;
- la relazione tra gli indicatori di PI identificati e end-point "hard" nelle suddette coorti di pazienti anziani. Nel progetto è prevista la valutazione delle cartelle cliniche/database di pazienti in tre differenti setting: ricoveri ospedalieri (setting A), database di medicina generale (setting B) e residenze comunitarie o case di cura (setting C). L'Area di Scienze Internistiche dell'IRCCS San Raffaele Roma Pisana si occupa dell'analisi retrospettiva dei dati tratti dalle cartelle cliniche delle Residenze Sanitarie Assistenziali (RSA) relative alle regioni Lazio e Puglia. Nell'anno 2013 è stato effettuato un emendamento sostanziale al progetto relativo alla modificazione del periodo di revisione dei dati clinici relativi al setting C (RSA). Tale emendamento è stato richiesto in seguito alla pubblicazione nel 2012 di nuovi criteri di PI che avrebbero potuto influenzare l'approccio prescrittivo da parte del personale medico,

Per quanto riguarda la costruzione dei database delle RSA, poiché la numerosità campionaria della popolazione avrebbe potuto non essere sufficiente (qualora si fossero identificati i soli soggetti con diagnosi "incidente" di patologia cardiovascolare al baseline), è stato deciso di utilizzare i soggetti con patologia cardiovascolare "prevalente", riservandosi di valutare la numerosità dei soggetti "incidenti" per eventuali analisi di sensibilità. Per la costruzione del database dei dati amministrativi, le dimensioni hanno permesso di identificare una coorte di soggetti con patologia cardiovascolare incidente (data indice) al baseline.

Le patologie concomitanti in studio sono state identificate nel periodo precedente (o concomitante) la data indice.

È stato deciso di considerare ogni categoria farmacologica che, qualora impiegata nel soggetto anziano con patologia cardiovascolare ed altre comorbidity, incrementi il rischio di eventi cardiovascolari acuti, ospedalizzazione e mortalità (esiti primari del protocollo). A tal scopo sono stati esaminati i criteri di inappropriata ad oggi noti (es.: Beers) integrati da una revisione della letteratura esistente incentrata sul paziente anziano con patologia cardiovascolare. Gli indicatori sono stati quindi esaminati, in questa fase, senza escludere i farmaci cardiovascolari (o altre categorie farmacoterapeutiche) che, per caratteristiche delle popolazioni in cui saranno "validati", avrebbero potuto comportare problematiche di interpretazione dei risultati (i.e., confondimento da indicazione).

È stata creata una query "standard" che identifica ed estrae nei database amministrativi, attraverso il flusso delle dimissioni ospedaliere, i pazienti affetti da patologie cardiovascolari (SDO codificate tramite gli specifici ICD9CM indicati nel protocollo). Tale query verrà successivamente adattata alle strutture dati dei sistemi informativi delle varie unità.

È attualmente in corso la definizione degli indicatori di PI, mediante due fasi:

1. revisione degli indicatori ad oggi noti (es.: criteri di Beers) assieme ad una valutazione sistematica sia delle linee guida di trattamento delle patologie per le quali i "farmaci inappropriati" in studio vengono impiegati (i.e., approccio di definizione degli indicatori CRIME) che della letteratura medica;
2. valutazione degli indicatori selezionati effettuata in base ad un consenso di esperti tramite il metodo Delphi (i.e., scala "tipo Likert").

Sono stati presi in esame, assieme ai nuovi indicatori, anche i criteri selezionati dal Geriatric Working Group AIFA.

NEURON Joint Call 2011: "European Research Projects on Cerebrovascular Diseases".

Role of danger signals in stroke and therapeutic targeting by nanobodies (NanoStroke)- Partner del progetto

Il Progetto europeo è coordinato dal Dr. Tim Magnus, Germania.

L'attività svolta si è concentrata nella selezione e allestimento di colture cellulari neuronali. Tali colture sono necessarie per lo studio del ruolo dei recettori purinergici nella regolazione di: a) resistenza delle cellule neuronali alla deprivazione di ossigeno e glucosio (oxygen glucose deprivation, OGD) che mimano le condizioni a cui sono esposte in seguito ad ictus; b) ruolo dei recettori purinergici con particolare attenzione al P2Y11 e P2X7 nella regolazione delle funzioni delle cellule infiammatorie esposte a sostanze rilasciate da cellule neuronali danneggiate da esposizione a condizioni di OGD prolungate. L'attività di allestimento delle colture cellulari ha compreso la selezione dei tipi cellulari più adatti all'approccio sperimentale scelto, l'acquisizione di strumentazione idonea a generare la condizione di OGD, la coltura e la raccolta di mezzi condizionati di cellule neuronali esposte a diverse intensità di OGD.

Unione Europea - "7th Framework Programme"

SICA-HF: Studio della valutazione delle co-morbidity determinanti un peggioramento dello Scompenso Cardiaco

Il progetto prevede la collaborazione con i seguenti Istituti:

- Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany, Applied Cachexia Research, Department of Car-

- Military Hospital Wroclaw, Poland
- Medizinische Hochschule Hannover, Germany
- GABO:mi Gesellschaft für Ablauforganisation :milliarium mbH & Co. KG, Germany
- Universität Rostock, Germany
- V.A. Almazov Federal Center for Heart, Blood & Endocrinology, Russian Federation
- M V Lomonosov Moscow State University, Russian Federation
- Institute of Cardiology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Russian Federation
- Russian Cardiology Research and Production Complex, Russian Federation

Area di ricerca epidemiologia clinica e molecolare

AGENZIA SPAZIALE EUROPEA (ESA)

SmartCARE

SmartCARE (Satellite enhanced Multi-channel e-health Assistance for Remote Tele-rehabilitation and CAREgiving) è una piattaforma innovativa di servizi ICT per l'e-Health la cui implementazione e progettazione è finanziata dalla European Space Agency (ESA) e sviluppata nell'ambito del programma ARES 3-4, dove medici e pazienti si incontrano virtualmente per gestire i percorsi di riabilitazione neuromotoria, attraverso un processo collaborativo, che consente l'ottimizzazione della terapia sanitaria direttamente a casa del cittadino. SmartCARE è basata su servizi di Assistenza Domiciliare Integrata, che assicurano una costante verifica del processo terapeutico senza richiedere la presenza in loco di personale medico.

SmartCARE riduce i costi operativi delle terapie, senza ridurre l'efficacia clinica delle cure e dell'assistenza. Basandosi sull'uso della comunicazione satellitare, SmartCARE permette a tutti i cittadini di accedere ai servizi offerti senza discriminazione sociale, eliminando le barriere del 'digital divide'.

Attivando uno spazio collaborativo tra medici e terapeuti per gestire pazienti con diverse esigenze di riabilitazione neuromotoria la piattaforma in via di sviluppo, pianifica la terapia di cura in ogni dettaglio, aggiorna il quadro clinico dei progressi terapeutici attraverso un controllo del paziente da remoto e in tempo reale, avverte tempestivamente il paziente, il medico, il terapeuta, se gli effetti della terapia non rispondono in modo adeguato alle attese della cura, verifica lo svolgimento del percorso riabilitativo, raccoglie le misure dei parametri vitali generati da sensori biomedicali, aggiorna i dati clinici del paziente.

SmartCARE è ideata per assicurare i seguenti obiettivi di cura: prolungare il periodo di riabilitazione; valutare l'efficacia del trattamento terapeutico mediante misure biometriche continuative oggettive e replicabili; permettere la comunicazione tra personale medico, terapeuti e familiari per il controllo costante dei pazienti.

SmartCARE permette ai pazienti a casa di effettuare le procedure riabilitative, gestendo le misure quantitative che interessano sia gli aspetti cognitivi (riconoscimento, riorganizzazione, classificazione, associazione, attenzione), che quelli cinetici del movimento (distanza percorsa, velocità) degli arti superiori e inferiori. L'interazione tra il personale medico/sanitario e il paziente è concepito in un ambiente che consente la "gamification" per stimolare il paziente a raggiungere gli obiettivi terapeutici in maniera motivata e partecipativa. L'IRCCS San Raffaele Pisana, responsabile della sperimentazione clinica e della definizione delle caratteristiche essenziali e della correttezza dei protocolli riabilitativi collabora al progetto insieme all'ITSLab di Napoli, Alpha Consult di Milano, il CNR di Napoli.

Ricerca sponsorizzata

A trial of inhaled nebulised unfractionated heparin in patients with chronic obstructive pulmonary disease

Sponsor: Ockham Biotech Ltd, United Kingdom

La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) è una delle principali cause di morbilità emortalità nel mondo. La BPCO è caratterizzata da progressiva ostruzione e distruzione del parenchima polmonare ed è causata dall'esposizione degli individui geneticamente predisposti a fattori ambientali, tra cui il fumo di tabacco, l'inquinamento e il fumo da biomassa combustibile.

L'eparina non frazionata ha molteplici effetti farmacologici. L'ipotesi di base è che per via inalatoria, l'eparina possa avere effetti mucolitici e antiinfiammatori locali e che nel breve periodo possano migliorare il flusso d'aria, la capacità di esercizio e fornire sollievo dai sintomi.

L'obiettivo primario dello studio è quello di dimostrare il miglioramento della funzione polmonare dopo la terapia con eparina per via inalatoria; gli obiettivi secondari mirano a dimostrare il miglioramento della capacità di esercizio, della dispnea e correlazione con marcatori di infiammazione delle vie aeree.

Vengono inclusi nello studio pazienti con BPCO grave, o moderata, di età compresa tra 50-85 anni, FEV1 (% predetta) 20-70%; capacità funzionale residua > 120% del normale predetto; 20 soggetti in ogni gruppo.

L'intervento prevede acqua nebulizzata inalatoria in un gruppo, per via inalatoria nebulizzata eparina non frazionata (Calciparina, Italfarmaco, Italia) 75.000 unità ogni 12 ore per 21 giorni un altro gruppo, e aspirò nebulizzata eparina non frazionata 150.000 unità ogni 12 ore per 21 giorni in un terzo gruppo.

L'endpoint primario di questo studio clinico è un significativo aumento del FEV1 di 140 ml. Endpoint secondari sono un miglioramento significativo della dispnea (Punteggio di Borg), intrapolamento (FVC, IC, RV / TLC) prima e dopo 6 minuti cicloergometro e capacità di esercizio (test di 6 minuti a piedi), e una diminuzione dello sputo di IL-8 livelli, C5a, MMP-9, MPO e l'attività dei neutrofili elastasi, con nessun cambiamento significativo nei parametri della coagulazione del sangue (APTT e conta piastrinica).

Ci si attende un miglioramento della capacità respiratoria dei pazienti in trattamento e una valutazione delle concentrazioni efficaci del farmaco; una correlazione con marcatori dell'infiammazione e della coagulazione del sangue.

Nel 2015 sono stati arruolati 39 pazienti; sono stati criopreservati campioni di espettorato e siero. Sono in corso le valutazioni di efficacia.

Antioxidant Effect of Treatment with Ginkgo Biloba L. leaf extract (IDN 5933) on DNA cell maintenance and Genomic stability: a randomised study versus placebo

Sponsor: Indena S.p.A

La pianta di Ginkgo Biloba, originaria dell'Asia orientale, ha da sempre svolto la funzione di erba medica per le sue innumerevoli proprietà benefiche in virtù delle sostanze in essa contenute.

Gli estratti delle foglie di Ginkgo Biloba, contenenti il 24% di flavonoidi e il 6% di terpeni, sono ad oggi utilizzati in diverse patologie e per il miglioramento delle funzioni cognitive. Il principale meccanismo di azione di Ginkgo Biloba è il suo effetto antiossidante multiplo; inoltre recenti studi suggeriscono benefici derivanti da Ginkgo Biloba, nella prevenzione della demenza.

In letteratura esistono numerosi studi sulle proprietà antiossidanti dell'estratto di Ginkgo Biloba foglie ed in particolare sul suo ruolo anti-demenza.

La stabilità del DNA è in molti casi il fattore chiave nell'eziologia e nello sviluppo di malattie croniche, dalle quali nella maggioranza dei casi risultano affetti gli anziani.

Tale studio consiste in una ricerca medico-scientifica volta a valutare i benefici della somministrazione prolungata nel tempo su soggetti sani, dell'estratto del Ginkgo Biloba (IDN 5933), integratore alimentare dalle proprietà antiossidanti, in termini di mantenimento dell'integrità del DNA

DNA e di stabilità genomica.

La sostanziale mancanza di effetti clinici avversi a seguito di assunzione dell'estratto di Ginkgo biloba L. foglie da parte della popolazione nel corso dei secoli è ampiamente accertata ed è anche documentata in letteratura e, pertanto, la presente ricerca si propone anche di valutare la sicurezza del suddetto trattamento con IDN 5933 in soggetti umani a livello molecolare, per verificare che accanto a benefici attesi non insorgano potenziali reazioni avverse al farmaco (ADR), tra cui epatotossicità e genotossicità.

La sperimentazione clinica GiBiEx è promossa e finanziata dalla Società INDENA S.p.A. e coinvolge 3 residenze sanitarie assistenziali della rete San Raffaele, la RSA San Raffaele Rocca di Papa, la RSA San Raffaele Montecompatri e la RSA San Raffaele Sabaudia, in collaborazione con l'IRCCS San Raffaele Pisana, quale centro coordinatore e di analisi dei dati.

Lo Studio GiBiEx prevede l'arruolamento complessivo di 100 soggetti assistiti presso le suddette RSA San Raffaele, in possesso dei seguenti criteri di inclusione:

- pazienti residenti in RSA di età \geq di 65 anni
- aspettativa di vita > 1 anno
- rilascio di consenso informato firmato

Si tratta di uno studio clinico randomizzato, controllato con placebo e a doppio cieco e della durata complessiva di 6 mesi per ogni soggetto, a partire dalla data di arruolamento.

Lo studio si propone di valutare gli effetti di IDN 5933, confrontato con un placebo, in soggetti umani trattati con dosi terapeutiche per sei mesi, in termini di mantenimento dell'integrità del DNA e della stabilità genomica.

La valutazione dell'integrità del DNA viene effettuata per mezzo del Comet Assay, una tecnica microelettroforetica, atta alla misura ed alla visualizzazione del danno al DNA a livello di cellule individuali. Come test biomarcatore valuta l'esposizione nell'ambiente di lavoro ad agenti mutageni testando l'integrazione alimentare con antiossidanti, o controllando i livelli di stress ossidativo in relazione alle diverse malattie.

La valutazione della stabilità genomica viene effettuata per mezzo del Micronucleous Assay, test che consente di misurare la frequenza dei micronuclei nei linfociti del sangue periferico (in 1000 celle binucleate), correlata, se superiore a valori normali, a danni cromosomici indotti.

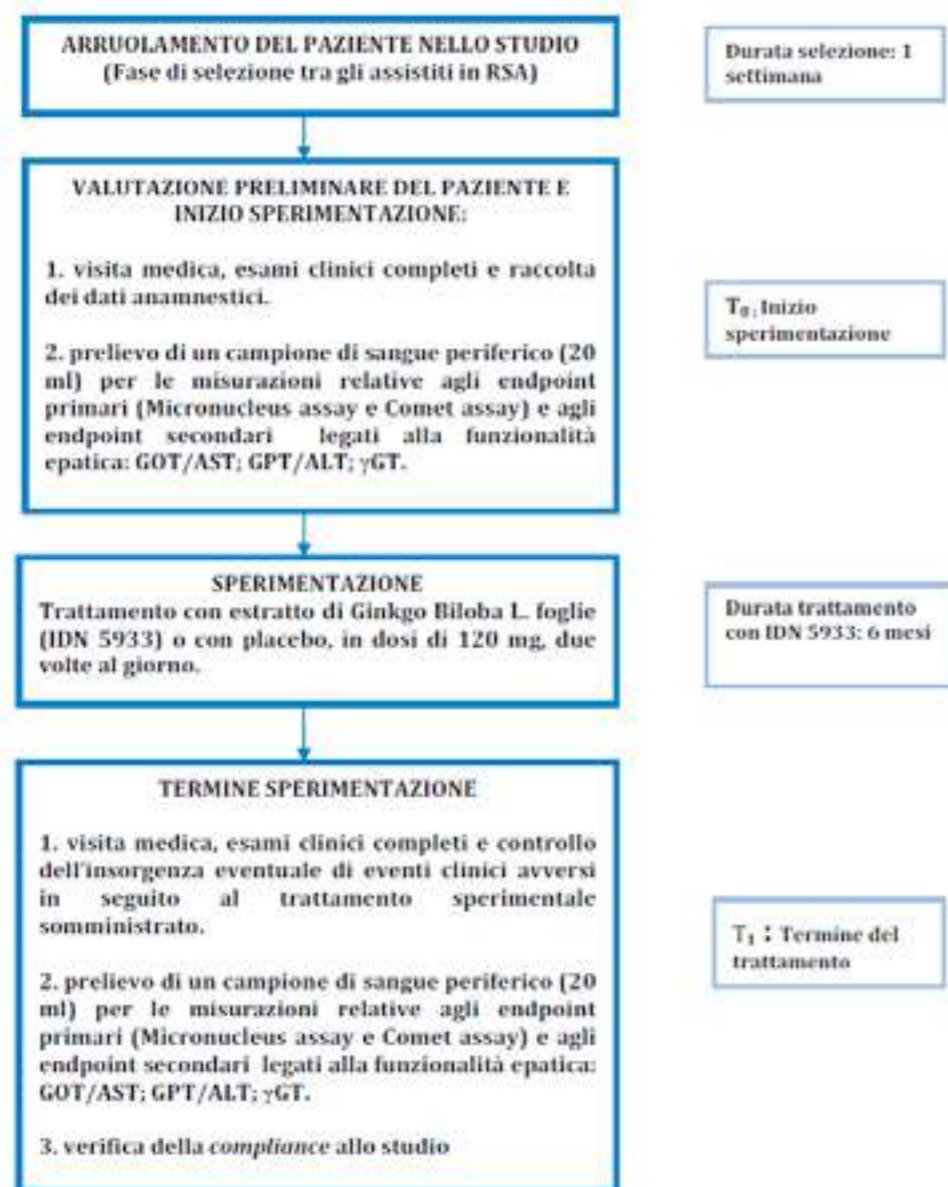
Lo studio si prefigge inoltre di effettuare una valutazione preliminare della sicurezza di IDN 5933 in soggetti umani trattati con dosi terapeutiche in termini di reazioni avverse ai farmaci, epatotossicità e genotossicità.

Con riferimento a tutti i pazienti arruolati viene effettuata:

- a) valutazione clinica completa all'inizio ed alla fine dello studio.
- b) verifica dell'insorgere di eventuali effetti derivanti dal trattamento con IDN 5933 o placebo.
- c) monitoraggio delle funzioni epatiche sulla base degli esami biologici di laboratorio e dei sintomi clinici.

Un sottogruppo di 20 pazienti è monitorato anche riguardo a pattern di espressione di geni che si ipotizza siano associati ad eventi precoci mutageni (H-ras e Ctnnb 1). Vengono pertanto rilevati per ciascuno di loro, all'inizio e alla fine del periodo di sperimentazione, parametri quali l'intensità del segnale H-ras e Ctnnb 1.

Flow-chart della procedura di conduzione dello Studio GiBiEx:
Trattamento con Estratto di Ginkgo Biloba L. Foglie (IDN 5933) e riduzione del danno al DNA e dell'instabilità genomica: uno studio randomizzato versus placebo.



Nel corso del 2015 sono stati arruolati 62 pazienti di cui sono stati isolati e crio-preserved a -80°C i linfociti per successiva analisi di valutazione dell'integrità del DNA (Comet assay). Su questi soggetti è stato effettuato il test del MN che sarà valutato nel 2016. Nel corso del 2016 si concluderà l'arruolamento dei pazienti e si condurranno le analisi finali. Viene valutato l'effetto antiossidante di IDN 5933 sull'integrità del DNA e sulla stabilità genomica nei soggetti in studio.

Studio sulla Complessità dell'Anziano in RSA: creazione di un data-BasE traslaziOnale. Progetto Sc@rabeo

Sc@rabeo è l'acronimo di Studio sulla Complessità dell'Anziano in RSA: creazione di un dataBasE traslaziOnale. L'obiettivo del progetto è la creazione di una banca dati geriatrica volta a promuovere la ricerca e a migliorare le cure in una ampia popolazione di anziani residenti presso un gruppo di Residenze Sanitarie Assistenziali (RSA) distribuite sul territorio Nazionale. Il progetto di ricerca coinvolge le RSA del gruppo San Raffaele di Rocca di Papa, Flaminia, Trevignano, Montecompatri, Rosa Dei Marganai, San Nicandro Garganico, Troia, Andria, Modugno, Alberobello, Locorotondo, Ostuni, Campi Salentina, Alessano, Crispiano, Torricella. È l'estensione a tutte le RSA del gruppo San Raffaele di un progetto pilota condotto presso le RSA di Rocca di Papa, Trevignano, Alberobello, Andria. Il progetto prevede la compilazione della scheda di valutazione multidimensionale LTCF (Long Term Care Facility) e di una scheda di acuzie, riguardante tutti i pazienti con età > 65 anni, residenti in RSA, attraverso la suite web based "Atl@nte web". Ad ottobre 2015 nel database erano presenti 816 pazienti per i quali sono state rilevate un totale di 426 variabili classificate secondo la seguente tabella:

Area	Voci
A	Informazioni di identificazione
B	Dati personali all'ingresso
C	Stato cognitivo
D	Comunicazione, sfera uditiva, visiva
E	Umore e comportamento
F	Benessere psicosociale
G	Funzione fisica
H	Continenza negli ultimi 3-5 gg
I	Diagnosi di malattia lunga
J	Condizioni di salute
K	Stato nutrizionale, cavo orale
L	Condizioni della cute
M	Coinvolgimento in attività
N	Farmaci
O	Trattamento e prevenzione
P	Responsabilità legale
Q	Potenziale alla dimissione
S	Dimissione

Alcune variabili vengono registrate sia in prima valutazione che nel corso delle successive visite in struttura.

Il progetto è stato avviato in tutte le RSA del gruppo San Raffaele. È stato acquistato il software Atl@nte e distribuito per consentire localmente l'input via web. Gli ospiti delle varie RSA ricevono una valutazione multidimensionale all'ingresso e mediamente ogni 6 mesi. Al 31 ottobre 2015 sono stati inseriti dati di circa 816 soggetti. Utilizzando il database Sc@rabeo sono stati ottenuti due progetti AIFA, coordinati dall'Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma, e dall'Università di Firenze, mirati alla valutazione della inappropriata prescrizione in popolazioni di anziani istituzionalizzati. Nel corso del prossimo anno è previsto il raggiungimento della soglia dei 1000 soggetti con valutazioni ripetute. La disponibilità di tale database, che determinerà la fine della fase di avvio, permetterà l'avvio della produzione scientifica.

Valutazione di biomarker di instabilità genetica, danno ossidativo e lesioni precoci in sangue, cellule esfoliate dalla mucosa boccale ed esalato bronchiale di lavoratori a rischio-amianto

Il progetto è stato disegnato per approfondire le conoscenze degli eventi precoci della cancerogenesi da amianto e per pianificare con i risultati ottenuti strategie di prevenzione e di management degli esposti. A tale scopo stati comparati una batteria di biomarcatori di instabilità genetica, di danno ossidativo e di lesioni precoci in personale addetto alla bonifica di amianto, in soggetti non esposti ad amianto e in soggetti sottoposti a esposizione intensa ad amianto nel passato.

Rispetto al progetto iniziale sono state apportate alcune modifiche al reclutamento dei soggetti esposti, a causa della difficoltà di reclutare lavoratori correntemente esposti ad asbesto. Gli unici lavoratori ufficialmente esposti risultavano quelli addetti allo smaltimento. Il protocollo originale ne prevedeva il rintracciamento tramite sportelli asbesto di alcune ASL romane. Sfortunatamente questo piano si è rivelato non percorribile vista l'esiguità del numero di lavoratori, il loro rapido turnover, e per la loro frammentazione in un grande numero di aziende di piccole dimensioni. La soluzione a questo problema è consistita in un reclutamento tramite fonti diverse, prevalentemente soggetti reclutati nei gruppi di ex-esposti o controlli per i quali era stata rilevata la presenza di esposizione corrente ad asbesto, oltre ai soggetti in alcuni setting particolari ad esposizione nota (quali ad esempio i lavoratori arsenale, La Spezia). In tutti i soggetti sono stati misurati i seguenti biomarcatori di danno genomico e danno ossidativi: Micronuclei, Addotti DNA, Leukotriene-Isoprostano Citochine e SMRP.

Il progetto si è concluso con un reclutamento di 467 individui di cui 186 non esposti, 201 provenienti dalla coorte dei soggetti con pregressa esposizione e 80 correntemente occupati in lavorazioni che prevedono la possibile esposizione ad amianto.

I risultati riportati dalla letteratura scientifica al momento della stesura del progetto prevedevano la validazione di biomarker di instabilità genetica (micronuclei), di danno ossidativo (addotti della malondialdeide al DNA, 8-idrossi-deossiguanosina), e di lesioni precoci (mesotelina, biomarker legati all'angiogenesi) in soggetti con esposizione presente e passata ad amianto in ambito professionale. Fra le altre priorità da valutare vi erano l'utilizzo della mucosa orale come tessuto surrogato alternativo e meglio accetto rispetto ai linfociti periferici e la fattibilità dell'utilizzo di esalato bronchiale prelevato con metodo semplice e del tutto non-invasivo per l'analisi di biomarcatori di danno ossidativo per rilevare l'esposizione ad amianto. Tutti i risultati attesi sono stati ottenuti. La presenza di alcune criticità non ha limitato le potenzialità dello studio, che ha prodotto risultati di grande rilievo, evidenziando la presenza di danni di tipo ossidativo nei gruppi esposti, con particolare rilievo per i gruppo degli ex-esposti che, sebbene pensionati, subiscono ancora il carico di una esposizione durata in molti casi tutta la vita. Questi soggetti rappresentano una priorità sanitaria, equiparabile ad altre realtà di ex-esposti per i quali sono ancora da individuare marcatori in grado di evidenziare elementi precoci di cancerogenesi oltre ad elementi di suscettibilità, che permettano di distinguere nel gruppo degli ex-esposti chi è maggiormente suscettibile al rischio di cancro e quindi obiettivo prioritario di ogni intervento di prevenzione personalizzata.

I risultati del progetto evidenziano un incremento di instabilità genomica sostanziale solo negli ex-esposti, evidenziando in questo modo due aspetti di maggior rilievo.

Il primo è la limitata entità del danno nei soggetti attualmente esposti ad asbesto. In effetti la mancanza di evidenti incrementi nella frequenza di micronuclei e di altri indicatori di danno genetico in questo gruppo indica come le misure atte a tutelare questi lavoratori dagli effetti genotossici delle fibre di asbesto siano da considerarsi efficaci.

genetico in questo gruppo indica come le misure atte a tutelare questi lavoratori dagli effetti genotossici delle fibre di asbesto siano da considerarsi efficaci.

Al contrario, la presenza di incrementi significativi nella frequenza di micronuclei, confortata dai risultati paralleli osservati per gli indicatori di esposizione e la frequenza di addotti da danno ossidativi indicano come il gruppo degli ex-esposti sia quello che maggiormente necessita di una stretta sorveglianza sanitaria e di studi ad hoc dedicati ad individuare i lavoratori o ex-lavoratori che per motivi di suscettibilità genetica o per un maggior effetto dei danni precoci richiedono interventi preventivi o diagnostici personalizzati. Presenta particolare interesse la valutazione di questi risultati in funzione della implementazione di strategie preventive in gruppi di ex esposti a cancerogeni, sia come sorveglianza sanitaria, che come validazione di biomarcatori di rischio. È anche interessante prevedere la validazione dei biomarcatori utilizzati nel progetto per studi di chemioprevenzione, soluzione abbandonata da molti anni nel campo dell'esposizione a fibre di asbesto.

Fondazione per la Ricerca Scientifica Termale (FORST)

Effectiveness of thermal water nasal inhalation and irrigation in rhinopharyngitis and sinusitis

Rinofaringite e sinusite sono un problema di salute comune. Alcuni effetti benefici di cure inalatorie con acque termali sono stati dimostrati in termini di sintomi, funzionalità nasale, citologia e microbiologia. Tali effetti potrebbero dipendere dalla regolazione dell'espressione di diverse componenti del sistema immunitario innato nelle cellule dell'epitelio nasale.

La ricerca intende valutare l'efficacia di un ciclo standard di 2 settimane di cure inalatorie con acqua termale in 200 pazienti adulti con rinofaringite o sinusite, reclutati consecutivamente tra quanti vi si sottopongono presso le Terme di Genova srl, Acquasanta. Le misurazioni includono scala dei sintomi, valutazione clinica, rinomanometria e livelli locali di un pannello di biomarker dell'infiammazione (High Throughput RT PCR analysis, Western Blotting). Nell'analisi dei dati si terrà conto di fattori quali fumo di tabacco, esposizioni lavorative, dieta.

Obiettivi secondari sono la valutazione dell'efficacia a 1 anno dalle inalazioni, in termini di sintomatologia e di eventi acuti; dei fattori clinici e socio-economici che influenzano la compliance dei pazienti e i cambiamenti nella sintomatologia a breve e a lungo termine; degli eventuali eventi avversi.

All'accettazione, il medico responsabile della ricerca intervista il paziente utilizzando un questionario strutturato per la raccolta delle informazioni su lavoro, fumo, dieta, anamnesi patologica remota e a 1 anno (in particolare ORL), punteggio sulla scala dei sintomi. Viene effettuata una valutazione clinica comprendente una rinomanometria con lavaggio nasale e la raccolta di cellule della mucosa nasale (T0).

Dopo 2 settimane, terminato il ciclo standard di cure inalatorie, si ripetono scala dei sintomi e valutazione clinica, e si valuta la tollerabilità della terapia (T1).

Un anno dopo, il paziente viene intervistato telefonicamente su anamnesi patologica a 1 anno, particolarmente ORL, scala dei sintomi ed eventuali cambi di abitazione, lavoro, fumo, dieta(T2). Questionari, schede cliniche e campioni biologici vengono contrassegnati con un codice alfanumerico, per assicurare la cecità dello studio e il rispetto della privacy. Un database dedicato con accesso ristretto raccoglie dati e informazioni relativi ai pazienti.

Le cellule nasali sono analizzate con High Throughput (HT) real-time PCR utilizzando una card con 48 mini-pozzetti contenenti altrettanti geni implicati nel sistema immunitario innato e nell'infiammazione, per identificare in 25 pazienti un numero appropriato di geni candidati da testare in seguito in singoli saggi per Real-time PCR negli altri camponi. Le proteine pro-infiammatorie corrispondenti vengono visualizzate nel lisato cellulare per Western blot con gli anticorpi appropriati. Dopo analisi statistica uni- e multivariata, i risultati dello studio sono condivisi con la comunità

scientifica internazionale.

L'unità di Epidemiologia Clinica e Biostatistica, IRCCS San Raffaele Pisana, Roma ha l'incarico di garantire la gestione del progetto. In questo ruolo, ha curato gli adempimenti amministrativi e quelli relativi ai Comitati Etici, garantendo inoltre la comunicazione tra i partner e con l'ente finanziatore.

È stato presentato al Comitato Etico Regionale della Liguria un emendamento (sostituzione dello Sperimentatore responsabile presso Terme di Genova), ottenendo parere favorevole.

Il reclutamento dei pazienti e la raccolta di campioni biologici proseguono, mentre è cominciato il follow-up telefonico a un anno (T2). Dopo la pausa estiva, in cui il Reparto Medico Inalatorio delle Terme di Genova è chiuso, il reclutamento è ripreso in settembre. In totale, a circa 200 pazienti eleggibili è stato chiesto di partecipare allo studio, 160 hanno aderito, 140 hanno concluso la fase T1 e 40 la fase T2. Il PI incontra regolarmente il personale delle Terme per il monitoraggio e il supporto al reclutamento e per la gestione dei campioni biologici.

Tali campioni, opportunamente codificati, vengono conservati presso la struttura in un congelatore dedicato e sono periodicamente inviati al laboratorio di Roma per le analisi.

I dati clinico-epidemiologici e i parametri rinomanometrici vengono inseriti in un database Excel costruito appositamente.

Sono stati organizzati alcuni incontri con il personale addetto alle analisi di laboratorio e alle analisi statistiche, nonché con un esperto otorinolaringoiatra.

Proseguono le analisi di espressione genica e proteine sui campioni nasali raccolti, ("Sapienza" University - Human Physiopathology e IRCCS San Raffaele Pisana - Unit of Cellular and Molecular Pathology). In particolare, è stata misurata l'espressione di geni della risposta infiammatoria-riparativa tramite l'uso di una card microfluida, come descritto nel progetto. Inoltre, è stata validata l'espressione genica, misurando l'espressione delle proteine codificate da quei geni che hanno mostrato un aumento o una diminuzione significativa nei pazienti sotto trattamento, paragonati a soggetti di controllo.

Sono stati pubblicati articoli scientifici in cui viene riconosciuto il contributo di FORST. È ripresa la revisione della letteratura sull'utilizzo di acqua termale nella terapia delle patologie nasali.

Il progetto terminerà nel maggio 2016. Si prevede di concludere il reclutamento dei 200 pazienti previsti per la sperimentazione (T0 e T1) e di effettuare un congruo numero di interviste telefoniche (T2). Si concluderanno l'input dei dati nel database, le analisi di laboratorio e le analisi statistiche, per procedere alla pubblicazione dei risultati della sperimentazione.

AIRC -Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro

An international network for standardisation and validation of the Comet Assay as a cancer risk biomarker

ComNet è un network di ricercatori, lanciato nel settembre del 2011, che utilizza la Comet Assay, o Test della Cometa, negli studi di biomonitoraggio umano. ComNet affronta i problemi che insorgono nella comparazione dei risultati del Test della Cometa tra diversi laboratori e ha come finalità la validazione di tale test come strumento di biomonitoraggio e come indicatore di rischio di cancro e di altre malattie cronico-degenerative associate all'invecchiamento o alla presenza di mutazioni.

Le principali priorità del ComNet Project sono di accertare che il Test della Cometa sia uno strumento affidabile di biomonitoraggio per studi sull'uomo e di stabilire la rilevanza del danno al DNA (come misurato dal Test della Cometa) per la salute umana e per il rischio di cancro e di altre malattie legate all'invecchiamento.

Nell'ambito di una collaborazione internazionale, sulla base degli importanti risultati dei precedenti studi internazionali - il progetto HUMN, International Collaborative Project on Micronucleus

precedenti studi internazionali - il progetto HUMN, International Collaborative Project on Micronucleus Frequency in Human Populations e il progetto ESCH, European Study Groups on Chromosome Damage and Health - che hanno fornito una decisiva validazione di questi biomarcatori da un punto di vista tecnico e come indicatori di rischio stabilendo il nesso tra il danno al DNA nei soggetti sani e il rischio di cancro, il progetto ComNet si propone di generare un database pooled assemblando dati individuali provenienti da oltre 100 laboratori che lavorano con il Test della Cometa.

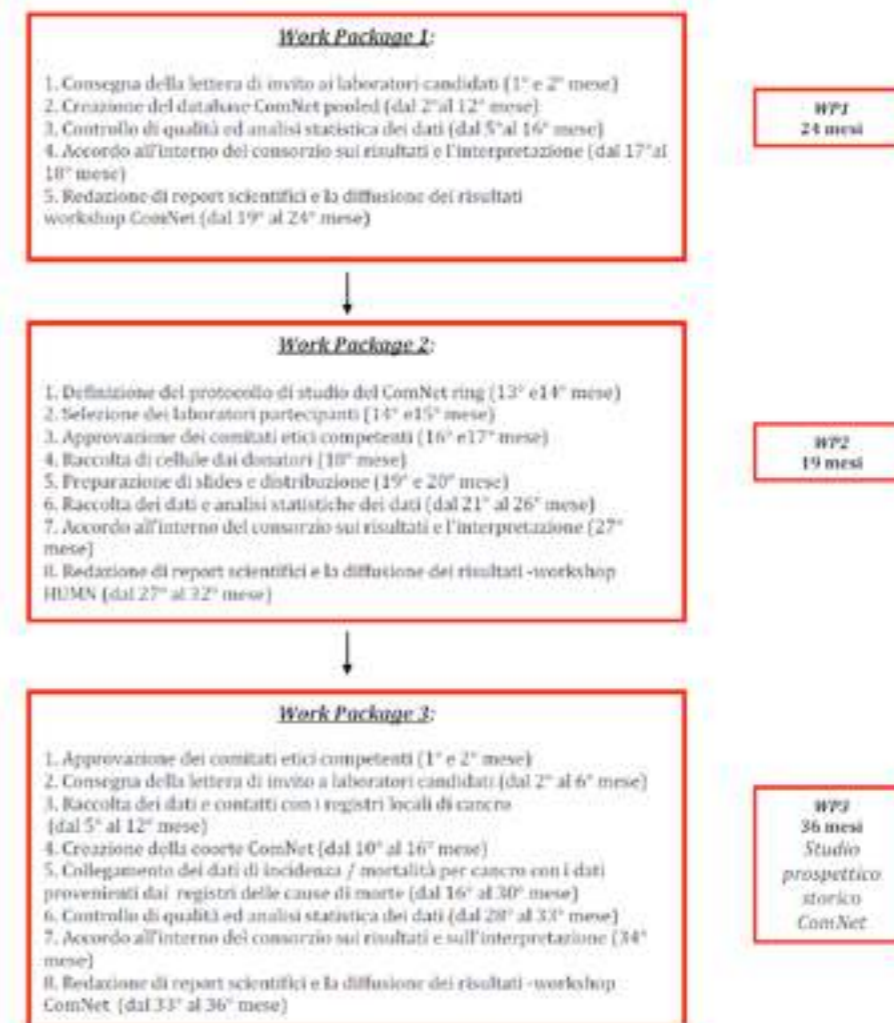
ComNet Project è uno studio osservazionale di coorte storica, no profit, promosso dall'IRCCS San Raffaele Pisana, in collaborazione con la rete di 49 laboratori internazionali, aderenti al progetto ComNet, co-finanziato dall'associazione AIRC (all'interno delle "Call for Proposals 2015". Il progetto ComNet, della durata complessiva di 36 mesi, si articola pertanto in 3 Work Packages). Il progetto si prefigge di:

- Creare una coorte di soggetti (partecipanti a ricerche già pubblicate) in cui è valutata la presenza di alterazioni del DNA con la Comet Assay, per stabilire i livelli basali di danno al DNA e per valutare l'associazione con il livello di danno al DNA di alcune variabili critiche quali sesso, età, fumo, occupazione, fattori nutrizionali/stile di vita.

- Identificare le caratteristiche tecniche che riguardano la misurazione del danno al DNA e proposta di protocolli standard.

- Valutare la presenza di associazione tra le misure del danno al DNA in soggetti sani e l'incidenza del cancro/mortalità: lo studio prospettico storico ComNet.

Flow-chart del ComNet Project
"Creazione di una rete internazionale per la standardizzazione e validazione del Test della Cometa come marcatore di rischio di cancro"



La dimostrazione di un legame tra il livello di danno e l'incidenza del cancro/mortalità può drasticamente cambiare l'interpretazione di tale test (come è avvenuto per le aberrazioni cromosomiche, micronuclei, addotti del DNA) soprattutto per la possibile influenza sulle strategie preventive, per l'implicazione legale e per le potenziali applicazioni cliniche.

Risultati positivi aprirebbero prospettive importanti che riguardano la possibilità di utilizzare il Test della Cometa in oncologia clinica (ad esempio per la diagnosi precoce) e nella prevenzione del cancro. La disponibilità di un metodo standardizzato e convalidato potrebbe avere conseguenze anche su altri campi in cui è utilizzato il Test della Cometa: gli studi in vitro/in vivo di genotossicità; la ricerca di base; il monitoraggio (come marker di esposizione/effetti precoci in ambito occupazionale).

7° PROGRAMMA QUADRO

FRAIOMIC Initiative: Utility of omic-based biomarkers in characterizing older individuals at risk for frailty, its progression to disability and general consequences to health and well-being - The FRAIOMIC Initiative

Il progetto è coordinato dall'Università di Madrid e prevede la collaborazione con:

- Servicio Madrilenio de Salud
- World Health Organization
- Life Length SL
- YH TouHealth AB
- Evercyte GMBH
- Sistema Genomicos SL
- Mosauques Diagnostica GMBH
- Innovacion Desarrollo Y Transferenc de Tecnologia SA
- Nihce Science & Technology LTD
- University of Bedfordshire
- Universidad Autonoma de Madrid
- Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse
- Institut Nazional de la Sante et de la Recherche Medicale (INSERM)
- Azienda Sanitaria di Firenze
- Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma
- Università di Innsbruck
- Cardiff Metropolitan University
- Friedrich Schiller University Jena
- Universitat de Valencia

Area di ricerca Biotecnologie Avanzate

Progetto Merit - Nuovi networks molecolari per il controllo dell'omeostasi energetica: implicazioni per il diabete di tipo 2 e l'obesità

Le malattie metaboliche (es. diabete di tipo 2 e obesità) hanno elevate implicazioni sociali e un impatto significativo sulla salute pubblica, a causa principalmente della loro elevata incidenza e la percentuale di complicanze. A complicare ulteriormente il quadro è il dato epidemiologico di una significativa associazione tra alterazioni metaboliche e cancro. In tale contesto, l'obiettivo primario del progetto è stato focalizzato sull'attivazione ed implementazione di un database clinico e biobanca per lo studio di pazienti affetti da neoplasie solide e/o diabete di tipo 2 (DT2), mentre gli obiettivi secondari sono stati definiti nella caratterizzazione di possibili biomarcatori da utilizzare nella valutazione prognostica e nella risposta al trattamento di pazienti con malattie dimetaboliche con o senza cancro.

Il Progetto si è concluso nel mese di Luglio 2015. Alla data di chiusura progetto, sono stati raccolti e centralizzati nella BioBIM dell'IRCCS San Raffaele Pisana campioni biologici ottenuti da oltre 3000 soggetti, inclusi pazienti affetti da tumori solidi e pazienti con DT2 (di cui il 17% con patologie oncologiche associate), nonché individui apparentemente sani da utilizzare quale popolazione di controllo.

Per quanto riguarda l'implementazione tecnologica, prevista tra gli obiettivi del progetto, è stato sviluppato un software dedicato (SPRECware) di visione globale per il massimo sfruttamento dei codici SPREC (www.spreware.org), che mira a facilitare l'interscambio di campioni tra i centri coinvolti in specifici progetti di ricerca. Il criterio di base utilizzato nella messa a punto del software è dato dalla possibilità di associare ciascun campione conservato nella Biobanca ad un codice che ne riassume le informazioni preanalitiche (SPREC). Questo approccio permette alle biobanche di condividere un trasferimento dati completamente automatizzato senza alcun intervento manuale, a condizione che i laboratori coinvolti nello scambio di campioni condividano il codice SPREC. L'adozione di SOPs (Standard Operating Procedures) per il controllo della qualità dei campioni biologici legato alle fasi della loro processazione, ha rappresentato un ulteriore obiettivo della ricerca. I risultati ottenuti hanno consentito di individuare QC ottimali, sia per i fluidi sia per i campioni tessutali. Inoltre, al fine di garantire una certificazione incontrovertibile dell'unicità del campione e per evitare possibili contaminazioni, è stata messa a punto una metodica di DNA fingerprinting caratterizzata da una elevata semplicità di esecuzione e particolarmente adatta per l'identificazione biologica e la valutazione della possibile contaminazione del campione.

La messa a punto delle procedure operative e la raccolta di campioni biologici con le specifiche cliniche richieste dallo studio hanno permesso di effettuare alcuni studi specifici al fine di individuare patterns biomolecolari correlabili allo sviluppo di malattia o alla predittività della risposta al trattamento. In particolare, sono state eseguite alcune analisi di varianti genetiche di rischio oncologico ed una valutazione analitica dello stato pro-trombotico di pazienti con patologie oncologiche e/o DT2 al fine di potenziare la valutazione diagnostica e/o prognostica di tali pazienti. Per quanto attiene lo studio dell'associazione tra DT2 ed aumentato rischio di carcinogenesi, in virtù delle evidenze sperimentali di un coinvolgimento dell'insulina nella promozione e nella progressione del carcinoma della mammella, è stata ipotizzata l'esistenza di un'associazione tra iperinsulinemia, indipendentemente dalla presenza di DT2 conclamato, ed indici di sopravvivenza. L'analisi retrospettiva su oltre 300 campioni di pazienti con carcinoma della mammella, reclutati nel corso del progetto, ha dimostrato che le pazienti con carcinoma della mammella non diabetiche hanno un assetto glicemico alterato rispetto a soggetti di controllo appaiati per età, indice di massa corporea ed assetto lipidico. Inoltre, l'insulina si è rivelata un fattore prognostico indipendente sia per quanto riguarda la sopravvivenza libera da recidiva che il tempo alla progressione,

indipendentemente dallo stadio di malattia, dall'espressione dei recettori ormonali o di Her2/NEU e dall'indice di proliferazione Ki67. I risultati ottenuti nel corso di queste ricerche sono stati oggetto di disseminazione scientifica nell'ambito del Convegno EGEA VII – "Healthy Diet, Healthy Environment within a fruitful economy: The Role of Fruit and Vegetables" (tenutosi a Milano nel mese di giugno 2015) ed al 18th ECCO – 40th ESMO European Cancer Congress (tenutosi a Vienna nel mese di settembre 2015). Risultati sovrapponibili sono stati ottenuti in pazienti con carcinomi del colon retto, anche se il contributo della sindrome metabolica in questo gruppo di pazienti sembrerebbe avere un peso maggiore rispetto a quelli con carcinoma della mammella.

PON 2007-2013

Biomarker, Biomateriali e Farmaci Innovativi per la Diagnosi e per la Terapia dell'ischemia Cerebrale e dei Tumori Plurifarmacoresistenti della Testa, del Collo e della Mammella Attraverso la Realizzazione di una Rete di Biobanche – BIBIOFAR

Nel corso del 2015, è proseguita l'analisi di biomarcatori prognostici nel carcinoma della mammella. In particolare, alla luce dei dati ottenuti nel progetto MERIT, e confortati dai dati sperimentali su modelli in vitro o animali di un coinvolgimento dell'insulina nella promozione e progressione del carcinoma della mammella è stata estesa l'analisi degli effetti di un alterato pathway glicemico sulla sopravvivenza libera da progressione (PFS) in sottogruppi di pazienti caratterizzati da fenotipi tumorali più aggressivi e più difficili da trattare [(HER2-negativo ed ormono-resistenti, o triplo-negativi (TNBC)]. In particolare, è stato dimostrato che i livelli plasmatici di insulina misurati prima del trattamento hanno un valore prognostico negativo in pazienti HER2 negativi, una sottoclasse di pazienti in cui il trattamento con farmaci biologici (trastuzumab) non trova indicazione. In particolare, è stato dimostrato che un livello di insulina inferiore a 13 microU/ml (cutoff calcolato mediante analisi ROC) era in grado di discriminare un sottogruppo di donne con carcinoma della mammella HER2-negativo caratterizzate da un esito più favorevole, con una percentuale di progressione a 5 anni del 87% rispetto al 52% delle donne con livelli plasmatici di insulina al di sopra di questo cutoff, in maniera indipendente dallo stato dei recettori ormonali. In accordo con questi risultati, l'analisi del sottogruppo di pazienti TNBC arruolati nello studio ha dimostrato che pazienti con livelli di insulina al di sopra del cutoff avevano un PFS peggiore (sopravvivenza a 5 anni: 33%) rispetto ai pazienti con livelli di insulina al di sotto del cutoff (sopravvivenza a 5 anni: 80%). Questi risultati indicano che i livelli plasmatici di insulina misurati prima di qualsiasi trattamento potrebbero avere un ruolo prognostico non solo negli stadi precoci, come precedentemente ipotizzato, ma anche nelle fasi avanzate di malattia ed in sottogruppi a prognosi peggiore. Questi risultati assumono particolare rilevanza soprattutto alla luce degli effetti positivi degli interventi di stile di vita in relazione al rischio di carcinoma della mammella e della possibilità di un intervento farmacologico adiuvante con farmaci antidiabetici (metformina) in particolari categorie di pazienti. Contestualmente, sono stati avviati alcuni studi riguardanti l'identificazione di nuovi biomarcatori proteici e molecolari coinvolti nello sviluppo di malattie vascolari, in particolare ictus ischemico. In tale contesto, il DT2 rappresenta uno dei fattori più importanti di invecchiamento vascolare e di malattia cerebrovascolare. Pertanto, al fine di identificare nuovi meccanismi coinvolti nella fisiopatologia del DT2 è stata studiata mediante analisi proteomica la differente espressione di proteine sintetizzate nel fegato di un modello murino reso diabetico grazie alla deplezione genica del recettore insulinico. I risultati ottenuti hanno evidenziato il coinvolgimento e la modulazione di nuove proteine quali l'Huntingtina (proteina già coinvolta nella neurodegenerazione) e HMGB1/2 nell'insulino-resistenza e nella patologia epatica steatocorrelata, indicando queste molecole come nuovi potenziali bersagli terapeutici per predire il rischio di diabete e delle sue complicanze quali gli accidenti cerebrovascolari, specialmente in

pazienti ad alto rischio come quelli insulino-resistenti e diabetici. Inoltre, utilizzando un modello in vitro di cellule renali embrionali, è stato dimostrato come un'overespressione della proteina SGK-1 (una chinasi che attiva il pathway di sopravvivenza cellulare in risposta a stimoli di stress) risulti essere protettiva nei confronti dell'apoptosi indotta da ceramidi e da citochine infiammatorie come il TNF-alfa. I risultati ottenuti suggeriscono, pertanto, un ruolo predittivo di questa chinasi in condizioni patologiche caratterizzate da un incremento di questo tipo di sfingolipide (in grado di indurre importanti fenomeni infiammatori in stati patologici come il DT2 e relative complicanze quali l'ischemia cerebrale).

Infine, sono proseguiti gli studi riguardanti l'identificazione di nuovi biomarcatori molecolari coinvolti nello sviluppo di malattie cronico-degenerative, sia metaboliche che neuronali legate all'invecchiamento. In particolare, è stato utilizzato un modello di topi geneticamente modificati per la perossiredossina 6 (PRDX6), nei quali sono stati testati 84 geni collegati ai processi di senescenza tramite tecnica di microarray. I risultati hanno dimostrato come la PRDX6, attraverso la sua funzione antiossidante, possa non solo essere utilizzata come potenziale marcatore anti-aging, ma anche rappresentare un potenziale target per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici nelle malattie cronico-degenerative.

Bando Merit

Approccio integrato clinico e sperimentale allo studio dell'invecchiamento cerebrale e delle malattie neurodegenerative: basi molecolari, epidemiologia genetica, neuroimaging multimodale e farmacogenetica

Il presente progetto si è concluso nel luglio del 2015 ed ha previsto l'arruolamento di 45 pazienti. L'attuale sfida in ambito di ricerca è trovare markers clinici, strumentali e laboratoristici che caratterizzino la fase preclinica della malattia di Alzheimer (AD) e abbiano valore prognostico ed elevata sensibilità e specificità, per introdurre eventuali terapie che possano attenuarne la sintomatologia sfruttando la ancora non completa compromissione dei circuiti neuronali, nell'attesa che si scoprano terapie efficaci nel contrastare la progressione della malattia.

L'IRCCS San Raffaele Pisana ha collaborato con il San Raffaele Sulmona per lo svolgimento della ricerca in oggetto. Lo studio è stato focalizzato sul neuroimaging multimodale, con particolare attenzione alle metodiche neurofisiologiche.

Presso il centro San Raffaele Sulmona e con la collaborazione del Policlinico Agostino Gemelli di Roma sono stati reclutati soggetti sani e numerosi pazienti affetti sia da Mild Cognitive Impairment (MCI) che da AD.

Il progetto è stato approvato dai Comitati Etici dell'IRCCS San Raffaele Pisana, del policlinico A. Gemelli di Roma e dell'ASL dell'Aquila. Il protocollo è stato disegnato in modo da essere conforme con le norme di buona pratica clinica ed i principi della Dichiarazione di Helsinki. Il consenso informato è stato ottenuto da ogni soggetto prima di partecipare alle procedure sperimentali previste nel protocollo. Tutti i soggetti hanno preso parte ad una batteria di test neuropsicologici per valutare l'attenzione, la memoria, le funzioni esecutive, le abilità visuo-costruttive e il linguaggio. I pazienti sono stati valutati attraverso strumenti diagnostici standardizzati quali: Mini Mental State Examination (MMSE), Clinical Dementia Rating (CDR), Geriatric Dementia Score (GDS), Hachinski Ischemic Score (HIS), e Instrumental Activities of Daily Living (IADL), per confermare la diagnosi di malattia di Alzheimer ed escludere altre cause di demenza.

Per la correlazione con i ritmi EEG sono state considerate quattro misure neuropsicologiche nei soggetti MCI e AD: la rievocazione immediata e differita del Rey Auditory Verbal Learning Test (Carlesimo et al. 1996), la rievocazione differita della Figura di Rey, la rievocazione differita di un elenco di 3 parole (Chandler et al. 2004). Inoltre, la memoria a breve termine è stata valutata specificamente tramite digit span test forward and backward (Monaco et al. 2013) in alcuni sottogruppi, tra cui 34 soggetti con AD (MMSE 21.42) e 20 con MCI (MMSE 25.15). Sono state valutate le performance come patologiche quando sotto il 5° percentile della popolazione normale.

Test delle 15 parole di Rey, rievocazione immediata e differita:

Il test è in grado di valutare la memoria a breve e medio termine e la capacità di apprendimento. È una prova di apprendimento e rievocazione di una lista di parole: la rievocazione differita è espressione di processi di memoria a lungo termine episodica, quella immediata coniuga processi di memoria a breve e lungo termine. Si selezionano 15 nomi, per lo più appartenenti a oggetti concreti. All'inizio l'esaminatore avverte il paziente di cercare di memorizzare le parole della lista, quindi legge i nomi alla velocità di circa una parola al secondo. Immediatamente dopo

al paziente viene chiesto di ripetere, in qualsiasi ordine, il maggior numero di parole della lista. Tale procedimento viene ripetuto per cinque volte consecutive. La somma delle parole rievocate costituisce il punteggio di rievocazione immediata (0-75).

Dopo un intervallo di 15 minuti durante il quale vengono eseguite prove di tipo visuo-percettivo, al paziente viene di nuovo richiesto di rievocare il maggior numero di parole, e il numero di parole costituisce il punteggio di rievocazione differita (0-15).

Il cut-off di 28.53 per l'immediata e di 4.69 per la differita fanno riferimento al limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 5%.

Test della Figura di Rey:

Si tratta della "Figura complessa" ideata da Rey nel 1941. È un test percettivo-visivo che permette di valutare le competenze visuo-spaziali di un soggetto, la sua organizzazione percettiva e la memoria visiva e di lavoro. Ai soggetti è mostrata una figura caratterizzata dal fatto di essere:

- priva di significato in sé
- graficamente facile da disegnare
- dotata di una struttura complessa

Ai soggetti viene chiesto in un primo momento di ricopiarla e, successivamente, di ridisegnarla solo a patire dal ricordo.

Nella fase di copiatura il soggetto ridisegna semplicemente la figura.

Una volta che la copia è completata, la figura stimolo viene rimossa dalla vista. Nella fase di ricordo, dopo un breve tempo, al candidato viene chiesto di riprodurre la figura a partire dalla memoria.

Per la fase di codifica si utilizza una griglia di punteggio particolare:

- Elemento riprodotto correttamente e ben posto = 2 punti
- Elemento riprodotto correttamente ma mal posto = 1 punto
- Elemento deformato o incompleto ma ben posto = 1 punto
- Elemento deformato o incompleto e mal posto = 1/2 punto
- Elemento irricognoscibile assente = 0 punti

Una volta valutati tutti e 18 gli elementi della figura, vengono sommati i punteggi e confrontati con le tabelle di riferimento.

Digit span forward and backward:

Il Digit span (Orsini et al. 1987) è un sub test della Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS-R), spesso utilizzato indipendentemente dall'esecuzione dell'intera batteria. È utile per valutare la memoria immediata a breve termine uditiva-verbale.

Nel Digit Span Forward l'esaminatore legge sequenze di cifre di lunghezza crescente da 2 a 9 e il soggetto è invitato a ripetere la sequenza immediatamente dopo. Nel Digit Span Backward il soggetto è invitato a ripetere la sequenza in senso inverso. Per ogni lunghezza viene presentata una sequenza e, nel caso la ripetizione risulti errata, se ne presenta una seconda. Si interrompe la prova quando il soggetto fallisce entrambe le sequenze di una data lunghezza. La misura è data dalla sequenza più lunga ripetuta correttamente.

Il test esplora principalmente la capacità della memoria a breve termine, ma anche la capacità di attenzione e concentrazione, e di utilizzare pattern cognitivi diversi.

EEG

I dati EEG sono stati registrati a riposo ad occhi chiusi (almeno 5 minuti) e raccolti da 19 elettrodi (Fp1, Fp2, F7, F8, F3, F4, T3, T4, C3, C4, T5, T6, P3, P4, O1, O2, Fz, Cz and Pz), posizionati sullo scalpo secondo il Sistema Internazionale 10-20. Il movimento degli occhi è stato registrato mediante due canali dedicati per elettroculogramma (EOG): un EOGs verticale ed uno orizzontale. L'impedenza cute\elettrodo è stata abbassata sotto i 5 KΩ. I dati sono stati analizzati utilizzando il software Matlab R2011b. Le porzioni di EEG caratterizzate dalla presenza di artefatti oculari, muscolari e di rumore diffuso sono state analizzate tramite tecniche di Independent Component Analysis (algoritmo Infomax ICA).

Analisi della connettività

L'analisi della connettività funzionale tramite EEG è stata eseguita usando il software eLORETA,

“Exact Low Resolution Electromagnetic Tomography” (Tomografia elettromagnetica cerebrale a bassa risoluzione), allo scopo di calcolare la distribuzione corticale tridimensionale della densità di corrente (Vecchio et al. 2014). Si tratta di una tecnica di imaging funzionale che appartiene alla famiglia delle metodiche per la soluzione lineare inversa (Valdes et al. 1998) e che modella le sorgenti EEG con una distribuzione tridimensionale (Pascual-Marqui et al., 2002).

eLORETA calcola soluzioni lineari tridimensionali per la risoluzione del problema inverso all'interno di un modello di testa sferico a tre strati che ricostruisce le caratteristiche d'impedenza del segnale elettrico: scalpo, cranio e cervello.

Le coordinate sono state fornite dall'MNI (Montreal Neurologic Institute) e nell'attuale versione di eLORETA i calcoli vengono effettuati su un modello di cervello realistico usando il template MNI152 (Mazziotta J et al., 2001). Tale modello è caratterizzato da risoluzione spaziale tridimensionale ristretta alla sostanza grigia, come determinato sull'Atlante di Talairach che definisce un sistema di riferimento x,y,z su un'immagine standard del cervello. Le posizioni standard degli elettrodi sul modello MNI152 sono state estrapolate da Jurcak et al., 2007. In questo specifico modello il volume intracerebrale viene ripartito in 6,239 voxels con una risoluzione spaziale di 5 mm. Perciò le immagini eLORETA rappresentano l'attività elettrica cerebrale di ciascun voxel all'interno dello spazio neuroanatomico del MNI152, come anche l'esatta ampiezza della densità di corrente stimata.

Per ottenere una visione topografica dell'intero cervello la connettività corticale è stata calcolata con il software sLORETA/eLORETA in 84 regioni di interesse a cui corrispondono 42 aree di Brodmann nell'emisfero destro e sinistro.

Per ogni emisfero è stata calcolata la densità di corrente tra tutte le possibili coppie di ROI (Region of interest) indipendentemente per ciascuna delle 7 frequenze EEG: Delta (2-4 Hz), Theta (4-8 Hz), Alpha1 (8-10.5 Hz), Alpha2 (10.5-13 Hz), Beta1 (13-20 Hz), Beta2 (20-30 Hz) e Gamma (30-45 Hz).

Analisi Graph

Sono stati costruiti networks “weighted and undirected” (pesati e non direzionati), i cui nodi sono le sorgenti corticali stimate nelle aree di Brodmann e le connessioni i valori di connettività funzionale calcolati. Il software usato per la graphanalysis è stato il Brain Connectivity Toolbox (BCT). I parametri calcolati per ogni soggetto sono stati: Clustering Coefficient, Characteristic Path Length e Small World parameter. Il Clustering Coefficient intorno ad un nodo è quantificato dal numero di triangoli di connessione ai quali il nodo stesso partecipa, normalizzato tra 0 e 1 in base al numero massimo di possibili triangoli. Questa misura caratterizza la tendenza a delle regioni più vicine ad interconnettersi al vertice preso in considerazione (Onnela et al. 2005). Il Clustering Coefficient è stato calcolato per tutti i vertici del grafo e poi normalizzato: esso rappresenta la tendenza degli elementi del network a formare clusters locali e rappresenta il parametro di segregazione cerebrale.

Il Characteristic Path Length (Lunghezza caratteristica del percorso), definito da Onnela et al. 2005, rappresenta la lunghezza di percorso più corta per tutti i possibili nodi del grafo, ed è una misura del processo di integrazione cerebrale.

Lo Small World parameter è stato calcolato come il rapporto tra il Clustering Coefficient e Characteristic Path Length.

MRI Strutturale.

Tutti i soggetti sono stati studiati con la MRI a 1,5 T per accertare l'assenza di patologie cerebrali. Dei 110 soggetti, 60 sono stati anche studiati con MRI morfometrica con una sequenza T1 ad alta qualità e risoluzione.

Secondo il protocollo ADNI (Jack 2008) questa sequenza T1 3D ad alta qualità viene effettuata con la tecnica MP-RAGE (magnetization prepared - rapid gradient echo), secondo i seguenti parametri: tempo di ripetizione (TR) di 2400 ms, tempo di inversione (TI) di 1000 ms, flip angle di 8°, spessore delle scansioni di 1.0 mm.

La qualità della MRI ad alta risoluzione è stata valutata da due ricercatori esperti di neuroimaging, secondo la seguente classificazione: 0 = nessun artefatto, qualità eccellente; 1 = pochi artefatti,

qualità nella media; 2 = molti artefatti, qualità scadente. Sono stati utilizzati per gli scopi dello studio solo i dati con punteggio uguale a 0.

Dato il gran numero di dati ottenuti non è stato possibile analizzarli tutti, ma si riportano i risultati di alcuni dati analizzati.

Uno dei primi obiettivi posti è stato quello di validare dei metodi di analisi basati sulla teoria dei grafi che permettessero di valutare gli effetti dell'invecchiamento, sia fisiologico che patologico (neurodegenerazione). Per verificare l'ipotesi che i processi di invecchiamento modulino la connettività del network cerebrale sono state effettuate registrazioni EEG su 113 volontari sani (Vecchio et al., 2014a) suddivisi in tre gruppi, secondo la loro età: 36 giovani (15-45 anni), 46 adulti (50-70 anni), e 31 anziani (> 70 anni). Per valutare la stabilità dei parametri esaminati, un sottogruppo di 10 soggetti ha subito una seconda registrazione EEG due settimane più tardi. L'analisi spettrale della connettività delle sorgenti corticali ha mostrato che uno dei parametri di connettività, il path length normalizzato, segue un modello Giovane > Adulto > Anziano nella banda alfa 2. Gli anziani hanno anche mostrato un aumento maggiore in delta e theta rispetto ai giovani. La correlazione tra età e questo parametro ha dimostrato che all'innalzamento dell'età corrisponde un aumento di integrazione in delta e theta (bande definite di solito patologiche) ed una riduzione nella banda alpha2 (ritenuta invece una banda legata alla cognizione). Il presente studio ha quindi suggerito che la teoria dei grafi può aiutare nell'analisi di modelli di connettività stimati da registrazioni EEG e può facilitare lo studio delle caratteristiche fisiologiche e patologiche cerebrali collegate all'invecchiamento nella modulazione della connettività funzionale nei network cerebrali.

Una volta dimostrata l'utilità dei parametri di teoria dei grafi nello studio dell'invecchiamento fisiologico abbiamo indirizzato le valutazioni specificatamente all'invecchiamento patologico e quindi alla neurodegenerazione presente nella patologia di Alzheimer.

Lo scopo di questo studio sui pazienti Alzheimer è stato quello di valutare le caratteristiche dei network cerebrali nell'invecchiamento cerebrale fisiologico e patologico. Con l'aiuto delle registrazioni effettuate nell'ambito di questo progetto di ricerca si è potuti giungere alla determinazione di un database di 378 partecipanti divisi in tre gruppi inclusi soggetti con malattia di Alzheimer (AD), decadimento cognitivo lieve (MCI), e soggetti normali anziani (Nold). L'analisi delle sorgenti corticali dei ritmi EEG ha evidenziato differenze significative nelle bande delta, theta e alpha 1. Inoltre, l'analisi della connettività corticale ha suggerito significative differenze tra il modello di cognizione normale e la demenza nella banda theta (soggetti MCI simili a soggetti sani), mentre è stato riscontrato un incremento significativo per il gruppo AD nelle bande delta, theta e alpha 1; infine, la valutazione dello Small World (rapporto tra segregazione e integrazione), ha presentato una interazione significativa tra AD ed MCI con una crescita del theta negli MCI. Le modulazioni di questi parametri nei pazienti con AD rispetto ai soggetti MCI sono in linea con l'ipotesi di uno stato intermedio degli MCI tra condizione normale e demenza conclamata.

Successivamente si è cercato di mettere in relazione i parametri EEG con quelli strutturali provenienti dalle registrazioni di risonanza magnetica, e quelli funzionali, provenienti dalla valutazione neuropsicologica. Lo scopo di tali correlazioni è stato quello di evidenziare come i parametri di Small World correlino con due delle principali caratteristiche della malattia di Alzheimer, il deficit mnesico e l'ipofonia dell'ippocampo. Ciò è stato messo in atto in due diversi studi al momento in fase di revisione in riviste internazionali.

Per il primo è stato analizzato un set di dati di 144 soggetti. Il gruppo di pazienti includeva 70 soggetti con AD (MMSE medio 21,4), mentre il gruppo MCI comprendeva 50 soggetti (MMSE medio 25,2), tutti sottoposti a test di memoria. Come gruppo di controllo EEG sono stati selezionati 24 soggetti sani (MMSE medio 29,8). L'età media era di circa 73 anni nei tre gruppi.

Nel secondo studio sono stati arruolati 144 soggetti di cui 110 con Malattia di Alzheimer (con MMSE medio di 21.3) e 34 soggetti sani di età sovrapponibile al gruppo AD, i Nold (MMSE medio 29.8).

Correlazione tra connettività “Small World” e valutazioni neuropsicologiche.

L'analisi ANOVA del modello Small World ha mostrato correlazioni statisticamente significative ($F(12,846) = 5.85$; $p < 0.00001$) tra i tre gruppi (AD, MCI, Nold) ed i ritmi EEG (delta, theta, alpha 1, alpha 2, beta 1, beta 2, gamma). In linea con le evidenze precedenti (Miraglia et al., 2015) il pattern $Nold > MCI > AD$ è stato verificato per il ritmo Delta ($p < 0,05$), mentre i gruppi Nold e MCI hanno presentato risultati significativi nelle bande Theta, Beta 1 e Beta 2 ($p < 0,01$) rispetto ai soggetti AD. Viceversa, per quanto riguarda il ritmo Alpha, il gruppo di controllo ha presentato valori inferiori rispetto a quello dei pazienti AD ($p < 0,05$).

L'analisi comportamentale delle performance di memoria a breve termine ha mostrato differenze statisticamente significative tra i due sottogruppi di pazienti Alzheimer e soggetti MCI analizzando i dati sia del digit span forward ($p < 0,05$) che backward ($p < 0,0335$).

Analisi di correlazione sono state eseguite sullo Small World parameter nelle 7 bande EEG di interesse: considerando tutti i soggetti come un unicogruppo, il ritmo gamma correla positivamente con i punteggi dei test di memoria. I risultati mostrano che un aumento del ritmo gamma sia legato ad una migliore performance nel digit span forward ($p < 0,045$, $r = 0,2739$) e backward ($p < 0,036$, $r = 0,2861$).

Per quanto riguarda il sottogruppo di pazienti sottoposti anche a Digit span test è stato valutato lo z score dei Digit span tests forward and backward confrontandolo con dati provenienti dalla letteratura relativi a centinaia di soggetti divisi per genere e grado di scolarizzazione (Choi et al. 2014). La stessa analisi è stata condotta sul gruppo Nold per lo Small World parameter del ritmo Gamma. Per ciascun soggetto è stato valutato se lo z score indicasse differenze superiori al 95% sia nei Digit span test che nei parametri EEG. I risultati hanno mostrato che nel 42,8% dei soggetti con prestazioni in entrambi i Digit span test molto discostanti da quelle dei controlli, il parametro gamma "Small world" risultava inferiore a quello dei controlli sani (12 di 28 pazienti); nel 88,5% dei pazienti con un solo test (forward o backward) in linea con quello dei controlli, il parametro gamma è risultato in linea con il gruppo Nold (23 di 26 pazienti). Infine il 100% dei pazienti (2 di 2) con entrambi i test forward and backward con punteggi simili a quelli dei controlli sani, ha mostrato il parametro gamma "Small world" in linea con il gruppo Nold.

Risultati correlazione connettività "small world" e volume ippocampale.

I risultati della analisi statistica ANOVA confermano, nell'ambito delle caratteristiche dello Small World, correlazioni statisticamente significative ($F(6,852) = 5.64$; $p < 0.00001$) tra le variabili Gruppo (AD, Nold) e bande dei ritmi EEG (delta, theta, alpha 1, alpha 2, beta 1, beta 2, gamma). In linea con le evidenze precedenti (Miraglia et al., 2015; Vecchio et al., 2015), i controlli presentano valori Small World più alti dei pazienti AD nei ritmi delle bande delta, theta, beta ($p < 0,05$), mentre è stato rilevato il contrario nelle bande alpha, nelle quali i Nold presentano valori più bassi dei pazienti affetti da Alzheimer ($p < 0,05$).

Nel grafico riassuntivo si notano correlazioni significative tra i 2 gruppi di soggetti presi in esame (Nold e AD) e i valori Small World dei diversi ritmi EEG: i soggetti del gruppo Nold presentano valori più alti ritmi nelle bande Delta, Theta e Beta, mentre il gruppo di pazienti AD registra valori più alti nelle bande Alpha 1 e Alpha 2.

Un'analisi di correlazione nel gruppo con AD è stata eseguita tra il coefficiente Small World nelle 7 bande ed il volume ippocampale normalizzato in entrambi gli emisferi.

Anomalie funzionali del cervello in grado di produrre deficit di memoria sono associate a modificazioni patologiche all'interno del network cerebrale alla base della connettività fra le diverse aree che cooperano tra di loro per sostenere questa funzione. Inoltre, le connessioni tra aree cerebrali non sono casuali, ma riflettono caratteristiche di specializzazione e di integrazione, alla base del disegno comunemente definito "Small World", che sembra essere un aspetto onnipresente della connettività anatomica del cervello. (Sporns e Miele 2006).

Nel presente progetto, non solo è confermato un andamento diverso nei tracciati EEG dei gruppi Nold, MCI e soggetti con Malattia di Alzheimer per quanto riguarda la distribuzione delle bande di frequenza di interesse, ma soprattutto è stata dimostrata una importante correlazione delle caratteristiche Small World con le performance di memoria a breve termine dei soggetti. In particolare, a riposo, più è rappresentato lo Small World dei ritmi gamma, migliori sono le

prestazioni della memoria a breve termine, valutate con i Digit Span Test Forward and Backward. Molti studi hanno esaminato i cambiamenti topologici delle reti cerebrali con diverse modalità, tra cui la risonanza magnetica strutturale, EEG, fMRI (Xie e Lui 2011). Pertanto, la topologia del cervello nella Malattia di Alzheimer può essere rappresentata come un disturbo progressivo dell'organizzazione cerebrale che causa alterazioni dell'architettura dello Small World. Infatti, riducendo le connessioni locali e globali, l'organizzazione funzionale del network cerebrale nella AD si discosta dall'architettura ottimale, verso una organizzazione più "ordinata e monotona" che si riflette in valori più bassi di Small World e conduce a un minore scambio efficiente di informazioni tra le aree cerebrali. Tali risultati si riflettono sull'EEG: una rete cerebrale meno ordinata e un alto valore delle onde gamma nello Small World sono associate a migliori performance della memoria.

Numerose evidenze hanno suggerito che le oscillazioni nel range delle frequenze gamma mediano il trasferimento di informazioni tra strutture corticali e l'ippocampo nell'ambito dei processi di immagazzinamento delle tracce mnestiche. La letteratura ha infatti fornito evidenze di un ruolo centrale delle onde gamma (> 30 Hz) nei compiti di memorizzazione. Questi principi sono stati integrati in un modello costituito dalla rete cortico-ippocampale; recentemente diversi studi hanno dimostrato che l'attività gamma è fortemente associata a performance comportamentali (tempo di reazione e precisione) in diversi compiti di memoria, tra cui quella episodica, e nella codifica e recupero delle informazioni (Gruber et al. 1999; Keil et al. 1999; Nyhus and Curran 2010; Tallon-Baudry et al. 1998). Inoltre, un'attività gamma elevata è stata associata ad elevate performance di recognition memory (memoria di riconoscimento). Altri risultati (Park et al. 2012) suggeriscono che le oscillazioni gamma riflettono non solo l'attività cerebrale correlata a processi di memoria, ma anche una variazione correlata con la capacità di memoria degli individui.

Nel 2007 Babiloni e colleghi hanno dimostrato nei soggetti AD e MCI una correlazione negativa tra valutazioni neuropsicologiche (Corsi span forward score) e ritmi EEG delta provenienti da sorgenti occipitali e temporali, analizzate tramite LORETA; negli stessi soggetti è stata invece trovata una significativa correlazione positiva tra sorgenti alpha 1 occipitali e risultati dei test neuropsicologici come il Digit span test (Babiloni et al., 2007).

All'interno di questo contesto i dati hanno dimostrato che, anche a riposo, le caratteristiche delle onde gamma EEG analizzate tramite il modello Small World sono correlate statisticamente con le performance della memoria.

Le caratteristiche del modello Small World, quindi, e in particolare quelle dei ritmi gamma, potrebbero rappresentare un importante biomarker di deficit di memoria nelle persone affette da Malattia di Alzheimer, se confrontate con quelle delle persone anziane in buona salute.

Molti studi hanno valutato i cambiamenti delle reti corticali con differenti modalità di approccio tecnologico quali MRI, EEG, MEG e fMRI, anche e soprattutto per cercare pattern tipici che possano essere riscontrati in una patologia come la Malattia di Alzheimer, in cui la topografia funzionale del cervello può essere rappresentata da un progressivo squilibrio dell'organizzazione del network corticale, alla base di alterazioni dell'architettura "Small World". Lo studio di correlazioni tra volume ippocampale ed EEG all'interno di questo contesto dimostra che anche le caratteristiche dello Small World in uno stato di riposo correlano con il volume ippocampale in pazienti affetti da AD. Tali pattern dello Small World potrebbero essere la controparte funzionale di modificazioni strutturali del cervello dei pazienti affetti da demenza.

I risultati finali hanno dimostrato come la correlazione con il volume ippocampale sia molto più forte con l'emisfero destro, anche se è stato osservato un trend positivo in entrambi gli emisferi. In particolare, maggiore è il volume dell'ippocampo, minori in ampiezza si sono rivelati i ritmi Alpha dei soggetti con Alzheimer ed è stato inoltre osservato il fenomeno opposto nelle bande Delta, Beta e Gamma.

Un altro elemento da prendere in considerazione è la relazione funzionale tra volume ippocampale e sorgenti corticali dei ritmi alpha e delta: i neuroni colinergici del nucleo del setto mediale sono in continua connessione con ippocampo ed amigdala, collegati a loro volta alla corteccia che genera il ritmo alpha, dominante nel cervello umano sveglio, a riposo (Rossini et al., 1991;

Steriade and Llinas 1988; Klimesch, 1996; Klimesch et al. 1997, 1998; Ricceri et al., 2004). Vari studi hanno dimostrato come questi nuclei basali colinergici siano fortemente alterati nella Malattia di Alzheimer (Teipel et al., 2005), specialmente in coloro che non rispondono alla terapia colinergica (Tanaka et al., 2003). Inoltre, è stato scoperto che i ritmi alpha e delta sono modulati in maniera anomala nei soggetti con AD, in funzione della gravità della malattia ed in maniera opposta (Vecchio et al., 2003): in particolare i ritmi alpha della corteccia posteriore sono correlati negativamente al volume ippocampale (Babiloni et al., 2009).

La complessa interazione di tutti questi fattori chiarisce e giustifica i risultati del presente studio in cui è emersa la correlazione tra il volume ippocampale normalizzato e il network di sorgenti alpha e delta rivelate dalle caratteristiche Small World.

Un'altra osservazione importante è che l'atrofia ippocampale non correla significativamente con le sorgenti corticali di ritmi theta all'EEG; è stato rilevato che i ritmi theta connettono l'attività dell'ippocampo e amigdala con la corteccia (Selden et al., 1998; Buzsaki and Draguhn, 2004), e che le proiezioni colinergiche verso l'ippocampo regolano il ritmo theta ippocampale (Kimura, 2000; Andersen et al., 2007). Può essere quindi ipotizzato che il volume ippocampale non influisce sulle interazioni tra nuclei basali che proiettano a ippocampo/amigdala e quelli che proiettano direttamente in corteccia (modulati principalmente da ritmi alpha); pertanto i ritmi theta che modulano i networks corticali sono significativamente conservati rispetto al volume ippocampale, almeno considerando il livello di atrofia dei pazienti inclusi nello studio.

Infine, la correlazione delle frequenze più rapide (beta e gamma) con il volume ippocampale è in linea con la prima parte del lavoro in cui è stata dimostrata una relazione tra la riduzione gamma dello Small World e il declino cognitivo (in particolare la performance di memoria); l'ippocampo infatti gioca un ruolo cruciale nelle capacità di memoria attraverso le sue interazioni con diverse regioni corticali (Scoville and Milner, 1957; Rienstra et al., 2013; Pohlack et al., 2014).

Quindi, partendo dal concetto che ogni struttura di normale grandezza è in grado di supportare funzioni fisiologiche (Van Petten, 2004), e viceversa, è possibile ipotizzare che l'atrofia dell'ippocampo possa portare a un deficit di memoria attraverso la modulazione e l'alterazione delle caratteristiche Small World delle frequenze EEG più rapide (beta, gamma).

Comprendere il ruolo delle oscillazioni dell'EEG nelle dinamiche di rete coinvolte nelle performance della memoria, e il loro rapporto con modifiche strutturali del cervello quali l'atrofia ippocampale dei pazienti AD, non è solo importante per la comprensione delle caratteristiche dei pazienti in declino cognitivo, ma può anche servire da modello per la comprensione delle dinamiche del network cerebrale su larga scala e la loro relazione con altri fenomeni cognitivi e modulazioni strutturali.

Questo lavoro apre quindi interessanti scenari per futuri studi che possano ricercare eventuali modifiche e alterazioni della connettività cerebrale nell'ambito dell'evoluzione di processi neurodegenerativi a partire da fasi molto precoci e pre-cliniche della malattia.

Progetti Unione Europea

Restoration of Vision after Stroke – REVIS

Mentre nelle fasi acute che seguono gli ictus molte funzioni cerebrali, come il neglect e l'inattenzione, sono in grado di recuperare spontaneamente piuttosto bene, altre funzioni - quali quella cognitiva e motoria, l'afasia e il deficit visivo - sono più resistenti e determinano una compromissione cronica. Poiché questi disturbi peggiorano significativamente la qualità della vita dei pazienti, occorre comprendere meglio come il cervello si adatti alla perdita funzionale cronica e trovare dei mezzi in grado di sostenere il recupero della funzione visiva.

Molti studi hanno evidenziato che la plasticità neuronale post-lesionale è coinvolta nella ripresa funzionale e recentemente sono stati sviluppati metodi innovativi in grado di favorire i meccanismi di plasticità in domini quali quello cognitivo, motorio e del linguaggio. La plasticità neuronale può essere positiva (pro-attiva) o negativa (maladattativa). La prima è responsabile sia dell'apprendimento di nuovi compiti sia della riparazione e del recupero post-lesionale che avviene per mezzo di reti neurali vicarie, mentre la seconda sostiene spesso deficit funzionali. Possono essere distinti tre diversi eventi positivi di plasticità neuronale: I) plasticità dello sviluppo, stimolata nel cervello in maturazione principalmente da esperienze ambientali II) plasticità adattativa, coinvolta nel "normale apprendimento" III) plasticità riparatoria, coinvolta nella risposta al danno cerebrale (Landi & Rossini, 2010).

A causa del dogma generalmente accettato che il sistema visivo sia altamente specifico e rigido nella sua organizzazione neuronale si è pensato a lungo che nulla potesse essere fatto in risposta alla comparsa di deficit visivi.

Tuttavia ci sono adesso più speranze che in passato riguardo al ripristino della visione in quanto il sistema visivo possiede un grande potenziale di neuroplasticità che sembra possa essere incentivato con vari mezzi. Secondo la "teoria dell'attivazione della visione residua" (Sabel et al., 2011) la funzione visiva può essere parzialmente ripristinata grazie alla presenza di alcune zolle neuronali generalmente risparmiate in seguito ad una lesione delle aree cerebrali visive. Queste includono: I) "aree di visione residua" (ARV) presenti a livello del margine del campo visivo danneggiato o "isole di funzione residua" all'interno del campo visivo cieco II) vie neuronali extra-striate non interessate dal danno III) reti neurali di livello superiore presenti a valle. Le ARV hanno un ruolo speciale nel recupero della visione e, come evidenziato con metodi quali la perimetria ad alta risoluzione (HRP), sono caratterizzate da una funzionalità visiva parziale: non sono né completamente "cieche" né completamente "integre". Esse possiedono una funzione residua che può essere evidenziata grazie a diversi fenomeni: I) ridotta probabilità di rilevamento di stimoli sopra-soglia II) aumento della soglia di percezione se queste cellule vengono stimulate sotto-soglia III) aumento dei tempi di reazione ("difetto relativo"). Le ARV sopravvivono grazie a fibre nervose residue presenti nel tessuto localizzato in prossimità del sito di lesione della via visiva primaria, ma sono inibite tonicamente. Tali tessuti perilesionali mostrano importanti segni di plasticità dei campi recettivi (Eysel et al., 1999). La plasticità dei campi recettivi della corteccia visiva primaria è stata spesso dimostrata in animali adulti (in particolare in modelli sperimentali di gatti e scimmie). Soprattutto in seguito a lesioni retiniche i campi recettivi all'interno della corteccia visiva sono in grado di riorganizzarsi sia in termini di cambiamento delle dimensioni che di localizzazione (Eysel et al., 1999; Gilbert & Wiesel, 1992; Waleszczyk et al., 2003). Tuttavia queste potenzialità restano usualmente inattive in quanto le aree cerebrali danneggiate presentano a vario livello uno sbilanciamento tra eccitazione e inibizione che ne causa un handicap triplice. Esse sono caratterizzate infatti da un numero ridotto di neuroni, da insufficienti risorse di attenzione (a causa dell'effetto inibitorio transcallosale esercitato dall'emisfero intatto), e da un'alterazione dei meccanismi di processazione temporale. Quindi le strutture visive residue sono inibite e inabili a contribuire ai processi della visione quotidiana. Inoltre il "non uso" aggrava l'indebolimento delle loro trasmissioni sinaptiche.

Mentre nelle fasi acute che seguono gli ictus molte funzioni cerebrali, come il neglect e l'inattenzione, sono in grado di recuperare spontaneamente piuttosto bene, altre funzioni - quali quella cognitiva e motoria, l'afasia e il deficit visivo - sono più resistenti e determinano una compromissione cronica. Poiché questi disturbi peggiorano significativamente la qualità della vita dei pazienti, occorre comprendere meglio come il cervello si adatti alla perdita funzionale cronica e trovare dei mezzi in grado di sostenere il recupero della funzione visiva.

Molti studi hanno evidenziato che la plasticità neuronale post-lesionale è coinvolta nella ripresa funzionale e recentemente sono stati sviluppati metodi innovativi in grado di favorire i meccanismi di plasticità in domini quali quello cognitivo, motorio e del linguaggio. La plasticità neuronale può essere positiva (pro-attiva) o negativa (maladattativa). La prima è responsabile sia dell'apprendimento di nuovi compiti sia della riparazione e del recupero post-lesionale che avviene per mezzo di reti neuronali vicarie, mentre la seconda sostiene spesso deficit funzionali. Possono essere distinti tre diversi eventi positivi di plasticità neuronale: I) plasticità dello sviluppo, stimolata nel cervello in maturazione principalmente da esperienze ambientali II) plasticità adattativa, coinvolta nel "normale apprendimento" III) plasticità riparatoria, coinvolta nella risposta al danno cerebrale (Landi & Rossini, 2010).

A causa del dogma generalmente accettato che il sistema visivo sia altamente specifico e rigido nella sua organizzazione neuronale si è pensato a lungo che nulla potesse essere fatto in risposta alla comparsa di deficit visivi.

Tuttavia ci sono adesso più speranze che in passato riguardo al ripristino della visione in quanto il sistema visivo possiede un grande potenziale di neuroplasticità che sembra possa essere incentivato con vari mezzi. Secondo la "teoria dell'attivazione della visione residua" (Sabel et al., 2011) la funzione visiva può essere parzialmente ripristinata grazie alla presenza di alcune zolle neuronali generalmente risparmiate in seguito ad una lesione delle aree cerebrali visive. Queste includono: I) "aree di visione residua" (ARV) presenti a livello del margine del campo visivo danneggiato o "isole di funzione residua" all'interno del campo visivo cieco II) vie neuronali extra-striate non interessate dal danno III) reti neuronali di livello superiore presenti a valle. Le ARV hanno un ruolo speciale nel recupero della visione e, come evidenziato con metodi quali la perimetria ad alta risoluzione (HRP), sono caratterizzate da una funzionalità visiva parziale: non sono né completamente "cieche" né completamente "integre". Esse possiedono una funzione residua che può essere evidenziata grazie a diversi fenomeni: I) ridotta probabilità di rilevamento di stimoli sopra-soglia II) aumento della soglia di percezione se queste cellule vengono stimulate sotto-soglia III) aumento dei tempi di reazione ("difetto relativo"). Le ARV sopravvivono grazie a fibre nervose residue presenti nel tessuto localizzato in prossimità del sito di lesione della via visiva primaria, ma sono inibite tonicamente. Tali tessuti perilesionali mostrano importanti segni di plasticità dei campi recettivi (Eysel et al., 1999). La plasticità dei campi recettivi della corteccia visiva primaria è stata spesso dimostrata in animali adulti (in particolare in modelli sperimentali di gatti e scimmie). Soprattutto in seguito a lesioni retiniche i campi recettivi all'interno della corteccia visiva sono in grado di riorganizzarsi sia in termini di cambiamento delle dimensioni che di localizzazione (Eysel et al., 1999; Gilbert & Wiesel, 1992; Waleszczyk et al., 2003). Tuttavia queste potenzialità restano usualmente inattive in quanto le aree cerebrali danneggiate presentano a vario livello uno sbilanciamento tra eccitazione e inibizione che ne causa un handicap triplice. Esse sono caratterizzate infatti da un numero ridotto di neuroni, da insufficienti risorse di attenzione (a causa dell'effetto inibitorio transcallosale esercitato dall'emisfero intatto), e da un'alterazione dei meccanismi di processazione temporale. Quindi le strutture visive residue sono inibite e inabili a contribuire ai processi della visione quotidiana. Inoltre il "non uso" aggrava l'indebolimento delle loro trasmissioni sinaptiche.

Ricerche recenti hanno evidenziato che le strutture visive residue possono essere riattivate dalla stimolazione ripetitiva che può essere esercitata in vario modo attraverso: I) esperienze visive II) training visivo (Kasten et al. 1998) III) stimolazione con corrente elettrica continua (Gall et al. 2011; Sabel et al. 2011). Tutte queste metodiche portano in ultima analisi ad un potenziamento della trasmissione sinaptica delle strutture parzialmente danneggiate (plasticità all'interno del sistema)

e delle reti neuronali a valle (plasticità delle reti neurali).

La riattivazione delle aree visive residue, rendendole nuovamente impegnate nella visione quotidiana, dura più a lungo del periodo di stimolazione e, in ultima analisi, genera un miglioramento duraturo della qualità della vita (Gall et al., 2010b, 2011).

Stimolazione cerebrale e neuroplasticità.

Le nuove metodiche di stimolazione cerebrale non invasiva utilizzate per indurre plasticità cerebrale sono: la stimolazione magnetica transcranica (TMS), la stimolazione transcranica con corrente diretta (tDCS) e la stimolazione transorbitale con corrente alternata (rtACS). Il loro potenziale terapeutico è stato già evidenziato in domini diversi da quello visivo (Rossi & Rossini 2004; Rossini & Rossi 2007; Wagner et al., 2007). Ad esempio, considerando il campo della riabilitazione motoria post-stroke, è stato evidenziato un miglioramento significativo nella funzione degli arti paretici sia in seguito a trattamento con stimolazione magnetica ripetitiva transcranica (rTMS) che con tDCS (e.g. Boggio et al., 2007). Risultati simili sono stati ottenuti anche nei pazienti con deficit mnemonici (Sparing & Mottaghy, 2008) o del linguaggio (Landi & Rossini 2010). Uno dei meccanismi proposti per spiegare l'effetto ottenuto con la TMS è un cambiamento dell'accoppiamento interregionale come è stato evidenziato dagli studi di coerenza EEG (Plewnia et al, 2008). La tDCS modula l'attività neuronale in modo polarità dipendente: la stimolazione anodica potenzia l'eccitabilità, mentre quella catodica la inibisce. Ciò avviene rispettivamente attraverso una depolarizzazione o iperpolarizzazione della membrana cellulare (Jefferys, 1995). Gli effetti di una debole corrente continua non si limitano alla modificazione della polarizzazione della membrana delle singole cellule. E' stato infatti dimostrato che essa è in grado di modificare anche l'attività di reti neurali e di influenzare il firing ritmico delle oscillazioni elettromagnetiche cerebrali (Marshall et al, 2004). Gli effetti successivi del trattamento con tDCS includono effetti sulla trasmissione glutammatergica che risulta in un aumento dell'eccitabilità corticale probabilmente mediato da un incremento dei recettori NMDA (Liebetanz et al., 2002). Nel caso di soggetti senza deficit del campo visivo la tDCS porta a modificazioni dell'eccitabilità nella corteccia visiva primaria ed altera diverse funzioni percettive visive (Antal & Paulus, 2008).

Si pensa che i meccanismi d'azione della stimolazione elettrica non invasiva con corrente alternata (ACS) siano basati principalmente sulla sincronizzazione dei ritmi di scarica delle reti neurali e sui cambiamenti dell'attività oscillatoria cerebrale continua. E' stato evidenziato che la sincronia degli spike degli input convergenti migliora il trasferimento delle informazioni e velocizza la processazione delle informazioni (Butts et al., 2007). E' stato evidenziato che nell'uomo la trACS è uno strumento terapeutico efficace in seguito a lesioni del nervo ottico (Gall et al. 2010b, 2011; Sabel et al., 2011) e che molto verosimilmente esercita il suo effetto attraverso l'attivazione di ARV, sincronizzando la scarica degli spikes a livello della via ascendente retino-genicolo-corticale. Infatti è stato dimostrato che gli input talamocorticali sincroni sono in grado di massimizzare le risposte corticali (Wang et al., 2010). La ACS transcranica (tACS) è in grado di agire sia sincronizzando gli input talamo-corticali attraverso una via a feedback cortico talamico, sia di sincronizzare gli input corticali provenienti dalle ARV della regione affetta da stroke e diretti verso la corteccia visiva di ordine più elevato, migliorando quindi la trasmissione delle informazioni visive. La tACS aumenta la potenza delle oscillazioni alfa con effetti successivi sulla banda alfa che sono evidenti ben oltre il periodo di stimolazione (Zaehle et al., 2010).

Gli obiettivi del presente studio sono:

- Caratterizzare meglio le disfunzioni visive e identificare le regioni di visione residua.
- Documentare segni di plasticità, quali la riorganizzazione dei campi recettivi e i cambiamenti di lunga durata, dopo uno stroke nel territorio dell'arteria cerebrale posteriore.
- Migliorare la plasticità del sistema visivo mediante stimolazione cerebrale non invasiva (utilizzando tDCS).

Endpoint primario: valutazione del miglioramento dei parametri utilizzati per valutare il campo visivo nel gruppo di pazienti trattati con tDCS rispetto a quello trattato con metodica sham. Ciò verrà fatto in termini di miglioramento della percentuale del tasso di rilevazione degli stimoli nella

HRP rispetto al baseline.

Endpoint secondari: miglioramento della percezione nelle aree di visione residua nel gruppo di pazienti trattato con tDCS rispetto a quello trattato con metodica sham. Ciò viene valutato in termini di:

- percentuale di miglioramento del tasso di rilevazione degli stimoli rispetto al baseline nella HRP e/o nella perimetria standard
 - modificazione dei tempi di reazione nella HRP
 - miglioramento dell'acuità visiva
 - variazioni della soglia media misurata in dB con perimetria statica e della eccentricità del limite esterno del campo visivo misurata in °
 - cambiamenti della potenza dello spettro EEG nelle bande alpha e theta
 - variazioni dei risultati delle misure di outcomes patient reported (questionari).
- In modo più specifico, le metodiche con le quali vengono valutati gli endpoints sono:
- Perimetria ad alta risoluzione (HRP) e perimetria standard automatizzata
 - Structural Diffusion Tensor Imaging (DTI) e risonanza magnetica funzionale (fMRI) durante stimoli a tutto campo ed a emicampo visivo
 - Caratteristiche delle sorgenti generatrici dei potenziali evocati visivi
 - Studio della connettività cortico-corticale durante analisi di coerenza e sincronizzazione EEG e TMS/EEG
 - Valutazione dei Phosphene threshold durante TMS e stimolazione elettrica

Il progetto è diviso in quattro parti: A, B, C e D.

L'IRCCS San Raffaele Pisana è impegnato nell'esecuzione della parte A, relativa agli studi clinici. Il centro finlandese partecipa anche alla parte A, ma solo allo studio in magnetoencefalografia (MEG).

La parte B, relativa agli studi su animali, è seguita dal partner polacco. La parte C, relativa allo sviluppo della tecnologia, è effettuata dal partner tedesco. I partner tedeschi si occupano insieme della parte D relativa all'organizzazione di un consorzio di gestione comune dei vari aspetti del progetto (scientifici, tecnici, finanziari, giuridici).

La parte A prevede le seguenti fasi:

1. Rilascio della regolamentazione e reclutamento dei pazienti
2. Training del personale ed armonizzazione dei metodi
3. Standardizzazione di un questionario con misure di outcomes patient-reported (valutazione soggettiva della visione)
4. Caratterizzazione delle alterazioni funzionali e strutturali dopo stroke (valutazione al baseline)
5. Identificazione di aree di funzione visiva residua e dei segni di plasticità nella fase cronica post-stroke
6. Induzione dei meccanismi di plasticità cerebrale e ripristino della funzione visiva attraverso stimolazione elettrica cerebrale non invasiva
7. Caratterizzazione degli effetti della stimolazione non invasiva con corrente elettrica nelle fasi croniche di stroke da occlusione dell'arteria cerebrale posteriore: analisi ed interpretazione dei dati

1. Rilascio della regolamentazione e reclutamento dei pazienti.

Il reclutamento dei pazienti è iniziato immediatamente dopo l'approvazione del protocollo da parte del comitato etico. Lo studio clinico è già stato approvato in Germania dal Comitato etico del centro coordinatore europeo del progetto, dal centro clinico in Finlandia e dal Comitato etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana.

Per stimare il successo del reclutamento, i file dei pazienti con ictus cerebri ricoverati nella Stroke Unit nell'ultimo periodo sono stati rivalutati e sono stati identificati 15 pazienti arruolabili.

Sulla base delle esperienze precedenti, si sa che la percentuale di successo nel reclutamento di pazienti con deficit del campo visivo in seguito alla rivalutazione di archivi clinici è di circa il 20%.

I centri che fanno parte del progetto, incluso l'IRCCS San Raffaele Pisana, hanno esperienza clinica nell'ambito degli stroke ed hanno eseguito ricerca clinica in quest'ambito per alcune decadi.

2. Training del personale ed armonizzazione dei metodi

Per ottenere delle misurazioni standard nei diversi centri, tutto il personale partecipante allo studio è addestrato ad utilizzare le varie tecniche nel corso di un workshop tenuto in Germania. Il training riguarda anche la valutazione dei criteri di inclusione e di esclusione ed il metodo di raccoglimento dei dati.

3. Standardizzazione di un questionario che permetta di ottenere misure di outcomes patient-reported ossia dati relativi alla valutazione soggettiva della visione da parte del paziente

Poiché i parametri di valutazione oggettiva della funzione visiva riflettono solo parzialmente il funzionamento soggettivo, vi è un certo grado di mancata corrispondenza tra i test funzionali e la visione soggettiva (Sabel et al 2011). Per questo motivo viene sviluppato un questionario in grado di fornire delle misure di outcomes patient-oriented, utilizzato da tutti i centri partecipanti allo studio. Il questionario è sviluppato in Germania (centro coordinatore europeo) sulla base di questionari già disponibili in Inghilterra e Germania (Gall et al 2009, 2010a).

Fase 4. Caratterizzazione delle alterazioni funzionali e strutturali dopo stroke; valutazione al baseline.

Lo scopo di questa parte dello studio consiste nello stabilire dati relativi alla funzione/disfunzione della funzione visiva al baseline in pazienti con stroke da occlusione dell'arteria cerebrale posteriore in fase cronica. Oltre ai pazienti con stroke sono valutati, come gruppo di controllo, anche 10 soggetti sani. Per garantire l'effettiva volontarietà nella partecipazione allo studio, l'arruolamento dei soggetti sani avviene attraverso una procedura di evidenza pubblica, nella fattispecie distribuzione di volantini e divulgazione verbale. Coloro che decidono di partecipare sono selezionati in modo da essere comparabili per età e sesso al gruppo di pazienti partecipanti allo studio.

I dati ottenuti in questa fase sono utilizzati sia per delineare le modificazioni che avvengono nelle fasi croniche post-lesionali nei pazienti con stroke dell'arteria cerebrale posteriore, sia per comparare gli effetti ottenuti in seguito al trattamento con tDCS (effettuato successivamente solo nei pazienti).

La valutazione al baseline prevede l'utilizzo di diverse metodiche strumentali sia per i pazienti che per i controlli sani. Metodiche utilizzate:

- Valutazione della disfunzione dei campi visivi mediante perimetria ad alta risoluzione (HRP) e perimetria standard automatizzata. Effettuate basandosi su metodi stabiliti nel laboratorio del prof. Sabel (Kasten et al. 1998; Gall et al. 2010; Sabel et al. 2011).
- Valutazione dei Phosphene thresholds. Il phosphene è una percezione visiva illusoria indotta dall'applicazione di una stimolazione magnetica mediante TMS o da una stimolazione elettrica della corteccia visiva; il phosphene threshold è il livello di intensità di stimolazione necessario per indurre il phosphene in una certa proporzione di stimolazioni successive.
- Caratterizzazione delle lesioni mediante Risonanza Magnetica Volumetrica. La definizione delle caratteristiche delle lesioni è effettuata mediante risonanza magnetica funzionale (fMRI) e mediante tecnica di Diffusion Tensor Imaging con intensità del campo magnetico pari a 3 Tesla (3T-DTI).

Per quanto riguarda la valutazione neurofisiologica, i metodi utilizzati sono:

- Elettroencefalogramma (EEG)
- Potenziali evocati visivi (VEP)
- Analisi di connettività mediante EEG e TMS/EEG. L'EEG è registrato mediante un sistema 10/20 modificato con la disposizione di una serie di 64 elettrodi registranti. Sono effettuate analisi di vari ritmi compresi tra 8 e 60 Hz (alfa1, alfa2, beta e gamma) in particolare per lo studio della localizzazione/intensità della sorgente (mediante un algoritmo chiamato LORETA). Inoltre è effettuata la valutazione della probabilità di sincronizzazione e coerenza alle varie frequenze in corrispondenza della presentazione/processazione di stimoli visivi. Infine, la connettività cortico-corticale è investigata attraverso la mappatura delle onde EEG elicitate dalla stimolazione con TMS delle regioni parietali ed occipitali.

Inoltre solo ai pazienti viene somministrato il questionario sviluppato nella fase 3.

Fase 5. Identificazione delle aree di funzione visiva residua e dei segni di plasticità nella fase cronica post-stroke.

Lo scopo di questa fase è quello di analizzare i dati ottenuti nella fase precedente per identificare aree di tessuto residuo e osservare eventuali segni di plasticità locale (modificazioni dei campi recettivi) o globale (modificazioni della connettività funzionale) negli stadi cronici post-stroke. Ciò avviene grazie alla comparazione delle regioni di campo visivo intatte, con quelle di funzione parziale e quelle completamente cieche. Questi dati vengono comparati inoltre con quelli ottenuti dai soggetti sani di controllo.

Fase 6. Induzione dei meccanismi di plasticità cerebrale e ripristino della funzione visiva attraverso stimolazione cerebrale non invasiva.

Dopo aver completato la valutazione al baseline i pazienti con emianopsia sono trattati con tDCS. Questa stimolazione è effettuata mediante un apparecchio che stimola il cervello e simultaneamente registra l'EEG al fine di monitorare gli effetti della stimolazione sia nell'immediato che a lunga distanza di tempo (strumentazione fornita dalla EBS technologies a tutti i centri partecipanti). Lo scopo è quello di valutare se la stimolazione cerebrale non invasiva sia in grado di indurre la plasticità post-lesionale.

Tutti gli esperimenti clinici sono randomizzati, in doppio cieco, sham-controlled (con stimolazione elettrica non invasiva vs sham). La randomizzazione dei pazienti è eseguita separatamente per ciascun centro.

Ogni centro realizza una piccola parte degli studi clinici.

Nell'IRCCS San Raffaele pisana i pazienti sono randomizzati come segue: tDCS anodica vs. catodica vs. gruppo sham. Nello specifico, i pazienti partecipanti allo studio vengono suddivisi in tre bracci allo scopo di valutare i meccanismi di plasticità neuronale locale vs globale. L'efficacia della tDCS è testata nei pazienti con emianopsia sia con stimolazione anodica (eccitatoria) dell'emisfero danneggiato che con stimolazione catodica (inibitoria) dell'emisfero intatto e infine con stimolazione sham (misurazione utilizzata come controllo).

Ciascuno dei tre bracci dello studio è costituito da 15 pazienti. La durata del trattamento è di dieci giorni per ciascuno dei tre gruppi. In accordo con i criteri di sicurezza per l'applicazione della tDCS la durata della singola applicazione di tDCS è di 20 minuti al giorno (Nitsche MA et al. 2003).

Ai pazienti appartenenti al gruppo trattato con stimolazione sham viene concessa la possibilità di eseguire un trattamento con tDCS al termine del periodo di follow-up.

Fase 7. Caratterizzazione degli effetti della stimolazione non invasiva con corrente elettrica nelle fasi croniche di stroke dell'arteria cerebrale posteriore: analisi ed interpretazione dei dati.

Terminata la stimolazione con tDCS i pazienti appartenenti ai tre gruppi vengono rivalutati con le stesse metodiche neurofisiologiche e funzionali utilizzate al baseline (vedi fase 4). I pazienti vengono rivalutati inizialmente a distanza di 48 h dall'ultima seduta di stimolazione con tDCS. Infine una seconda rivalutazione è eseguita a distanza di due mesi dall'ultima seduta di stimolazione con tDCS. Nel corso di tali rivalutazioni i pazienti vengono sottoposti nuovamente agli stessi esami eseguiti al baseline.

Ciascun centro effettua l'analisi dei propri dati utilizzando metodologie concordate in precedenza tra i diversi centri.

LABORATORIO DI NEUROBIOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE

Bando ISS-Istituzioni USA

Innovative immunotherapeutic strategies in Alzheimer's disease by intracellular antibody technology

Le strategie immunoterapeutiche dirette a neutralizzare la neurotossicità e la sinaptotossicità delle forme oligomeriche del peptide beta amiloide (A β O) sono tra le più promettenti nella lotta contro la malattia di Alzheimer (AD). La generazione e l'accumulo cerebrale dell'A β O è considerato infatti uno degli eventi precoci e determinanti nella patogenesi dell'AD. La generazione e l'applicazione di anticorpi intracellulari diretti specificatamente contro l'A β O rappresenta uno strumento terapeutico importante perché unisce la specificità degli anticorpi ricombinanti diretti contro conformeri specifici neurotossici come l'A β O, con la capacità di veicolare tali forme anticorpali verso i siti di localizzazione cellulare coinvolti nella formazione, l'accumulo e l'azione patologica dell'A β O. Dopo aver generato, caratterizzato ed applicato in vitro anticorpi intracellulari anti-A β 1-42 oligomerica diretti verso diversi compartimenti cellulari tra cui quelli pre e post-sinaptico, ci proponiamo di valutare gli effetti in vivo di questi anticorpi anti-A β O diretti verso il compartimento post-sinaptico, un sito di azione dell'A β O molto rilevante nella patogenesi dell'AD.

Nel corso dell'anno, al fine di valutare in vivo gli effetti neuroprotettivi e sinaptoprotettivi degli anticorpi intracellulari anti-A β 1-42 oligomerica in un modello murino di AD, sono stati testati inizialmente due differenti dosi di rAAV (1x10⁹ e 3x10⁹ unità di trasduzione virale) in topi wt mediante iniezione intracerebroventricolare (icv). Poiché nel modello murino di AD considerato si osservano deficit cognitivi e morte neuronale tra i 4 ed i 9 mesi di età, appropriati gruppi di topi wt sono stati iniettati a 2-3 di età. Una volta raggiunta l'età di 4 mesi, i topi sono stati sacrificati, i cervelli sono stati rimossi, ed è stata effettuata un'analisi della compartimentalizzazione cerebrale, dei livelli proteici, dell'efficienza di trasduzione e di eventuali sintomi citotossici associati all'espressione degli anticorpi intracellulari iniettati. A questo scopo sezioni coronali ed estratti proteici totali di cervello sono state analizzate mediante immunofluorescenza e western blot con anticorpi anti-myc per il riconoscimento degli scFvs. La colorazione con Cresyl violet è stata effettuata per rilevare eventuali livelli di morte neuronale. Eventuali risposte immunitarie avverse dovute all'infezione con rAAV (serotipo 1/2) sono state valutate mediante immunocolorazione con anticorpi specifici anti-LN3 ed anti-GFAP. Le analisi effettuate hanno rivelato che, utilizzando dosi di rAAV pari a 1x10⁹ e 3x10⁹ unità di trasduzione virale, l'efficienza di trasduzione (data come percentuale di neuroni infettati) di tali vettori è sostanzialmente bassa. Inoltre, in queste condizioni sperimentali, i livelli di espressione proteica degli scFv anti-A β 1-42 oligomerica si mantengono elevati fino a 1.5 mesi dopo l'iniezione. Probabilmente entrambi i risultati sono legati all'iniezione di dosi di rAAV non ottimali anche se non si può escludere che la vita media (t 1/2) degli anticorpi intracellulari sia breve una volta iniettati nel parenchima cerebrale rispetto a quanto invece osservato su colture neuronali primarie. Non sono stati osservati fenomeni di citotossicità né risposte immunitarie avverse. Dosi maggiori di rAAV ed eventuali iniezioni multiple dovranno essere quindi valutate su topi wt per trovare le condizioni ottimali di iniezione prima di testare l'efficacia neuroprotettiva e sinaptoprotettiva degli scFv anti-A β 1-42 oligomerica sul modello murino di AD. Ci si attende di effettuare una determinazione in vivo degli effetti sinaptoprotettivi e neuroprotettivi degli anticorpi intracellulari anti-A β 1-42 oligomerica utilizzando un modello murino di AD.

Meccanorecettori per la gravità e loro signaling. Effetti fisiopatologici correlati all'assenza di gravità e ruolo delle sirtuine

Lo scopo primario del progetto risiede nel dimostrare e caratterizzare due famiglie di proteine, candidate sensori/recettori per la gravità e nel descrivere i segnali generati in alcuni tessuti post-mitotici dove maggiormente si sono evidenziati gli effetti a lungo termine della assenza di gravità.

Pertanto questo progetto si avvale di esperimenti su cellule e piccoli animali sottoposti all'assenza di gravità on ground mediante una Random Positioning Machine (RPM).

Vengono utilizzate linee cellulari di muscolo scheletrico, di miocardiociti, di neuroni e di osteoblasti, wild type o transgenici (KO o overesprimenti geni di interesse, oppure variamente doppi transgenici); inoltre, sono disponibili una serie di topi transgenici per i geni di interesse, alcuni dei quali (es. KO per mlp o per miopalladine) possono mimare l'assenza di gravità. Altri sono sottoposti on ground alla microgravità in una RPM opportunamente modificata per trattare un singolo topo per un periodo ininterrotto di 3 giorni.

Ciascun Working Package dovrà tener conto degli obiettivi prefissati nell'ambito della specificità tissutale e cellulare di pertinenza:

- Dimostrare e/o ulteriormente caratterizzare come sensore di stress meccanico mlp e palladine/miopalladine nei sistemi cellulari di pertinenza;
- Identificare e/o caratterizzare il signaling del meccanosensore: al livello citosolico e nucleare, dopo stimolazione dose-dipendente (durata della permanenza nella RPM); ipotizzare e identificare fattori di trascrizione eventualmente coinvolti;
- Identificare set genici cellulo-specifici, associati a funzioni tipiche del sistema cellulare di pertinenza. Vanno privilegiati i geni che potrebbero essere coinvolti nelle manifestazioni patologiche prese in esame.

Metodologie disponibili

1. Proteomica e Biochimica

Compiti relativi al progetto: Identificazione e caratterizzazione di proteine, misurazione attività enzimatica. Strumenti disponibili: Apparato per elettroforesi capillare, elettroforesi bidimensionale, Western Blot, luminometro per saggi ELISA multiplex, HPLC, Fluorimetro, Spettrofotometro

2. Colture cellulari

Compiti relativi al progetto: Colture linee cellulari primarie e immortalizzate, co-colture, separazione, purificazione e caratterizzazione di frazioni subcellulari (nucleo, citosol, mitocondri, microsomi).

Strumenti disponibili: Cappe e incubatori a CO2, Microscopi invertiti, Centrifughe refrigerate e non, citofluorimetro e sorter. Molte delle linee cellulari utilizzate nel progetto sono già disponibili. Tra queste sono già utilizzabili linee cellulari overesprimenti o silenziate per le CRPs, per Palladina o miopalladina e per varie sirtuine.

3. Biologia Molecolare

Compiti relativi al progetto: Biologia molecolare di base (trasfezione, silenziamento), Trasfezione vettori GFP e RFP, estrazione di DNA/RNA/Proteine da cellule e tessuti. Espressione genica cellulo-specifica. Arrays a bassa densità. Microdissezione laser da tessuti per ottenere popolazioni cellulari omogenee.

Strumenti disponibili: Spettrofotometro, Agilent 2100, Real-Time PCR 7900HT, apparato per elettroforesi capillare, Piattaforma Affimetrix per profili di espressione genica, piattaforma Genome Analyzer GA-II Illumina sequenziamento profondo parallelo e massivo e per analisi di SNPs, congelatori, cappe, centrifughe.

4. Microscopia e microdissezione.

Compiti relativi al progetto: Istopatologia, Morfologia digitale, Immunoistochimica, immunofluorescenza confocale, colocalizzazione, FRET, FLIM, Citometria confocale e morfometria

a fluorescenza, Microdissezione laser da tessuti e cellule.

Strumenti disponibili: facility per preparazione istologica, microtomo, criomicrotomo, microscopi ottici, microscopi a fluorescenza, microscopio confocale standard e multifotonico, cimometro confocale, apparato per microdissezione laser, cappe e congelatori.

5. Microscopia elettronica

Compiti relativi al progetto: Studio ultrastrutturale di cellule e tessuti, Immunogoldlabelling, microscopia elettronica.

Strumenti disponibili: Facility preparativa per SEM e TEM, Ultramicrotomo, Crioultramicrotomo, Microscopio elettronico a trasmissione, microscopio elettronico a scansione, facility di computer grafica per digital imaging.

6. Facility per piccoli animali (topi). Compiti relativi al progetto: Mantenimento di piccole colonie (un totale di 1000 animali) di topi, studio del comportamento.

Strumenti disponibili: Strutture di nursery per piccoli animali.

7. Animali normali e transgenici/KO. Alcuni topi di specifico interesse per i differenti WP sono già disponibili.

Inoltre il gruppo di Marie-Louise Bang mette a disposizione i topi transgenici per le palladine e miopalladine. Tali topi, insieme ai wild type, saranno mantenuti e analizzati come di seguito riportato.

8. Microchirurgia e diagnostica in vivo

Compiti relativi al progetto: Diagnostica per piccoli animali, Microchirurgia per piccoli animali.

Strumenti disponibili: Fluorescenza in vivo, Ecocardiogramma, Elettroencefalogramma, Facility di microchirurgia, Microscopio per fluorescenza in vivo.

9. Statistica, informatica e bioinformatica Compiti relativi al progetto: Analisi statistica, Bioinformatica per microarrays ad alta e bassa densità su card microfluidiche. Strumenti disponibili: Computers e relativo specifico software.

10. Linee cellulari normali e transgeniche.

Nei laboratori sono presenti tutte le tecnologie e le competenze necessarie a costruire linee transgeniche (KO, overespressione e doppi transgenici) per i geni di interesse. Molte di queste linee sono già in dotazione per essere state precedentemente usate per altri progetti.

11. Animali normali e transgenici.

Alcuni topi di specifico interesse per i differenti WPs sono già disponibili. Inoltre, il gruppo di Marie-Louise Bang mette a disposizione i topi transgenici costruiti per le palladine e miopalladine. Con l'identificazione di recettori, sensori di attività meccanica e di gravità, con la caratterizzazione del loro signaling e dell'espressione genica adattativa ad esso correlata si intende porre la base razionale che aiuti a capire la patogenesi di possibili danni a cellule e tessuti postmitotici durante la prolungata assenza di gravità nei lunghi viaggi spaziali (per es. verso Marte); ideare strategie per prevenire o comunque minimizzare tali effetti.

Sulla base di futuri studi dei polimorfismi (SNPs) di queste proteine si potrebbero identificare i soggetti più suscettibili al danno (SNPs con perdita di funzione del signaling, come nei topi KO), oppure i soggetti avvantaggiati (SNPs con guadagno di funzione del signaling, come nei topi overesprimenti) e pertanto, selezionare individui più resistenti alla prolungata deprivazione della gravità. Parametri molto utili ai fini della selezione di astronauti per lunghe missioni nello spazio. Queste conoscenze potrebbero avere una notevole ricaduta anche su alcune patologie umane in cui è presente la degradazione (malattia o invecchiamento) delle cellule post-mitotiche da noi studiate. A tal fine va notato che lo stesso signaling è stato variamente chiamato in causa per patologie come lo scompenso cardiaco (cardiomiopatia dilatativa), l'ipotrofia muscolare dell'anziano e del paziente cachettico, l'osteoporosi e alcune forme di ipotrofia cerebrale.

Questi aspetti aiutano anche a comprendere su base molecolare e cellulare i noti effetti benefici dell'attività fisica e, viceversa, la patologia associata a uno stile di vita sedentario e la possibilità di rallentare l'invecchiamento di questi tessuti post-mitotici.

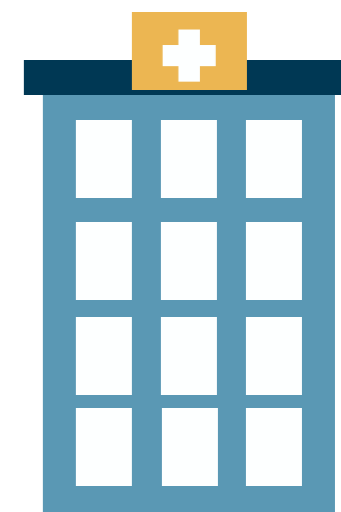
Studio delle contaminazioni microbiche e polimicrobiche a carico dei dispositivi medici per la nutrizione enterale/parenterale

E' stata stipulata una convenzione tra il Ministero della Salute e l'IRCCS San Raffaele ex art. 1, comma 409 della legge 23 dicembre 2005 n. 266, come modificato dall'art. 68 del decreto legge 24 gennaio 2012, n. 12, n. 1 convertito in legge 24 marzo 2012, n. 27, che stabilisce che i proventi previsti a carico delle aziende produttrici e distributrici di dispositivi medici sono utilizzati dalla Direzione Generale dei Dispositivi Medici, del Servizio Farmaceutico e della Sicurezza delle Cure per il "miglioramento e potenziamento delle attività del settore dei dispositivi medici".

Il progetto ha la durata di 30 mesi.

Il progetto prevede alcune fasi di attività: nella prima fase del progetto si è proceduto alla definizione delle principali caratteristiche che devono avere i pazienti per essere arruolati nello studio, ad esempio: ugual numero di maschi e femmine, in stato febbrile e non, con somministrazione di terapia antibiotica e non. Nella seconda fase si analizzano i dispositivi rimossi dai pazienti con diverse metodiche di isolamento e di caratterizzazione biochimica.

**COMITATO ETICO E
CLINICAL TRIAL CENTER**



Nel corso del 2015 sono attive le seguenti sperimentazioni cliniche spontanee:

- Saggio del micronucleo in cellule esfoliate della mucosa boccale per misurare il danno al DNA e predire lo sviluppo di tumori in soggetti sani
- Structured exercise training as countermeasure to space flight-induced orthostatic intolerance
- Genomic instability in the elderly as a marker of frailty. (Instabilità genetica come marcatore di fragilità negli anziani)
- Caratterizzazione fenotipica e sequenziamento genomico nella psicosi schizofrenica
- La riabilitazione con una stimolazione audio-video a 10 Hz modula i ritmi cerebrali e migliora le prestazioni cognitive e motorie in pazienti neurologici? Verso un'applicazione clinica basata sull'utilizzo di Internet a casa da parte dei pazienti
- Ricerca dei tratti personalità correlabili al complesso psico-fisiologico nella malattia di Parkinson e loro influenza nei processi di recupero
- Efficacia terapeutica di acqua termale nelle rinofaringiti e sinusiti
- Fattori predittivi nello sviluppo della Malattia di Parkinson: analisi della variabilità dell'intervallo cardiaco R-R in familiari di pazienti affetti
- Valutazione di biomarker di instabilità genetica, danno ossidativo e lesioni precoci in sangue, cellule esfoliate dalla mucosa boccale ed esalato bronchiale di lavoratori a rischio-amianto
- Studio osservazionale sul monitoraggio dei parametri funzionali di riabilitazione respiratoria, tolleranza allo sforzo fisico e qualità di vita in pazienti affetti da broncopneumonia cronica ostruttiva con recente riacutizzazione (COMBIRIAB)
- Database Geriatrico per lo Studio dell'Utilizzo della Valutazione Multidimensionale in una popolazione anziana ospitata in regime di Residenza Sanitaria Assistenziale (RSA) nella Regione Lazio.
- Utilizzo della "Deep TMS" per il trattamento e la riabilitazione motoria di soggetti affetti da malattia di Parkinson e da paralisi sopranucleare progressiva
- Studio caso-controllo sui fattori di rischio familiari e diagnosi precoce della malattia di Parkinson
- Effetto di un intervento integrato di e-learning, basato sulla valutazione geriatrica multidimensionale, nel migliorare la qualità della prescrizione farmacologica in pazienti anziani ospedalizzati
- Effetto di valutazione e management geriatrico sulla qualità della prescrizione farmacologica in anziani istituzionalizzati
- Trattamento farmacologico nell'anziano con patologia cardiovascolare associata a malattie croniche: inappropriata prescrizione e valutazione di esito nella popolazione istituzionalizzata e residente in comunità (Pharmacological treatment in the elderly patient affected by cardiovascular disease and other chronic comorbidities: inappropriate prescribing and outcome evaluation among institutionalized and community-dwelling elders)
- Studio clinico e farmacocinetico per valutare l'equivalenza terapeutica e la bioequivalenza del generico Levodopa-Benserazide (TEVA ITALIA) verso l'originator (MADOPAR®).
- "Feasibility and effectiveness of frailty screening and management programs implemented in different clinical settings" "Attuabilità ed efficacia di programmi di screening e gestione della fragilità implementati in diversi contesti clinici"
- Studio pilota cross-over sull'utilizzo della "Gondola" per la riabilitazione motoria di soggetti affetti da malattia di Parkinson e da Paralisi Sopranucleare Progressiva
- Studio multicentrico, doppio cieco randomizzato per gruppi paralleli sull'utilizzo della "Gondola" per la riabilitazione motoria di soggetti affetti da malattia di Parkinson
- Le basi neurali dell'intelligenza sociale: studio su lesioni in pazienti con ictus cerebrale
- Indagine SICOA AIMAR sulla epidemiologia ospedaliera e sulla gestione clinica delle comorbidità respiratorie e cardiache in pazienti ospedalizzati in unità cardiologiche e pneumologiche.
- Indagine Sicoa Paziente Atrial Fibrillation - 2
- Progetto MARE (Metabolic syndrome and Artery REsearch) 2. Il dott. Angelo Scuteri è il coordinatore per la creazione di un dataset unico, armonizzando studi di popolazione (coorti) già condotti o in corso in differenti paesi EU ed extra-europei. Al 31/12/2015 hanno aderito 24 coorti per un totale di 74.800 soggetti.

- Effetti della terapia cognitiva sulla riabilitazione neuromotoria in pazienti con Morbo di Parkinson
 - Studio clinico sulla somministrazione di Eparina non frazionata nebulizzata in pazienti con BPCO
 - Studio osservazionale per caratterizzare i problemi dell'OFF mattutino in pazienti affetti da malattia di Parkinson nella pratica clinica
 - Studio osservazionale prospettico sulla perdita di peso nei pazienti con malattia di Parkinson - Progetto Pilota
 - Studio multicentrico osservazionale di coorte sulla frequenza ed i fattori predittivi di caduta nei pazienti con Malattia di Parkinson
 - Registro nazionale di pazienti con cirrosi epatica per la stima della prevalenza della trombosi venosa portale
 - Approccio integrato clinico e sperimentale allo studio dell'invecchiamento cerebrale e delle malattie neurodegenerative: basi molecolari, epidemiologia genetica, neuroimaging multimodale e farmacogenetica
 - Valutazione prospettica di parametri innovativi di rischio cardiovascolare in pazienti con aumentato rischio cardiovascolare
 - Studio Osservazionale trasversale di ricerca denominato registro epidemiologico "REG.I.RE-", Studio Osservazionale trasversale per la valutazione dei dati epidemiologici di prevalenza ed incidenza dell'insufficienza respiratoria finalizzati alla corretta programmazione sanitaria ed all'ottimizzazione dell'impiego delle risorse economiche per il trattamento della malattia
 - Studio Osservazionale Multicentrico sulla prevalenza ed il significato prognostico dei difetti ormono-metabolici nei Pazienti con insufficienza cardiaca cronica
 - Progetto Collaborativo REPOSI 2014: Registro dei Pazienti per lo Studio delle Polipatologie e Politerapie in Reparti della Rete SIMI. Progetto Collaborativo Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" e Società Italiana di Medicina Interna (SIMI)
 - Restoration of Vision after Stroke
 - Stimolazione transcranica per indurre il sonno: Efficacia delle tecniche tDCS e TMS
 - Adattamento del ventricolo destro nell'ipertensione arteriosa polmonare: iterazione tra forma e danno miocardico
 - Sistema a griglia per la valutazione degli effetti della riabilitazione cognitiva in pazienti con malattia di Alzheimer e malattia di Parkinson
 - Utilizzo di un robot per la riabilitazione del cammino in soggetti affetti da malattia di Parkinson
 - Utilizzo di un robot per la riabilitazione del cammino in soggetti affetti da Stroke
 - "Feasibility of Supervised Care & Rehabilitation Involving Personal Tele-Robotics for arm/hand function of chronic stroke patients" "SCRIPT: Supervised Care and Rehabilitation Involving Personal Tele-robotics"
 - Studio di valutazione delle co-morbidità che determinano un peggioramento dello scompenso cardiaco.
 - Effetti del training fisico sui markers biologici di infiammazione/necrosi e stress ossidativo nel paziente con scompenso cardiaco
 - Applicazione di un approccio di Systems Medicine alla valutazione degli effetti della riabilitazione respiratoria in pazienti affetti da insufficienza respiratoria: implementazione di una piattaforma integrata di dati clinici, epidemiologici e biologici.
 - Parkinson's Disease Composite Scale: creazione e validazione di una nuova scala motoria e non motoria per la malattia di Parkinson
 - Richiesta di parere per l'attivazione delle sedi decentrate di raccolta e/o processazione dei campioni della BioBanca, ridefinita come BioBIM ovvero BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare.
 - Utilizzo di un robot per la riabilitazione dell'arto superiore di pazienti con danno neurologico in fase sub-acuta
- Sono inoltre attive le seguenti sperimentazioni cliniche a fini diagnostici o terapeutici con sponsor industriali:
- Studio clinico di fase III, randomizzato, con osservatore in cieco, controllato con placebo, multi

- centrico, per valutare l'efficacia profilattica, la sicurezza e l'immunogenicità del vaccino gE/AS01B di GlaxoSmithKline (GSK) Biologicals, somministrato per via intramuscolare con schedula a 0 e 2 mesi a soggetti adulti di 50 anni di età ed oltre
- Studio clinico di fase III, randomizzato, con osservatore in cieco, controllato con placebo, multicentrico, per valutare l'efficacia profilattica, la sicurezza e l'immunogenicità del vaccino gE/AS01B di GlaxoSmithKline (GSK) Biologicals, somministrato per via intramuscolare con schedula a 0 e 2 mesi a soggetti adulti di 70 anni di età ed oltre
 - Studio non interventistico, prospettico, longitudinale per valutare l'impatto di una terapia di nuova introduzione sulla fatica in pazienti con Malattia di Parkinson in Italia - Studio FORTE II
 - Studio multicentrico randomizzato di fase 3, della durata di 12 settimane, condotto in doppio cieco, controllato con placebo, per valutare l'efficacia di 20 e 40 mg/die di istradefillina somministrata per via orale, come trattamento per soggetti affetti da malattia di Parkinson da moderata a grave
 - SAVING - Le implicazioni del sotto o non ottimale trattamento della BPCO nella fase di stabilità clinica
 - Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, double-dummy, per valutare la sicurezza e l'efficacia di BAY 94-8862 rispetto all'eplerenone in soggetti giunti d'urgenza in ospedale a causa del peggioramento dell'insufficienza cardiaca cronica con disfunzione sistolica del ventricolo sinistro, con diabete mellito di tipo 2 con o senza nefropatia cronica o con sola nefropatia cronica moderata.
 - Efficacia e sicurezza di BIA 9-1067 nella malattia di Parkinson idiopatica con fenomeni di "wearing-off" trattati con Levo-Dopa e un inibitore di Dopa-Decarboxilase (DDCI): studio in doppio cieco, randomizzato, controllato col placebo e col farmaco di controllo, a gruppi paralleli, multicentrico.
 - Studio clinico sull'efficacia e la tollerabilità di un immunostimolante a base di batteri inattivati (BUCCALIN®) nella profilassi degli episodi infettivi delle vie aeree (rinotracheobronchiti, malattie da raffreddamento). Studio in doppio cieco vs placebo, randomizzato, multicentrico.
 - Effects of oral chronic administration of ivabradine (7.5 mg bid) in comparison to placebo (bid) on top of beta-blockers, on central aortic blood pressure. Randomized, cross-over, double blind, multicentre, study over 10 weeks in patients with stable coronary artery disease and a resting heart rate equal or superior to 70 bpm, already treated with beta-blockers.
 - Sicurezza della somministrazione orale cronica di una formulazione a rilascio modificato di ivabradina rispetto alla formulazione a rilascio immediato di ivabradina in pazienti con cardiopatia coronarica stabile. Studio randomizzato, doppio cieco, a gruppi paralleli, multicentrico, della durata da 6 a 12 mesi
 - A multicenter, randomized, double-blind, parallel group study to assess the safety and tolerability of initiating LCZ696 in heart failure patients comparing two titration regimens.
 - Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, a gruppi paralleli, con controllo attivo per valutare l'efficacia e la sicurezza di LCZ 696 in confronto a Enalapril su morbilità e mortalità in pazienti con insufficienza cardiaca cronica e ridotta frazione di eiezione
 - Studio multicentrico in aperto per valutare la sicurezza e la tollerabilità di LCZ696 in pazienti con scompenso cardiaco cronico e ridotta frazione di eiezione provenienti dallo studio PARADIGM-HF
 - Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, a gruppi paralleli, verso controllo attivo per valutare l'efficacia e la Sicurezza di LCZ696 rispetto a valsartan sulla morbilità e mortalità in pazienti con insufficienza cardiaca (NYHA Classe II-IV) con frazione di eiezione preservata.
 - Studio multicentrico, randomizzato, prospettico, in aperto, della durata di 12 settimane per valutare l'efficacia e la sicurezza di glicopirronio (50 microgrammi q.d.) o di indacaterolo maleato e glicopirronio bromuro in combinazione a dose fissa (110/50 microgrammi q.d.) relativamente ai sintomi e allo stato di salute in pazienti con broncopneumatia cronica ostruttiva (BPCO) moderata che passano a tali trattamenti dal trattamento con qualsiasi regime standard per la BPCO
 - Studio multicentrico prospettico randomizzato a due bracci per valutare l'impatto del carbosio-maltosio ferrico sulla capacità di esercizio fisico nei pazienti affetti da insufficienza cardiaca croni-

ca con carenza di ferro (EFFECT-HF)

- Studio multicentrico prospettico randomizzato a due bracci per valutare l'impatto del carbosio-maltosio ferrico sulla capacità di esercizio fisico nei pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica con carenza di ferro (EFFECT-HF)
- Trattamento con Estratto di Ginkgo Biloba L. foglie (IDN 5933) e riduzione del danno al DNA e dell'instabilità genomica: uno studio randomizzato versus placebo
- Studio multinazionale, multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, a gruppi paralleli, controllato con placebo seguito da un periodo di trattamento attivo, per valutare l'efficacia, la sicurezza e la tollerabilità di due dosaggi di somministrazione orale di laquinimod (0,6 mg/die o 1,2 mg/die) in soggetti affetti da sclerosi multipla recidivante remittente (relapsing remitting multiple sclerosis, RRMS)
- Studio di fase IIa per valutare la farmacocinetica, la sicurezza, l'efficacia e la tollerabilità della somministrazione orale intermittente di formulazioni standard di Levodopa/carbidopa verso somministrazione intra-orale semi-continua di LD di levodopa/carbidopa in pazienti con Malattia di Parkinson avanzata affetti da fluttuazioni motorie
- Studio randomizzato, con controllo, per la valutazione della sicurezza e degli effetti cardiovascolari di Algisyl-LVR come metodo di contenimento della dilatazione ventricolare sinistra nei pazienti affetti da cardiomiopatia dilatativa (AUGMENT-HF)
- Studio prospettico, non interventistico sulla prevalenza Incidenza dei disturbi del Controllo degli impulsi e l'Associazione di sintomi neuropsichiatrici, processi cognitivi e qualità della vita nel Morbo di Parkinson - ICARUS-
- Studio multicentrico randomizzato di fase 3, condotto in doppio cieco, controllato con placebo, con una fase in aperto, per stabilire l'efficacia e la sicurezza di Tozadenant come terapia supplementare nei pazienti trattati con Levodopa, con malattia di Parkinson e blocco motorio da fine dose (TOZ-PD)

CONVENZIONI E COLLABORAZIONI ISTITUZIONALI



SCUOLE DI SPECIALIZZAZIONE E TIROCINI

Sono attive le seguenti Scuole di Specializzazione:

Università degli Studi di Roma "La Sapienza"

- Scuola di Specializzazione in Medicina Fisica e Riabilitazione
- Scuola di Specializzazione Medicina e Psicologia
- Tirocinio terapeuti occupazionali

Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"

- Scuola di Specializzazione in Medicina Fisica e Riabilitazione
- Scuola di Specializzazione in Geriatria
- Convenzione per il tirocinio pratico per gli studenti che frequentano il Corso di Laurea Magistrale Biotecnologie Industriali della Facoltà di scienze MM FF NN della Scuola Istruzione a Distanza-laD al fine di completare il percorso formativo accademico dei tirocinanti e di agevolare la scelta professionale
- Tirocini curriculari Corso di Laurea in Biologia Cellulare e Molecolare

Università Campus Biomedico

- Scuola di Specializzazione in Neurologia
- Scuola di Specializzazione in Radiodiagnostica

Università LUMSA

- Master in Neuropsicologia

Libera Università degli Studi di Scienza Umane e Tecnologiche (LUDES)

- Tirocinio di Formazione per i Fisioterapisti

Seconda Università degli Studi di Napoli

- Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare
- Facoltà di Psicologia

Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

- Centro Interuniversitario IRIDE, per lo svolgimento di Tirocinio in Psicologia Clinica.

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

- Facoltà di Scienze della Formazione

Università di Salerno

- Tirocinio di formazione e orientamento con il Dipartimento di Farmacia

Università di Parma

- Anestesia, Rianimazione e Medicina del Dolore - Dipartimento di Scienze Chirurgiche

Altri Istituti

- Istituto di Formazione in Analisi Transazionale, Istituto Auximon
- Istituto Walden Associazione Italiana di Psicologia e Terapia Cognitivo Comportamentale
- Scuola Internazionale di Ricerca e Formazione in Psicologia Clinica e Psicoterapia Psicoanalitica - S.I.R.P.I.D.I.
- Centro Italiano di Psicologia Analitica - C.I.P.A
- Scuola di Psicoterapia Strategica Integrata Seraphicum (SCUPSIS)
- Istituto di Terapia Relazionale Integrata (ITRI)

- Centro Studi Martha Harris (Psicoterapia Psicoanalitica, Modello Tavistock)
- Istituto Italiano Psicoterapia Relazionale (I.I.P.R.)
- Scuola Italiana di Ipnosi e Psicoterapia Ericksoniana (S.I.I.P.E.)
- Scuola di Analisi Transazionale (SIFP)
- Lo spazio psicoanalitico
- Scuola Superiore di Specializzazione in Psicologia Clinica _SSSPC Università Pontifica Salesiana
- Engim San Paolo
- IDI – Istituto Dermatopatico dell’Immacolata
- IPUS Istituto Privato Universitario Svizzero

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Istituto Superiore di Sanità – Collaborazione Scientifica per Progetti di ricerca nell’ambito di:

- riabilitazione
- patologie cardiovascolari
- malattie respiratorie
- neuroscienze
- malattie infettive
- tabagismo
- neoplasie
- medicina di genere.

Università degli Studi di Roma “Sapienza”:

- I Facoltà di Medicina e Chirurgia
- Dipartimento di Neurologia e Psichiatria per una collaborazione scientifica nell’ambito del trattamento del dolore acuto e cronico.

Università Cattolica del Sacro Cuore:

- Istituto di fisiologia umana

Università degli Studi di Roma “Tor Vergata”:

- Dipartimento di Medicina Interna nei settori della:
 - o Cardiologia, con particolare riguardo alla diagnosi e cura dell’ipertensione arteriosa e allo studio del valore predittivo e diagnostico dei marker di funzione cardiovascolare
 - o Diagnosi e terapia delle dislipidemie
 - o Prevenzione, primaria e secondaria, e cura della malattia aterosclerotica mediante la gestione informatizzata dei pazienti sul territorio
 - o Diabetologia, endocrinologia, andrologia
 - o Biochimica clinica
 - o Medicina interna, oncologia
 - o Attuazione di strategie innovative in ricerca traslazionale nel campo della broncopneumopatia cronica ostruttiva
 - o Ricerca specifica sul tema degli effetti metabolici ed autonomici del training fisico in pazienti cardiopatici anziani e con ridotta tolleranza allo sforzo.
- Dipartimento di Biologia, Accordo di collaborazione scientifica sui meccanismi molecolari dell’invecchiamento.
- Dipartimento di Neuroscienze.

Politecnico di Milano

- Dipartimento di Bioingegneria, Collaborazione nel settore della valutazione funzionale e della riabilitazione motoria. Sviluppo dell’attività clinica e di ricerca dei laboratori di analisi della postu-

ra e del movimento.

Università Magna Graecia di Catanzaro - Attivazione progetti di ricerca nei seguenti campi: Area farmacologia di base, molecolare e clinica; area tossicologia; area chimica farmaceutica

Università degli Studi di Foggia

- Dipartimento Scienze Biomediche, Accordo di collaborazione Scientifica per la realizzazione di attività di ricerca, studio e formazione nel campo della medicina riabilitativa

Università Telematica San Raffaele Roma

- Attivazione laboratori nell’ambito della Biologia applicata ed in particolare nei settori della fisiologia e della microbiologia e della microbiologia clinica

Università degli Studi di Genova

- Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili

Università Politecnica delle Marche

- Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica

Università Campus Biomedico di Roma

- Unità di Ricerca di Neurologia.
- Unità di Ricerca di Robotica e Microingegneria Bio-Medica

Università di Palermo

- Dipartimento di Discipline Chirurgiche, Oncologiche e Stomatologiche

Università di Bologna

- Istituto di Psichiatria

COLLABORAZIONI PER PROGETTI DI RICERCA CON FONDAZIONI - ALTRI IRCCS – ENTI PUBBLICI

Fondazione FORST in ambito di riabilitazione termale

Fondazione Veronesi Micronucleus frequency in exfoliated buccal cells as a biomarker of DNA aging and risk for age-related diseases

Casa di Cura del Policlinico nel settore delle neuroscienze

IRCCS - Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri

- Dipartimento di Neuroscienze

IRCCS Centro San Giovanni di Dio, Fatebenefratelli, Brescia

- Sezione di Neuroscienze Cognitive

Ospedale San Filippo Neri, Roma

- Dipartimento di Salute Mentale Roma E, SPDC

Agenzia Spaziale Italiana per l’esecuzione del progetto di preparazione e svolgimento in orbita dell’esperimento Exerc/Orthostatic Tolerance nell’ambito del bando ASI Volo Umano Spaziale

Agenzia Italiana del Farmaco per l'esecuzione di progetti di ricerca indipendente sui farmaci

Socio del Consorzio Nutramed Scarl per formulazione, sperimentazione e studi registrativi per lo sviluppo di prodotti innovativi nel settore nutraceutico, cosmeceutico e farmaceutico

Alfa Intes Industria Terapeutica Splendore S.r.l per la valutazione biologica dei dispositivi medici nell'ambito oftalmico

Socio del Consorzio Italiano per la Ricerca Medica (CIRM)

Accordo di collaborazione con la Federazione italiana medici di medicina generale (FIMMG)

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Imperial College of Science, Technology and Medicine, Londra, UK - Laboratorio di Fisiologia Vascolare comune e progetti di ricerca sugli effetti cardiovascolari degli ormoni.

Division of Cardiology, Department of Internal Medicine, Jikei University Tokio, Giappone - Collaborazione studi su recettori mineralocorticoidi.

Musashino Medical Center, University Tokio, Giappone - Collaborazione scientifica in ambito cardiovascolare.

Molecular Cardiovascular Research Institute-Tufts Medical Center, Boston, USA - Collaborazione per ricerca cardiovascolare

Applied Cachexia Research, Charite Universitätsmedizin, Campus Virchow-Klinikum, Berlin-Germany - Collaborazione per ricerca cardiovascolare

Instrumentation Laboratories, Delaware, USA - Clinical Evaluation Program Agreement

Diabetes Research Institute, University of MIAMI - Accordo di collaborazione scientifica per la ricerca e cura del diabete

Plant Product and Human Nutrition Group, Institute of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow

Institute for Molecular and Translational Therapeutic Strategies (IMTTS), Hannover Medical School, Germany

University of Barcellona, Cooperation in collaborative research in the field of home care assistance and services (through tele-assistance and tele-rehabilitation) and systems biology of COPD.

MI&EUR BV Agreement Study on Utilization of CabelgolinE for compliance with risk minimization Activities

Merck KGaA Agreement PD-L1 espressione in human lung, gastric, and breast cancer tissue

Center for Human Nutrition Washington University School- RF 2011-2012

Laboratory del Department of Psichiatria and Human Behaviour University of California, Irvine, CA-USA

Aalborg Universitet, Coordinator Consortium for project e-WALL

University of Hertfordshire Higher Education Corporation, Coordinator Consortium for project SCRIPT

Servicio Madrilenio De Salud Hospital Universitario de Getafe, Coordinator Consortium for project FRAILOMIC

Fundacion de Investigacion Biomedica del Hospital Universitario de Getafe, Coordinator Consortium for project FRAILCLINIC

Centre de recherche des cordeliers in paris, france and centre for clinical and basic research INSERM

Bayer Pharma AG Research Agreement IN CELLULAR MODELS RELATED TO THE METABOLIC SYNDROME



La biblioteca collabora attivamente con tutte le biblioteche del proprio ambito disciplinare sul territorio nazionale. Partecipa all'Organizzazione delle biblioteche scientifiche promossa e finanziata dal Ministero della Salute (Bibliosan), al Catalogo Nazionale dei Periodici (ACNP), al sistema per lo scambio di documenti (NILDE) e al Gruppo Italiano Documentalisti dell'Industria Farmaceutica e degli Istituti di Ricerca Biomedica (Gidif-Rbm). Rappresenta l'Istituto ed il gruppo Bibliosan all'interno di gruppi di lavoro d'ambito biblioteconomico.

I servizi bibliotecari si concretizzano nella consulenza, guida all'uso, consultazione e riproduzione delle risorse nonché nella consultazione e la riproduzione di copie della produzione scientifica dell'Istituto dal 1999 ad oggi.

A disposizione degli utenti si trovano anche i seguenti strumenti, materiali e risorse:

- banche dati: PubMed + LinkSource, Cinahl, Journal Citation Reports, Web of Science, Scopus, Banche Dati EBSCO, BMJ BestPractice, Cochrane Library, ProQolid, Faculty of 1000, OECD;
- più di 7.000 periodici scientifici di editori quali Elsevier ScienceDirect, Wiley, Nature, Springer ma anche New England Journal of Medicine, Stroke, Blood, Science e i più importanti periodici italiani d'ambito medico-sanitario: Assistenza Infermieristica e Ricerca, Educazione Sanitaria & Promozione della Salute, Sole 24 Ore Sanità, Mecosan, Medicina e Morale, Organizzazione Sanitaria, Panorama della Sanità, Psicoterapia cognitiva e comportamentale, Sanità Pubblica e Privata, Tecnica Ospedaliera etc.
- tutte gli anni di periodici cartacei correnti e/o interrotti sono esposti a scaffale aperto e liberamente consultabili unitamente ad enciclopedie, dizionari, repertori;
- strumenti per la gestione delle bibliografie (RefWorks);
- oltre 1.000 testi di ambito clinico, sanitario e scientifico.

La biblioteca si occupa anche dell'organizzazione di corsi volti all'approfondimento e alla formazione all'uso delle risorse disponibili.

Le risorse sono accessibili a distanza, dall'interno dei computer della rete aziendale e da remoto. Sul portale istituzionale www.sanraffaele.it, è presente una area dedicata ai servizi e alle risorse della biblioteca: <http://www.sanraffaele.it/contenuti/37/biblioteca>.



UNIVERSITÀ TELEMATICA SAN RAFFAELE ROMA

L'Università Telematica San Raffaele Roma, istituita con decreto del Ministro dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca dell'8 maggio 2006, è un Ateneo non statale, legalmente riconosciuto, che rilascia titoli di studio con valore legale in Italia e nell'Unione Europea.

La sede legale dell'Ateneo è sita a Roma, in Via Val Cannuta, 247. Gli spazi complessivamente disponibili hanno una superficie totale di circa 1.800 metri quadrati divisi tra spazi per la didattica per gli studenti, per i laboratori, per la ricerca e per gli uffici amministrativi.

La sede periferica di Milano, sita in Via Daverio 7, e la sede di Acireale (CT), sita in Corso Umberto 188, entrambe sedi d'esame, dispongono di aule, laboratori ed uffici amministrativi.

L'offerta didattica è erogata in modalità e-learning, attraverso l'utilizzo di internet e delle nuove tecnologie digitali. Gli studenti possono pertanto accedere alla piattaforma didattica in qualsiasi momento ed in qualsiasi luogo; anche coloro che per ragioni fisiche, geografiche o lavorative ne sarebbero esclusi. La lezione ex cathedra viene in sostanza sostituita da lezioni registrate e disponibili on line 24 ore su 24 e integrata con specifico materiale didattico: slide, materiale illustrativo, problemi e discussioni in linea. Le lezioni online sono integrate da attività seminariali e di laboratorio. Le prove finali relative ad ogni insegnamento sono da sostenersi in modalità frontale. Il corpo accademico, altamente qualificato, è composto da docenti ed esperti di chiara fama nazionale e internazionale, garantendo un alto livello qualitativo dell'insegnamento.

L'efficacia del percorso didattico è garantita dalla presenza di tutor, figure adeguatamente formate per assicurare il proprio sostegno e supporto dal punto di vista della didattica, del metodo di studio, della tecnologia, dell'orientamento universitario e professionale e della spinta motivazionale. Grazie agli strumenti telematici i docenti e i tutor sono a disposizione degli studenti in qualsiasi momento per rispondere a domande e fornire chiarimenti.

I corsi di laurea dell'Università Telematica San Raffaele Roma sono legati ai settori in cui il primato dell'industria italiana è testimoniato dall'alto livello qualitativo raggiunto dal "Made in Italy" e riconosciuto a livello internazionale: il design e la moda, l'alimentazione e lo sport.

Il rapporto vitale con i settori industriali e sportivi di riferimento garantisce agli studenti una relazione proficua con il mondo produttivo e il mercato del lavoro, anche attraverso la possibilità di accedere a stage professionalizzanti nelle realtà più qualificate. Esperti e professionisti del mondo dell'industria e dello sport assicurano un percorso di studio che valorizza l'apprendimento teorico e la formazione pratica.

L'offerta didattica dell'Università Telematica San Raffaele Roma si articola in tre Facoltà per cinque corsi di laurea. In particolare:

1. Facoltà di Scienze Motorie

- Corso di Laurea in Scienze delle attività motorie e sportive

Il corso ha l'obiettivo di fornire competenze specifiche relative alla comprensione, conduzione e gestione di attività motorie a carattere educativo, adattativo, ludico o sportivo, finalizzandole allo sviluppo, al mantenimento e al recupero delle capacità motorie e del benessere psicofisico a esse correlato. I settori scientifici attivati all'interno della laurea di primo livello tendono a dare una preparazione bilanciata dei tre aspetti professionali preminenti: educativo e rieducativo, sportivo e organizzativo-gestionale. Corso di Laurea Magistrale in Scienze e Tecniche delle Attività Motorie Preventive e Adattate

Il corso è finalizzato a fornire competenze scientifiche avanzate nel campo dell'esercizio fisico, con particolare riguardo alle aree preventiva e adattativa. Si propone di formare laureati magistrali in possesso di solide conoscenze inerenti il mantenimento della migliore efficienza fisica lungo l'arco dell'intera vita, sia in soggetti normali che predisposti o affetti da patologie correlate a sedentarietà e stili di vita scorretti. I professionisti formati saranno in grado di adattare le attività motorie alle esigenze di soggetti con disabilità motorie o patologie che possano trarre beneficio dall'esercizio fisico e possiederanno competenze mirate alla prevenzione e al recupero, mediante l'attività motoria, di situazioni di disagio infantile e adolescenziale.

2. Facoltà di Agraria

- Corso di Laurea in Scienze dell'Alimentazione e della Gastronomia

Il corso si propone di formare una nuova figura professionale in grado di gestire tutti gli aspetti che riguardano la produzione ed il consumo del cibo, da quelli igienico-sanitari a quelli giornalistici e culturali; una figura poliedrica che sappia coniugare le conoscenze tecniche e scientifiche con quelle umanistiche, economiche e giuridiche; un professionista in grado di affrontare con competenza e creatività le sfide del settore alimentare del XXI secolo.

- Corso di Laurea Magistrale Scienze della Nutrizione Umana

Il corso offre una formazione specifica per diventare professionisti nel campo della nutrizione e affronta tutti gli aspetti della Nutrizione Umana in un'ottica fortemente multidisciplinare che integra diversi ambiti conoscitivi -da quello biomedico a quello della nutrizione, dalla caratterizzazione degli alimenti alla gestione agroalimentare - al fine di rispondere in maniera esauriente alle crescenti necessità del settore.

3. Facoltà di Architettura e Design Industriale

- Corso di Laurea in Moda e design industriale.

Il corso intende rispondere alle nuove competenze richieste dal mercato nei ruoli progettuali e di management creativo. Il percorso formativo predilige un approccio multidisciplinare che combina pragmatismo e immaginazione, managerialità e progettualità fornendo concrete esperienze di progetto e conoscenza e "case history" specifiche.

L'offerta formativa post lauream, invece, si articola attualmente in Master di primo e secondo livello e Corsi di Perfezionamento.

L'infrastruttura telematica ad uso degli studenti e del personale di Ateneo, si articola in quattro strumenti principali: le piattaforme didattiche, la segreteria didattica on-line, il servizio di posta elettronica e il sito internet d'Ateneo.

La piattaforma utilizzata per la quasi totalità delle attività didattiche di Unisanraffaele è una personalizzazione di Moodle (Modular Object-Oriented Dynamic Learning Environment, vedasi il sito ufficiale www.moodle.org), un sistema in grado di recepire contenuti didattici che prevede il tracciamento delle attività per garantire il rispetto di quanto prescritto dalla normativa universitaria in merito all'obbligo della frequenza.

Le principali tipologie di contenuto didattico utilizzate dall'Università sono: (a) le videolezioni, nella forma di lezioni frontali in cui è presente sia l'immagine del docente che la presentazione PowerPoint. Il video della lezione è sincronizzato con le diapositive le quali sono titolate e permettono di spostarsi da un punto all'altro della lezione; (b) le audio-lezioni nella forma di slide commentate da audio (rapid learning). In questo caso il docente dovrà inviare l'audio all'Università, la quale si occuperà di sincronizzare l'audio alle diapositive. Le tracce audio registrate dovranno essere una per ogni slide della presentazione. Al termine di una lezione costituita da 20 diapositive il docente dovrà produrre 20 piccole tracce audio autonome; (c) materiale testuale, file e directory: i docenti possono pubblicare file di diverso formato, singolarmente oppure organizzati in cartelle; (d) link – possono essere utilizzati link a siti o video di particolare interesse, sia interni che esterni alla piattaforma.

Le principali metodologie di comunicazione con gli studenti sono: (a) il forum di discussione - consente lo scambio di messaggi tra tutti gli utenti del corso o all'interno di opportuni sottogruppi; (b) i quiz - che consentono l'utilizzo di domande di diverso tipo (risposta chiusa, risposta aperta, di tipo numerico, a corrispondenza); (c) il glossario - consente di archiviare informazioni in modo strutturato: si può quindi utilizzare sia come glossario vero e proprio, sia come ambiente in cui inserire contributi. E' possibile assegnare valutazioni e commenti ai "termini" inseriti e creare alcuni link in modo automatico all'interno del corso; (d) il compito - tramite il compito è possibile predisporre un'area in cui lo studente può inviare documenti al docente (eventualmente vincolato da scadenze). I docenti possono essere avvisati via e-mail dell'avvenuta consegna e far avere allo studente una valutazione e commenti sul lavoro consegnato; (e) la chat- consente uno scambio sincrono di messaggi. Le chat possono essere lasciate sempre aperte, ad uso degli studenti, oppure aperte e chiuse a discrezione dei docenti. Ad esempio è possibile utilizzare la

chat per il ricevimento studenti, oppure per una lezione on-line in cui ognuno porta i suoi contributi. E' possibile salvare le sessioni passate della chat in modo da rivederle in momenti successivi. La Segreteria Didattica on-line ha il compito di fornire sia le funzionalità rivolte all'amministrazione universitaria (segreteria studenti) per la gestione del percorso dello studente dall'immatricolazione al conseguimento del titolo sia i servizi web a valore aggiunto rivolti al singolo studente. L'attività scientifica e di ricerca dell'Ateneo comprende i seguenti prodotti della ricerca:

- a) Pubblicazioni scientifiche nazionali ed internazionali che abbiano rilevanza accademica e diffusione nella comunità scientifica, carattere di scientificità.
- b) Tutte le pubblicazioni non accademiche con ISBN/ISSN, che si rivolgono ad un pubblico più eterogeneo rispetto a quello accademico.
- c) Convegni scientifici, organizzati da una comunità scientifica di riferimento o da enti/istituzioni/associazione di professionisti, nonché network universitari e associazioni accademiche che abbiano ad oggetto tematiche scientifiche e la cui discussione avvenga tramite presentazioni di paper (su invito o submission), nonché esposizione di poster paper o relazioni su invito.
- d) Partecipazioni a convegni in qualità di relatore e/o di redattore del contributo a convegni nazionali o internazionali organizzati all'interno del proprio ambito scientifico di riferimento, nonché da associazioni di categoria o ordini professionali. Lo scopo di tali convegni è l'aggiornamento continuo e la partecipazione del ricercatore per permettere, attraverso una condivisione del proprio know how, il miglioramento delle conoscenze globali in relazione a determinati ambiti di riferimento.
- e) Convegni/Seminari/Corsi, quale l'attività a cui il ricercatore partecipa in qualità di partecipante, ai fini di un aggiornamento professionale/scientifico per il miglioramento della propria attività di ricerca/didattica attinente all'Ateneo.
- f) Partecipazione a varie attività nel campo della ricerca, quali ad esempio partecipazione a: editorial board di riviste nazionali/internazionali; scientific board nell'ambito di book series promosse da editori internazionali e per prodotti editoriali; attività di coordinamento nell'ambito di special issues di riviste o book series; attività di referaggio per riviste accademiche e/o per convegni scientifici.



Giorgio Albertini

- International Association for the Scientific Study of Intellectual and Developmental Disabilities – Responsabile per l'Italia dello Special Interest Research Group sulla Sindrome di Down
- Componente della International Society on Early Intervention (ISEI)

Piero Barbanti

- Tesoriere della Società Italiana di Neurogeriatria
- Consigliere dell'Associazione Neurologica Italiana per la Ricerca sulle Cefalee (ANIRCEF)
- Membro del Comitato Scientifico dell'Associazione per una Scuola delle Cefalee (ASC)
- Presidente dell'Associazione Italiana per la lotta contro le Cefalee

Massimiliano Caprio

- Working Group Leader and Management Committee Member – COST(European Cooperation in Science and Technology) Action BM 1301 “Aldosterone and Mineralocorticoid Receptor”
- Associate Editor – Journal of Endocrinology
- Membro della Commissione Scientifica Società Italiana di Andrologia e Medicina della Sessualità (SIAMS)

Marco Franceschini

- Chairman Comitato Permanente per la Ricerca, International Society of Physical and Rehabilitation Medicine (ISPRM)
- Assistant Editor of European Journal of Physical Rehabilitation Medicine
- Componente Comitato Scientifico della Fondazione Louvain Bionics

Patrizia Ferroni

- Best Abstract Award “VEGF A gene promoter polymorphisms and risk of venous thromboembolism in ambulatory cancer patients” Congress on Controversies in Thrombosis and Hemostasis (CiTH) Berlin, Germany - October 30 - November 1, 2014

Fiorella Guadagni

- Componente Comitato Scientifico Health Data Consulting S.r.l. (HDC S.r.l.)
- Invited reviewer of the call “Method and Tools for Individualized Medicine German Federal Mi-

Ferdinando Iellamo

- Componente Editorial Board Chest
- Componente Editorial Board European Journal of Applied Physiology
- Componente Editorial Board Frontiers in Physiology: Exercise Physiology
- Review Editor nella rivista Frontiers in Cardiovascular Medicine: General Cardiology Section

Vincenzo Marzolla

- Travel Grant: ESH-ISH Satellite: Putting the A back into RAAS, Santorini, Grecia
- Travel Grant: International Society of Endocrinology, Chicago, USA
- First Prize as Young Investigator, 2nd Meeting on New Trends in Cardiovascular Drug Therapy, Roma

Anna Teresa Palamara

- Presidente Sezione III Consiglio Superiore di Sanità
- Componente Comitato scientifico dell'Istituto superiore di sanità
- Componente Direzione Scientifica della Fondazione "Istituto Pasteur-Cenci Bolognetti" della "Sapienza" Università di Roma
- Presidente della Società Italiana di Microbiologia (SIM)

Eleonora Palma

- Coordinatore nazionale Commissione di Epilettologia Sperimentale della Lega Italiana Contro l'Epilessia

Cristina Roseti

- Vincitrice Morris-Coole Prize 2013 (miglior lavoro sull'epilessia)

Matteo Antonio Russo

- Componente di Editorial Board delle seguenti riviste scientifiche:
- Immunity and Aging
- Functional Neurology

- Neuroscience and Medicine
- Journal of Carcinogenesis and Mutagenesis
- Journal of Cancer Science and Therapy
- Prevention and Research
- The Scientific World Journal
- Open Journal of Pathology
- Pathology Discovery
- European Medical Journal

- Referee per le seguenti riviste scientifiche:

- ARS
- Cancer Research
- Oncogene
- Biomedicine & Pharmacotherapy
- Frontiers in Biosciences Histopathology
- Journal of Molecular Medicine
- Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents

Patrizio Sale

- Componente Direttivo Nazionale Società di Riabilitazione Neurologica (SIRN)

Maurizio Volterrani

- Componente Consiglio Direttivo Società Italiana Cardiologia Ospedaliera Accreditata (SICOA)
- Direttore Centro Studi Società Italiana Cardiologia Ospedaliera Accreditata (SICOA)
- Governor per l'Italia della International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy (ISCP)
- Componente Steering Committee dello studio paneuropeo RELAX-AHF EU
- Componente Editorial Board Cardiac Failure Review
- Componente Editorial Board European Journal of Heart Failure
- Componente Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana
- Componente Comitato Tecnico-Scientifico dell'IRCCS San Raffaele Pisana

ATTIVITA' DI FORMAZIONE

Nel 2015 il Provider San Raffaele ha organizzato ed è stato sede di 24 corsi ECM che hanno visto coinvolto il network San Raffaele, per un totale di 162 crediti circa. Inoltre nel corso dell'anno l'offerta formativa è stata ampliata con l'introduzione della Formazione a Distanza (FAD).



DATA	TITOLO	LUOGO	NUMERO DI CREDITI ECM
Mazo	Ruolo dell'infermiere nella gestione della contenzione in riabilitazione.	IRCCS San Raffaele Pisana	9,4
	Gestione e rischio infettivo dei dispositivi medici: la prevenzione ed il trattamento.	IRCCS San Raffaele Pisana	7
Aprile	Continuità assistenziale nella gestione dell'anziano fragile.	San Raffaele Sabaudia	3
	Approccio integrato nella terapia della bpoo: ruolo delle diverse figure professionali nella definizione dell'iter diagnostico-terapeutico.	IRCCS San Raffaele Pisana	4
Maggio	Approccio integrato nella terapia della bpoo: ruolo delle diverse figure professionali nella definizione dell'iter diagnostico-terapeutico.	IRCCS San Raffaele Pisana	4
	Farmaci, dispositivi medici, prodotti naturali: la sicurezza al servizio del paziente.	IRCCS San Raffaele Pisana	4
	Approccio integrato nella terapia della bpoo: ruolo delle diverse figure professionali nella definizione dell'iter diagnostico-terapeutico.	IRCCS San Raffaele Pisana	4
	Focus giovani internisti: la cardiologia pratica in medicina interna.	IRCCS San Raffaele Pisana	5
Settembre	L'infermiere in riabilitazione.	IRCCS San Raffaele Pisana	9,4
	I disturbi cognitivi: scale di valutazione e loro interpretazione.	IRCCS San Raffaele Pisana	12,1
Ottobre	Le scale valutative e le strategie riabilitative nel paziente con esiti di malattia cerebrovascolare acuta.	IRCCS San Raffaele Pisana	4,8
	Il percorso riabilitativo del paziente amputato di arto inferiore	IRCCS San Raffaele Pisana	6,8
Novembre	Sintomi non motori e complicanze internistiche nella malattia di Parkinson: strategie terapeutiche e riabilitative.	IRCCS San Raffaele Pisana	4,8
	Ruolo dell'infermiere nella gestione delle lesioni da pressioni secondo le EBN.	IRCCS San Raffaele Pisana	12,5
Dicembre	Focus giovani internisti: la gastroenterologia in medicina interna.	IRCCS San Raffaele Pisana	3,5
	Il percorso riabilitativo del paziente amputato di arto inferiore.	IRCCS San Raffaele Pisana	6,8
	Il progetto riabilitativo: inquadramento funzionale del paziente con la metodica del problem solving.	IRCCS San Raffaele Pisana	4,7
	Malattie infettive emergenti - riemergenti.	IRCCS San Raffaele Pisana	4,7
	18° Congresso nazionale. v convention nazionale sifes. formazione e ricerca in flebologia.	IRCCS San Raffaele Pisana	12
	Il taping neuromuscolare come tecnica complementare nell'approccio riabilitativo al paziente ortopedico e neurologico.	IRCCS San Raffaele Pisana	4,7
	Strumenti per la buona reportistica di studi clinici ed epidemiologici: consort, strobe e loro evoluzioni.	IRCCS San Raffaele Pisana	4,7

Nel corso del 2015 sono stati svolti tre corsi di FAD:

- "Progetto Ulisse - Viaggio tra i vari profili di pazienti ipertesi"
- "Market access sanitario", rivolto a farmacisti ospedalieri e medici chirurghi, con l'obiettivo di dare una visione ai diversi stakeholder sul tema del Market Access Sanitario.
- "Fibrillazione atriale e tromboembolismo venoso: il vantaggio di un'anticoagulazione sicura", destinato a medici chirurghi (specialisti in Cardiologia, Endocrinologia, Medicina Interna, Geriatria, Medicina Generale), con l'obiettivo di creare un legame gestionale tra medico di famiglia e specialista al fine di: 1) identificare il corretto paziente con fibrillazione atriale e tromboembolismo venoso; 2) di garantire una prescrizione appropriata; 3) garantire una corretta gestione del follow up.

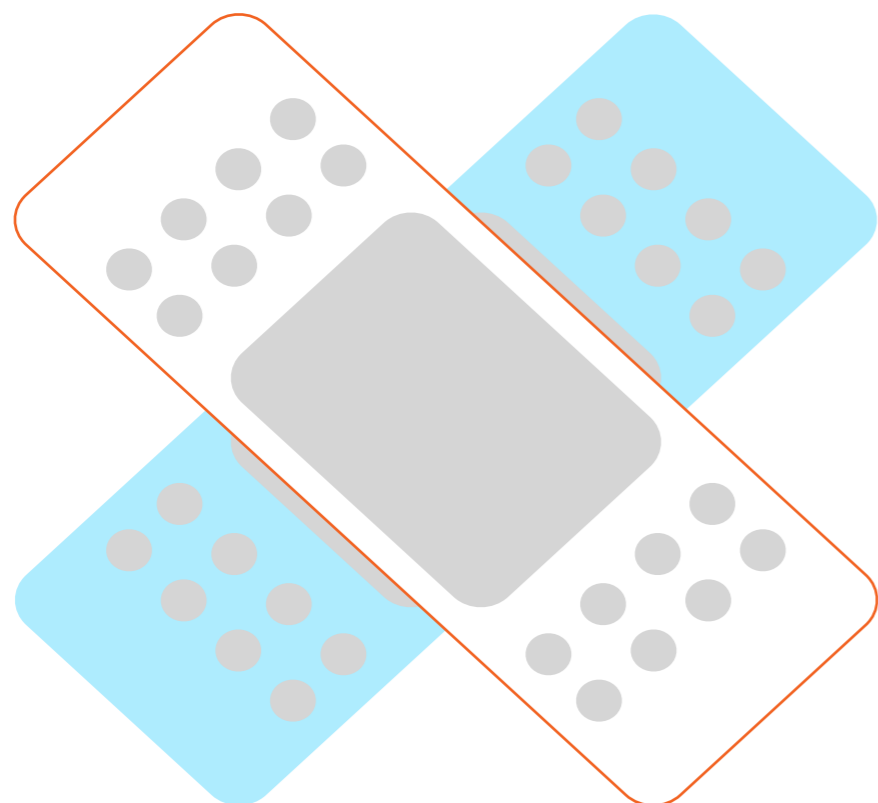
ATTIVITA' ASSISTENZIALE

L'attività assistenziale dell'IRCCS San Raffaele Pisana si inserisce nell'ambito di un'organizzazione strutturata che comprende un totale di 298 posti letto, con le seguenti Unità Operative (U.O.):

- Riabilitazione Neuromotoria
- Riabilitazione Pediatrica
- Cardiologia Riabilitativa
- Riabilitazione Respiratoria
- Medicina Interna

All'interno dell'IRCCS sono attivi i seguenti Laboratori e Servizi specialistici che offrono un fondamentale supporto alla clinica ed alla ricerca svolgendo un'attività trasversale agli obiettivi delle differenti Unità Operative:

- Laboratorio di Neurofisiopatologia
- Laboratorio per lo Studio delle Posture e del Movimento (Gait Analysis)
- Laboratorio per lo Studio della Funzionalità Cardiaca
- Laboratorio per lo Studio della Funzionalità Respiratoria
- Laboratorio di Patologia Clinica e Biotecnologie Avanzate
- Laboratorio di Robotica Riabilitativa
- Servizio di Otorinolaringoiatria con Laboratorio di Audiologia/Audiologia Infantile, Foniatria con sistema di videoendoscopia per lo studio delle prime vie aeree e Deglutologia
- Servizio di Diagnostica per Immagini
- Servizio di Idrokinesiterapia, Terapia Occupazionale e Rieducazione Funzionale.



DATI DI ATTIVITÀ



Nel corso dell'anno 2015 il numero totale dei dimessi in regime di ricovero ordinario è stato di 4375, di cui 2848 pazienti per la Riabilitazione e 1527 pazienti per l'Unità Operativa di Medicina (tabella 1).

Tabella 1 - Dimessi IRCCS San Raffaele Pisana - anno 2015

Discipline	N° Dimessi regione	N° Dimessi fuori regione	Totale	Degenza Media
Riabilitazione in Regime di Ricovero Ordinario	2625	223	2848	28,01
Riabilitazione in regime di Day Hospital	553	25	578	25,65*
Medicina interna	1491	36	1527	7,03
	4669	284	4953	21,26

Nota n. 1*: numero medio di accessi per paziente.

RICOVERI ORDINARI

Analizzando i dati per ciascuna U.O. (tabella 2), si osserva che la maggior parte dei ricoveri è attribuibile all'Unità Operativa di Riabilitazione Neuromotoria (1231 pazienti sul totale dei dimessi pari al 43,2%, di cui il 92,2% residenti nella Regione Lazio) e all'Unità Operativa di Cardiologia Riabilitativa (800 pazienti sul totale dei dimessi pari al 28,17%, di cui il 95,5% residenti nella Regione Lazio). Per le Unità Operative di Riabilitazione Respiratoria e di Riabilitazione Pediatrica l'ammontare dei pazienti dimessi è in termini percentuali rispettivamente del 23,2% (661 di cui il 97,3% residenti nella Regione Lazio) e del 5,5% (156 di cui il 43,6% residenti nella Regione Lazio). La degenza media dei pazienti dimessi dalle Unità Operative va da un minimo di 21,67 giorni per la Riabilitazione Respiratoria ad un massimo di 35,21 giorni per la Riabilitazione Neuromotoria, con una media totale di 28,01 giorni.

Tabella 2 - Ricoveri U.O. di Riabilitazione Anno 2015 – Degenza ordinaria

U.O. RIABILITAZIONE RICOVERI ORDINARI	Dimessi		Totale dimessi	Totale gg. Degenza	Degenza Media fuori regione	Degenza Media residenti	Degenza Media totale
	Fuori regione	Residenti					
Riabilitazione Pediatrica	88	68	156	3637	22,03	24,97	23,31
Riabilitazione Respiratoria	18	643	661	14325	19,72	21,73	21,67
Riabilitazione Neuromotoria	81	1150	1231	43345	34,49	35,26	35,21
Cardiologia Riabilitativa	36	764	800	18461	22,56	23,10	23,08
Totale	223	2625	2848	79768	26,46	28,14	28,01

RICOVERI IN DAY HOSPITAL

Per quanto concerne l'attività di Day Hospital, ci sono stati 14.823 accessi, per un totale di 578 pazienti (tabella 3). Dei pazienti ricoverati in regime di day hospital il 4,3% proviene da regioni diverse dalla Regione Lazio.

Tabella 3 - Attività di DH - anno 2015

	N° Dimessi regione	N° Dimessi fuori regione	Totale	Totale accessi	Numero medio accessi/pz
Riabilitazione dh	553	25	578	14823	25,65

Esaminando i dati più nel dettaglio (tab. n. 4), si evidenzia che, su un totale di 574 pazienti, 100 sono stati dimessi dal DH di Riabilitazione Pediatrica (il 18,0% dei quali provenienti da regioni diverse dalla Regione Lazio), 230 dal DH di R. Neuromotoria e 244 dal DH di Riabilitazione Cardiologica.

Il numero medio di accessi per paziente è di circa 25,99 giorni, andando da un minimo di 22,30 accessi per la Riabilitazione Cardiologica ad un massimo di 28,93 accessi per la Riabilitazione Pediatrica.

Tabella 4 - Attività di DH per disciplina - anno 2015

Riabilitazione DH	DIMESSI		Totale dimessi	ACCESSI		Totale accessi	Accessi Medi fuori regione	Accessi Medi residenti	Accessi Medi totale
	Fuori regione	Residenti		Fuori regione	Residenti				
R. Pediatrica	13	89	102	201	2674	2875	15,46	30,04	28,19
R. Neuromotoria	7	229	236	198	6428	6626	28,29	28,07	28,08
R. Cardiologica	5	235	240	39	5283	5322	7,80	22,48	22,18
Totale	25	553	578	438	14385	14823	17,52	26,01	25,65

Dall'analisi dei dati SIO relativi alle categorie diagnostiche principali (MDC) attribuite ai pazienti dimessi per l'anno 2015, sia di riabilitazione che di medicina, (tabella 5), emerge che il 39,4% sono attribuibili alla MDC 5: pertanto, diagnosi legate a malattie e disturbi del Sistema Cardio-circolatorio, il 24,7% attribuibili alla MDC 1, ovvero diagnosi legate a Malattie e disturbi del Sistema Nervoso ed il 17,7% attribuibili alla MDC 4, ovvero diagnosi legate a Malattie dell'apparato Respiratorio.

Tabella 5 Classificazione dei dimessi per MDC (Riabilitazione e Medicina).

Major Diagnostic Categories	ORD	D.H.	TOT.	%
MDC 1 Malattie e disturbi del sistema nervoso	982	241	1223	24,7
MDC 4 Malattie e disturbi dell'apparato respiratorio	879		879	17,7
MDC 5 Malattie e disturbi dell'app. cardiocircolatorio	1713	240	1953	39,4
MDC 8 Malattie e disturbi del sistema muscolo-scheletrico e del tessuto connettivo	594	74	668	13,5
MDC 19 Malattie e disturbi mentali	34	23	57	1,2
ALTRI	0	173	173	3,5
TOTALE	578	4375	4953	100,00

PROVENIENZA DEI PAZIENTI

L'IRCCS San Raffaele Pisana conferma la propria capacità attrattiva con ricoveri provenienti da tutte le regioni italiane. Considerando la totalità dei ricoveri, ordinari e diurni, il 6,9% dei pazienti provengono da regioni diverse dalla regione Lazio (342 su un totale di 4944 pazienti).

Nell'anno 2015 presso l'IRCCS SR Pisana sono state erogate 60.728 prestazioni (SSR) di carattere ambulatoriale.

INDICE DI ATTRAZIONE DA ALTRE REGIONI

Nel 2015 l'IRCCS San Raffaele Pisana conferma la propria capacità attrattiva con il 5,7% dei pazienti provengono da regioni diverse dalla regione Lazio (284 su un totale di 4953 pazienti). L'attrazione di pazienti provenienti da fuori regione avviene maggiormente nell'ambito del Centro per le Disabilità dello Sviluppo.

Dimessi IRCCS San Raffaele Pisana Regione versus Fuori Regione - Biennio 2014-2015

Discipline	N° Dimessi						Degenza Media	
	Regione		Fuori regione		Totale		2014	2015
	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015
Riabilitazione (RO)	2524	2625	271	553	2795	2848	28,71	28,01
Riabilitazione (DH)	545	553	29	25	574	578	25,99	25,65
Medicina interna	1533	1491	42	36	1575	1527	6,80	7,03
	4602	4669	342	284	4944	4953	21,42	21,26

Gli accessi dei pazienti avvengono tramite percorsi assistenziali privilegiati con le strutture ospedaliere per acuti sul territorio, come riportate precedentemente.

Nei reparti di riabilitazione neuromotoria la grande maggioranza dei pazienti viene ricoverato entro due settimane dall'evento acuto (77%) e la quasi totalità (93%) entro quattro settimane. Il 54% (660/1231) sono di sesso femminile.

I reparti di riabilitazione neuromotoria ed il Day Hospital utilizzano ed implementano le linee guida italiane per l'assistenza riabilitativa della persona con stroke, con Parkinson, con esiti di protesi di anca e di ginocchio.

Dei pazienti ricoverati per la riabilitazione neuromotoria 1024 (83%) hanno un'età superiore a 60 anni, 776 (63%) un'età maggiore di 70 anni. Si riportano a seguire gli outcome al momento del ricovero e alla dimissione.

	Età media	Barthel ingresso media	Barthel dimissione media
Riab NM1	68,85	32,0	70,9
Riab NM2	73,11	34,5	75,1
Riab NM3	71,54	33,9	72,0

Nei reparti di cardiologica riabilitativa e riabilitazione respiratoria gli outcome vengono misurati anche con il Test del Cammino (6 Minute Walking Test) e la Classe BORG. Mentre nella riabilitazione respiratoria si rileva una equa distribuzione tra i due sessi (50), nella cardiologia riabilitativa il 63% è rappresentato da maschi.

	Età media	Barthel ingresso media	Barthel dimissione media	5MWT Ingresso media	5MWT dimissione media
Cardiologia riabilitativa	71,49	74,1	93,9	85,3	283,1
Riabilitazione respiratoria	74,64	55,9	78,8	59,4	139,8

INDIRIZZI UTILI



Direttore Scientifico

Massimo Fini
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 0652253406 Fax +39 06 52255668
Email: massimo.fini@sanraffaele.it

Direttore Sanitario

Ugo Luigi Aparo
Via della Pisana, 235
Tel. +39 06 52252337
Email: direzione.sanitaria@sanraffaele.it

Direttore Operativo

Maria Fattori
Via della Pisana, 235
Tel. +39 06 52252380
Email: maria.fattori@sanraffaele.it

Presidente Comitato Tecnico Scientifico

Enrico Garaci
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 0652252132 Fax +39 06 52252079
Email: enrico.garaci@sanraffaele.it

Segreteria Scientifica

Astrid van Rijn
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52253405 Fax +39 06 52255668
Email: astrid.vanrijn@sanraffaele.it

Segreteria Direttore Scientifico

Stefania Proietti
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52253406 Fax +39 06 52255668
Email: segreteriascientifica@sanraffaele.it

Servizi Amministrativi Ricerca

Guido Poli/Elena Biagini
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52252471
Email: guido.poli@sanraffaele.it
elena.biagini@sanraffaele.it

Editorial Office

Daniela Pernice
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52253404 Fax +39 06 52255668
Email: daniela.pernice@sanraffaele.it

Segreteria Comitato Etico

Fabiola D'Angeli
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 66130406 Fax 06/66130407
Email: fabiola.dangeli@sanraffaele.it

Biblioteca

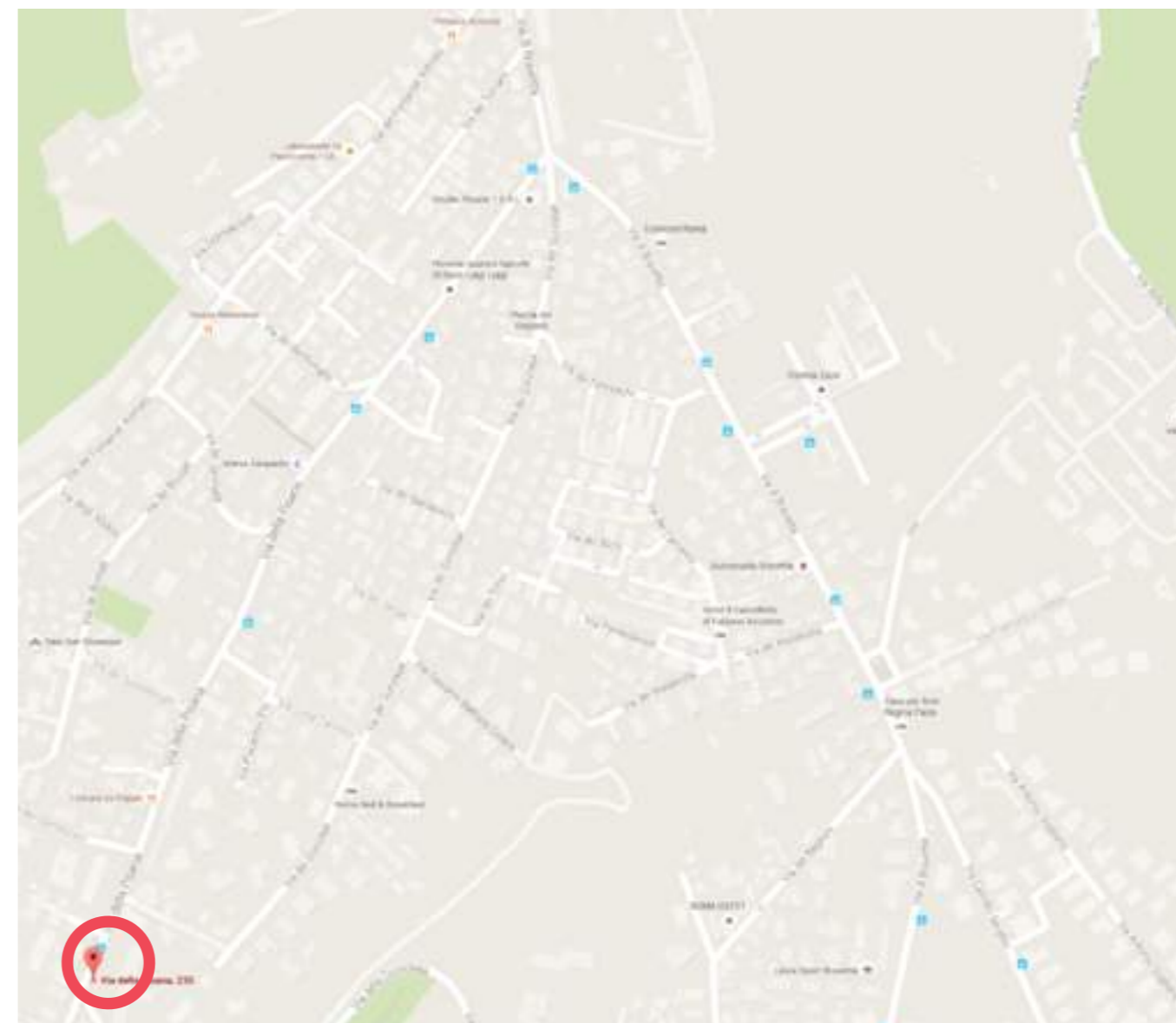
Valia Nikolova
Via di Val Cannuta, 247
Tel/Fax +39 06 52252466
Email: bibliotecapisana@sanraffaele.it

COME RAGGIUNGERCI

Via della Pisana, 235
00163 Roma

Come raggiungerci
Dal Grande Raccordo Anulare:
Uscita n. 32 "Pisana", proseguire per circa 5 Km, direzione centro

Con i mezzi pubblici
Metro A: fermata Cornelia. Proseguire con il n. 889
Linee Autobus: 892, 881, 808



Via di Val Cannuta, 247
00166 Roma

Come raggiungerci
In auto dal Grande Raccordo Anulare
- uscita 1 direzione Via Aurelia

- con i mezzi pubblici

1) linea Metro A (direz. Battistini), fermata Cornelia. A piedi per 50 metri, recarsi alla fermata De La Salle, prendere la linea 889 per otto fermate. Scendere alla fermata Val Cannuta-Ago (capolinea);

2) linea Metro A (direz. Battistini), fermata Battistini. A piedi per 50 metri, prendere la linea 546 direzione Val Cannuta/Ago. Scendere alla fermata Val Cannuta (capolinea)

