



ANNUAL REPORT

2016

SR

**SAN RAFFAELE RESEARCH INSTITUTE
IRCCS SAN RAFFAELE PISANA**

SR

ANNUAL REPORT 2016

INDICE

REPORT DEL DIRETTORE SCIENTIFICO PAG. 6

ATTIVITA' SCIENTIFICA PAG. 8

Comitato Scientifico pag. 9

Pubblicazioni pag. 11

Linee di Ricerca pag. 63

- 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 pag. 307

Altra Tipologia di Ricerca pag. 354

Clinical Trial Center pag. 423

Convenzioni pag. 428

Collaborazioni istituzionali nazionali ed internazionali pag. 428

Servizi Bibliotecari pag. 434

Scuole Universitarie pag. 436

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*

COMITATO TECNICO SCIENTIFICO

Il Comitato Tecnico Scientifico, presieduto dal Professore Enrico Garaci, nel corso dell'anno 2016 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, a mettere a disposizione dei ricercatori la loro expertise nel coordinare al meglio le unità di ricerca.

COMITATO SCIENTIFICO IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

Presidente: Enrico Garaci

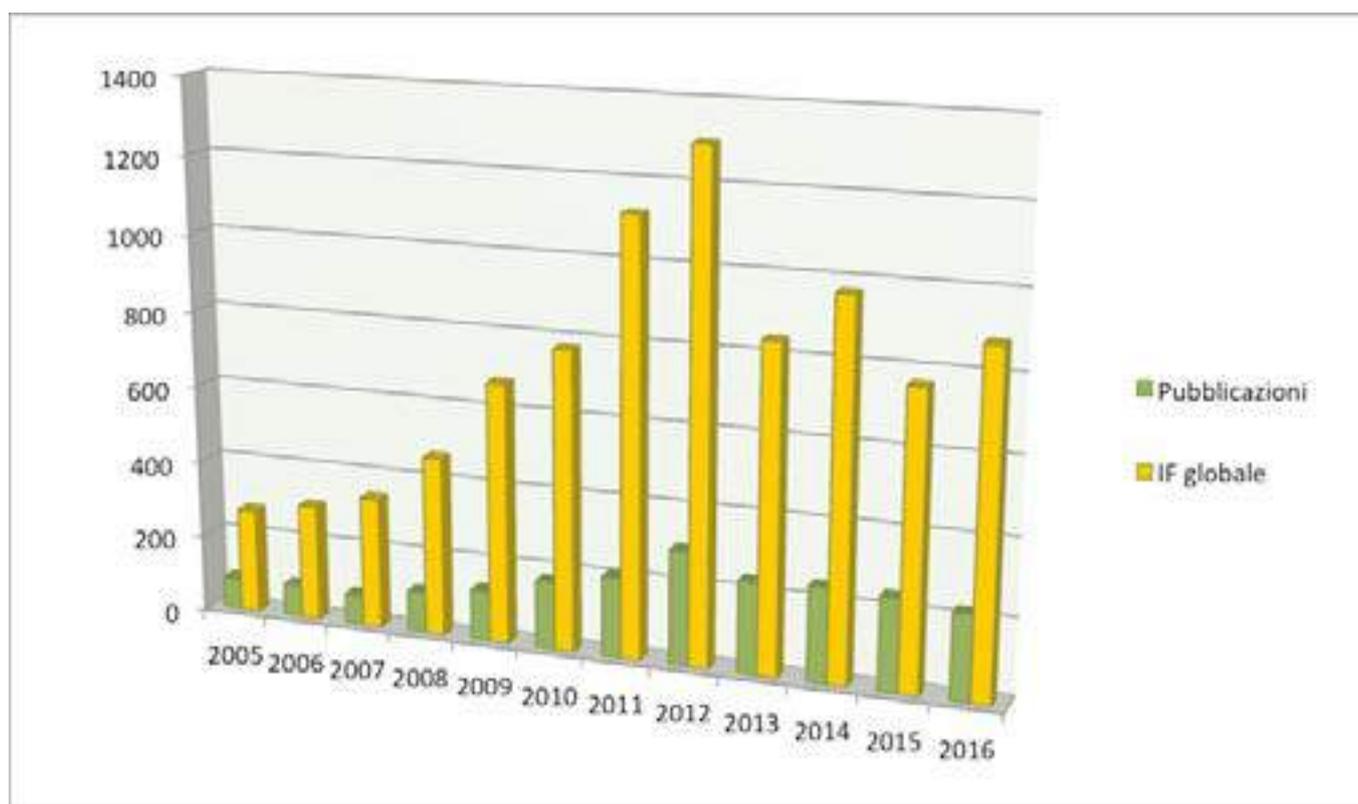
- GIORGIO ALBERTINI
Direttore del Dipartimento Disabilità dello Sviluppo Motorie e Sensoriali, IRCCS San Raffaele Pisana
- LUCIO ANNUNZIATO
Professore Ordinario di Farmacologia, Università di Napoli "Federico II"
- MASSIMO FINI
Direttore Scientifico IRCCS San Raffaele Pisana
- MARCO FRANCESCHINI
Coordinatore 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
Responsabile Laboratori di Ricerca di base, 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

Nel 2016 l'attività scientifica dell'IRCCS San Raffaele è documentata da 233 pubblicazioni, che comprendono:

- 223 articoli originali su riviste recensite dal JCR
- 10 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 2016 è 878.



Impact Factor totale degli articoli pubblicati dall' IRCCS San Raffaele Pisana nel periodo 2005-2016

PUBBLICAZIONI

*PUBBLICAZIONI SU
RIVISTE IMPATTATE*



Area di Riabilitazione Neuromotoria

Franceschini M, Massimiani MP, Paravati S, Agosti M.
Return to Work: A cut-off of FIM gain with Montebello Rehabilitation Factor Score in order to identify predictive factors in subjects with acquired brain injury.
PLoS One. 2016 Oct 25;11(10):e0165165. eCollection 2016.

Area Parkinson e Disturbi del Movimento

Camerota F, Celletti C, Suppa A, Galli M, Cimolin V, Filippi GM, La Torre G, Albertini G, Stocchi F, De Pandis MF.

Focal muscle vibration improves gait in parkinson's disease: A pilot randomized, controlled trial.
Movement Disorders Clinical Practice. Volume 3, Issue 6, Version of Record online: 11 FEB 2016

Galli M, Cimolin V, De Pandis MF, Le Pera D, Sova I, Albertini G, Stocchi F, Franceschini M. Robot-assisted gait training versus treadmill training in patients with Parkinson's disease: a kinematic evaluation with gait profile score.
Funct Neurol. 2016 Jul-Sep;31(3):163-170.

Ray Chaudhuri K, Rojo JM, Schapira AH, Brooks DJ, Stocchi F, Odin P, Antonini A, Brown RG, Martinez-Martin P. Correction of one of the authors' name (Brown):
A Proposal for a Comprehensive Grading of Parkinson's Disease Severity Combining Motor and Non-Motor Assessments: Meeting an Unmet Need.
PLoS One. 2016 Feb 19;11(2):e0150130.

LeWitt PA, Hauser RA, Grosset DG, Stocchi F, Saint-Hilaire MH, Ellenbogen A, Leinonen M, Hampson NB, DeFeo-Fraulini T, Freed MI, Kieburtz KD.
A randomized trial of inhaled levodopa (CVT-301) for motor fluctuations in Parkinson's disease.
Mov Disord. 2016 Sep;31(9):1356-1365.

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;April 1;26(4):354-360.

Stirpe P, Hoffman M, Badiali D, Colosimo C.
Constipation: an emerging risk factor for Parkinson's disease?
Eur J Neurol. 2016 Nov;23(11):1606-1613.

Stocchi F, Torti M.
Adjuvant therapies for Parkinson's disease: critical evaluation of safinamide.
Drug Des Devel Ther. 2016 Feb 5;10:609-118.

Trenkwalder C, Berg D, Rascol O, Eggert K, Ceballos-Baumann A, Corvol JC, Storch A, Zhang L, Azulay JP, Broussolle E, Defebvre L, Geny C, Gostkowski M, Stocchi F, Tranchant C, Derkinderen P, Durif F, Espay AJ, Feigin A, Houeto JL, Schwarz J, Di Paolo T, Feuerbach D, Hockey HU, Jaeger J, Jakab A, Johns D, Linazasoro G, Maruff P, Rozenberg I, Sovago J, Weiss M, Gomez-Mancilla B.

A Placebo-Controlled Trial of AQW051 in Patients With Moderate to Severe Levodopa-Induced Dyskinesia.
Mov Disord. 2016 Jul;31(7):1049-1054.

Trenkwalder C, Stocchi F, Poewe W, Dronamraju N, Kenney C, Shah A, von Raison F, Graf A.

Mavoglurant in Parkinson's patients with L-Dopa-Induced dyskinesias: two randomized phase 2 studies.

Mov Disord. 2016 Jul;31(7):1054-1058.

Area Cefalee e Dolore Neuropatico

Ambrosini A, Kisialiou A, Coppola G, Finos L, Magis D, Pierelli F, Schoenen J.

Visual and auditory cortical evoked potentials in interictal episodic migraine: An audit on 624 patients from three centres.

Cephalalgia. 2016 Aug 31. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27582121.

Ambrosini A, Kisialiou A, Schoenen J.

Visual and auditory cortical evoked potentials in interictal episodic migraine: An audit on 624 patients from three centres. Response to the letter by Omland et al.

Cephalalgia. 2016 Nov 21. pii: 0333102416680616. [Epub ahead of print]

Barbanti P, Aurilia C, Dall'Armi V, Egeo G, Fofi L, Bonassi S.

The phenotype of migraine with unilateral cranial autonomic symptoms documents increased peripheral and central trigeminal sensitization. A case series of 757 patients.

Cephalalgia. 2016 Dec;36(14):1334-1340.

Gasparini M, Aurilia C, Lubian D, Testa M.

Herbal remedies and the self-treatment of stress: An Italian survey.

European Journal of Integrative Medicine 8 (2016) 465-470

Grazzi L, Egeo G, Calhoun AH, McClure CK, Liebler E, Barbanti P.

Non-invasive Vagus Nerve Stimulation (nVNS) as mini-prophylaxis for menstrual/menstrually related migraine: an open-label study.

J Headache Pain 2016 Dec;17(1):91. Epub 2016 Oct 3.

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 2016 May;17(5):924-930.

Laboratorio di Neurobiologia Cellulare e Molecolare

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. Epub 2016 Jan 14 PubMed PMID: 26885401.

De Chiara G, Racaniello M, Mollinari C, Marcocci ME, Aversa G, Cardinale A, Giovanetti A, Garaci E, Palamara AT, Merlo D.

Herpes simplex virus-type 1 (HSV-1) impairs DNA repair in cortical neurons.

Frontiers in Aging Neuroscience. 2016;8:242. eCollection 2016.

Merlo D, Mollinari C, Racaniello M, Garaci E, Cardinale A.

DNA double strand breaks: a common theme in neurodegenerative diseases.

Curr Alzheimer Res. 2016;13(11):1208-1218.

Merlo D, Mollinari C, Racaniello M, Garaci E, Cardinale A.

DNA double strand breaks: a common theme in neurodegenerative diseases.

Curr Alzheimer Res. 2016;13(11):1208-1218.

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 Plast. 2016;2016:3619274. Epub 2016 Jan 31.

Laboratorio di Elettrofisiologia

Gambardella A, Labate A, Cifelli P, Ruffolo G, Mumoli L, Aronica E, Palma E.
Pharmacological modulation in mesial temporal lobe epilepsy: Current status and future perspectives.
Pharmacol Res. 2016 Nov;113(Pt A):421-425. Epub 2016 Sep 19.

Palma E, Reyes-Ruiz JM, Lopercolo D, Roseti C, Bertollini C, Ruffolo G, Cifelli P, Onesti E, Limatola C, Miledi R, Inghilleri M.
Acetylcholine receptors from human muscle as pharmacological targets for ALS therapy.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Mar 15;113(11):3060-3065.

Ruffolo G, Iyer A, Cifelli P, Roseti C, Mühlebner A, van Scheppingen J, Scholl T, Hainfellner JA, Feucht M, Krsek P, Zamecnik J, Jansen JF, Spliet WGM, Limatola C, Aronica E, Palma E. Functional aspects of early brain development are preserved in tuberous sclerosis complex (TSC) epileptogenic lesions.
Neurobiology of Disease 2016;96:93-101

Laboratorio Biochimica dell'Invecchiamento

Aquilano K, Baldelli S, La Barbera L, Lettieri Barbato D, Tatulli G, Ciriolo MR.
Adipose triglycerides lipase decrement affects skeletal muscle homeostasis during aging through FAs-PPAR α -PGC-1 α antioxidant response.
Oncotarget. 2016 Apr 26;7(17):23019-23032.

Lettieri Barbato D, Aquilano K.
Feast and famine: Adipose tissue adaptations for healthy aging.
Ageing Res Rev. 2016 Jul;28:85-93. Epub 2016 May 17.

Vegliante R, Desideri E, Di Leo L, Ciriolo MR.
Dehydroepiandrosterone triggers autophagic cell death in human hepatoma cell line HepG2 via JNK-mediated p62/SQSTM1 expression.
Carcinogenesis. 2016 Mar;37(3):233-244. Epub 2016 Jan 13.

Laboratori di Neurofisiologia e di Brain Connectivity

Altamura C, Scrascia F, Quattrocchi CC, Errante Y, Gangemi E, Curcio G, Ursini F, Silvestrini M, Maggio P, Beomonte Zobel B, Rossini PM, Pasqualetti P, Falsetti L, Vernieri F.
Regional MRI diffusion, white-matter hyperintensities, and cognitive function in Alzheimer's Disease and vascular dementia.
J Clin Neurol. 2016 Apr;12(2):201-208.

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.

Clin Neurophysiol. 2016 Jan;127(1):581-590. Epub 2015 Jun 8.

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.

Clin Neurophysiol. 2016 Jan;127(1):641-654.

Babiloni C, Marzano N, Soricelli A, Cordone S, Millán-Calenti JC, Del Percio C, Buján A. Cortical Neural Synchronization Underlies Primary Visual Consciousness of Qualia: Evidence from Event-Related Potentials.

Front Hum Neurosci. 2016 Jun 30;10:310. eCollection 2016.

Babiloni C, Pennica A, Capotosto P, Onorati P, Muratori C, Ferracuti S, Roma P, Correr V, Piccinni E, Noce G, Del Percio C, Cordone S, Limatola C, Soricelli A, Di Campli F, Gianserra L, Ciullini L, Aceti A, Viscione M, Teti E, Sarmati L, Andreoni M.

Brain and cognitive functions in two groups of naïve HIV patients selected for a different plan of antiretroviral therapy: A qEEG study.

Clin Neurophysiol. 2016 Sep 9;127(11):3455-3469.

Babiloni C, Pennica A, Del Percio C, Noce G, Cordone S, Lopez S, Berry K, Muratori C, Ferracuti S, Roma P, Correr V, Di Campli F, Gianserra L, Ciullini L, Aceti A, Soricelli A, Teti E, Viscione M, Limatola C, Onorati P, Capotosto P, Andreoni M.

Antiretroviral therapy affects the z-score index of deviant cortical EEG rhythms in naïve HIV individuals.

Neuroimage Clin. 2016 Jun 8;12:144-156.

Babiloni C, Pennica A, Del Percio C, Noce G, Cordone S, Muratori C, Ferracuti S, Donato N, Di Campli 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 2016;127:1803-1812.

Babiloni C, Triggiani AI, Lizio R, Cordone S, Tattoli G, Bevilacqua V, Soricelli A, Ferri R, Nobili F, Gesualdo L, Millán-Calenti JC, Buján A, Tortelli R, Cardinali V, Barulli MR, Giannini A, Spagnolo P, Armenise S, Buenza G, Scianatico G, Logroscino G, Frisoni GB, Del Percio C. Classification of Single Normal and Alzheimer's Disease Individuals from Cortical Sources of Resting State EEG Rhythms. *Frontiers in Neuroscience*. 2016 Feb 23;10:47. eCollection 2016.

Bocchetta M, Mega A, Bernardi L, Di Maria E, Benussi L, Binetti G, Borroni B, Colao R, Di Fede G, Fostinelli S, Galimberti D, Gennarelli M, Ghidoni R, Piaceri I, Pievani M, Porteri C, Redaelli V, Rossi G, Suardi S, Babiloni C, Scarpini E, Tagliavini F, Padovani A, Nacmias B, Sorbi S, Frisoni GB, Bruni AC; SINDem.

Genetic counseling and testing for Alzheimer's Disease and frontotemporal lobar degeneration: an Italian consensus protocol.

Alzheimers Dis. 2016;51(1):277-291.

Blinowska KJ, Rakowski F, Kaminski M, De Vico Fallani F, Del Percio C, Lizio R, Babiloni C. Functional and effective brain connectivity for discrimination between Alzheimer's patients and healthy individuals: A study on resting state EEG rhythms.

Clin Neurophysiol. 2016 Oct 22. pii: S1388 2457(16)30549-30551. [Epub ahead of print]

Caliandro P, Reale G, Tartaglione T, Rossini PM.

The challenge of basilar artery occlusion wake-up stroke: too late for intravenous thrombolysis? *Neurol Sci.* 2016 Jul;37(7):1137-1140. PubMed PMID: 26960980.

D'Atri A, De Simoni E, Gorgoni M, Ferrara M, Ferlazzo F, Rossini PM, De Gennaro L.

Electrical stimulation of the frontal cortex enhances slow-frequency EEG activity and sleepiness. *Neuroscience.* 2016 Jun 2;324:119-130.

Del Percio C, Drinkenburg W, Lopez S, Infarinato F, Bastlund JF, Laursen B, Pedersen JT, Christensen DZ, Forloni G, Frasca A, Noè FM, Bentivoglio M, Fabene PF, Bertini G, Colavito V, Kelley J, Dix S, Richardson JC, Babiloni C; PharmaCog Consortium.

On-going electroencephalographic rhythms related to cortical arousal in wild-type mice: the effect of aging.

Neurobiol Aging. 2016 Sep 15;49:20-30. [Epub 2016 Sep 15]

Ferreri F, Vecchio F, Vollero L, Guerra A, Petrichella S, Ponzo D, Määttä S, Mervaala E, Könönen M, Ursini F, Pasqualetti P, Iannello G, Rossini PM, Di Lazzaro V.

Sensorimotor cortex excitability and connectivity in Alzheimer's disease: A TMS-EEG Co-registration study.

Hum Brain Mapp. 2016 Jun;37(6):2083-2096.

Galluzzi S, Marizzoni M, Babiloni C, Albani D, Antelmi L, Bagnoli C, Bartres-Faz D, Cordone S, Didic M, Farotti L, Fiedler U, Forloni G, Girtler N, Hensch T, Jovicich J, Leeuwis A, Marra C, Molinuevo JL, Nobili F, Pariente J, Parnetti L, Payoux P, Del Percio C, Ranjeva JP, Rolandi E, Rossini PM, Schönknecht P, Soricelli A, Tsolaki M, Visser PJ, Wiltfang J, Richardson JC, Bordet R, Blin O, Frisoni GB; PharmaCog Consortium.

Clinical and biomarker profiling of prodromal Alzheimer's disease in workpackage 5 of the Innovative Medicines Initiative PharmaCog project: a 'European ADNI study'.

J Intern Med. 2016 Jun;279(6):576-591.

Gorgoni M, Lauri G, Truglia I, Cordone S, Sarasso S, Scarpelli S, Mangiaruga A, D'Atri A, Tempesta D, Ferrara M, Marra C, Rossini PM, De Gennaro L.

Parietal Fast Sleep Spindle Density Decrease in Alzheimer's Disease and Amnesic Mild Cognitive Impairment.

Neural Plast. 2016;2016:8376108. Epub 2016 Mar 15.

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.* 2015 Jul 24:1-6. [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 Sep 28. [Epub ahead of print].

Luigetti M, Fabrizi GM, Bisogni G, Romano A, Taioli F, Ferrarini M, Bernardo D, Rossini PM, Sabatelli M.

Charcot-Marie-Tooth type 2 and distal hereditary motor neuropathy: Clinical, neurophysiological and genetic findings from a single-centre experience.

Clin Neurol Neurosurg. 2016 May;144:67-71.

Marchitelli R, Minati L, Marizzoni M, Bosch B, Bartrés-Faz D, Müller BW, Wiltfang 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, Kuijjer JP, Visser PJ, Barkhof F, Frisoni GB, Jovicich J.

Test-retest reliability of the default mode network in a multi-centric fMRI study of healthy elderly: Effects of data-driven physiological noise correction techniques.

Hum Brain Mapp. 2016 Jun;37(6):2114-2132.

Migliore S, Ghazaryan A, Simonelli I, Pasqualetti P, Landi D, Palmieri MG, Moffa F, Rinaldi P, Vernieri F, Filippi MM.

Validity of the minimal assessment of cognitive function in multiple sclerosis (MACFIMS) in the Italian population.

Neurol Sci. 2016 Aug;37(8):1261-1270.

Miraglia F, Vecchio F, Rossini PM.

Searching for signs of aging and dementia in EEG through network analysis. Review.

Behavioural Brain Research, Epub 2016 Sep 28.

Mori F, Nisticò R, Nicoletti CG, Zagaglia S, Mandolesi G, Piccinin S, Martino G, Finardi A, Rossini PM, Marfia GA, Furlan R, Centonze D.

RANTES correlates with inflammatory activity and synaptic excitability in multiple sclerosis.

Mult Scler. 2016 Oct;22(11):1405-1412.

Oddo CM, Raspopovic S, Artoni F, Mazzoni A, Spigler G, Petrini F, Giambattistelli F, Vecchio F, Miraglia F, Zollo L, Di Pino G, Camboni D, Carrozza MC, Guglielmelli E, Rossini PM, Faraguna U, Micera S.

Intraneural stimulation elicits discrimination of textural features by artificial fingertip in intact and amputee humans.

Elife. 2016 Mar 8;5:e09148.

Padua L, Coraci D, Erra C, Doneddu PE, Granata G, Rossini PM.

Prolonged phone-call posture causes changes of ulnar motor nerve conduction across elbow.

Clin Neurophysiol. 2016 Aug;127(8):2728-2732.

Parazzini M, Fiocchi S, Cancelli A, Cottone C, Liorni I, Ravazzani P, Tecchio F.

A Computational Model of the Electric Field Distribution due to Regional Personalized or Non-Personalized Electrodes to Select Transcranial Electric Stimulation Target.

IEEE Trans Biomed Eng. 2016 . Epub 2016 Apr 12.

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.

Rossini C, Luigetti M, Romanello R, Gnani V, Viridis D, Cordaro M, Rossini PM.

Somatosensory Evoked Potentials of Inferior Alveolar Nerve: confirmation of a possible non-invasi-

ve neurophysiological approach.
Clin Ter. 2016 Mar-Apr;167(2):25-28.

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 fibroblasts cultures reveal TDP-43 abnormalities in amyotrophic lateral sclerosis patients with and without SOD1 mutations.
Neurobiol Aging 2015 [Epub ahead of print]

Smits FM, Porcaro C, Cottone C, Cancelli A, Rossini PM, Tecchio F.
Electroencephalographic fractal dimension in healthy ageing and Alzheimer's Disease.
PLoS One. 2016 Feb 12;11(2):e0149587. eCollection 2016.

Teipel S, Babiloni C, Hoey J, Kaye J, Kirste T, Burmeister OK.
Information and communication technology solutions for outdoor navigation in dementia. Alzheimers Dement. 2016 Jun;12(6):695-707.

Teipel S, Grothe MJ, Zhou J, Sepulcre J, Dyrba M, Sorg C, Babiloni C.
Measuring Cortical Connectivity in Alzheimer's Disease as a Brain Neural Network Pathology: Toward Clinical Applications.
J Int Neuropsychol Soc. 2016 Feb;22(2):138-163.

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. 2016 May;103:79-87.

Vecchio F, Miraglia F, Piludu F, Granata G, Romanello R, Caulo M, Onofrij V, Bramanti P, Colosimo C, Rossini PM.
"Small World" architecture in brain connectivity and hippocampal volume in Alzheimer's disease: a study via graph theory from EEG data.
Brain Imaging Behav. 2016 Mar 9. [Epub ahead of print].

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. 2016 Mar 1;316:143-150.

Vecchio F, Miraglia F, Romano A, Bramanti P, Rossini PM.
Small world brain network characteristics during EEG Holter recording of a stroke event.
Clin Neurophysiol. 2016 Nov 3;128(1):1-3.

Vecchio F, Miraglia F, Vollono C, Fuggetta F, Bramanti P, Cioni B, Rossini PM.
Pre-seizure architecture of the local connections of the epileptic focus examined via graph-theory.
Clin Neurophysiol 2016 Aug 2;127(10):3252-3258.

Vecchio F, Pellicciari MC, Miraglia F, Brignani D, Miniussi C, Rossini PM.
Effects of transcranial direct current stimulation on the functional coupling of the sensorimotor cortical network.
Neuroimage. 2016 Oct 15;140:50-56.

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. 2016 May;103:110-117.

Area Cardiovascolare e Scienze Internistiche, Laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare

Agewall S, Beltrame JF, Reynolds HR, Niessner A, Rosano G, Caforio AL, De Caterina R, Zimarino M, Roffi M, Kjeldsen K, Atar D, Kaski JC, Sechtem U, Tornvall P; WG on Cardiovascular Pharmacotherapy.

ESC working group position paper on myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries. Eur Heart J. 2016 Apr 28. pii: ehw149. [Epub ahead of print]

Anker SD, Schroeder S, Atar D, Bax JJ, Ceconi C, Cowie MR, Crisp A, Dominjon F, Ford I, Ghofrani HA, Gropper S, Hindricks G, Hlatky MA, Holcomb R, Honarpour N, Jukema JW, Kim AM, Kunz M, Lefkowitz M, Le Floch C, Landmesser U, McDonagh TA, McMurray JJ, Merkely B, Packer M, Prasad K, Revkin J, Rosano GM, Somaratne R, Stough WG, Voors AA, Ruschitzka F.

Traditional and new composite endpoints in heart failure clinical trials: facilitating comprehensive efficacy assessments and improving trial efficiency.

Eur J Heart Fail. 2016 May;18(5):482-489.

Arcari L, Limite LR, Cacciotti L, Alonzo A, Musumeci MB, Passaseo I, Marazzi G, Berni A, Ansalone G, Volpe M, Autore C.

Tortuosity, recurrent segments and bridging of the epicardial coronary arteries in patients with the takotsubo syndrome.

Am J Cardiol. 2017 Jan 15;119(2):243-248.

Badagliacca R, Poscia R, Pezzuto B, Papa S, Pesce F, Manzi G, Giannetta E, Raineri C, Schina M, Sciomer S, Parola D, Francone M, Carbone I, Fedele F, Vizza CD.

Right ventricular concentric hypertrophy and clinical worsening in idiopathic pulmonary arterial hypertension.

J Heart Lung Transplant. 2016 Nov;35(11):1321-1329.

Bueno H, de Graeff P, Richard-Lordereau I, Emmerich J, Fox KA, Friedman CP, Gaudin C, El-Gazayerly A, Goldman S, Hemmrich M, Henderson RA, Himmelmann A, Irs A, Jackson N, James SK, Katus HA, Laslop A, Laws I, Mehran R, Ong S, Prasad K, Roffi M, Rosano GM, Rose M, Sinnaeve PR, Stough WG, Thygesen K, Van de Werf F, Varin C, Verheugt FW, de Los Angeles Alonso García M.

Report of the European Society of Cardiology Cardiovascular Round Table regulatory workshop update of the evaluation of new agents for the treatment of acute coronary syndrome: Executive summary.

Eur Heart J Acute Cardiovasc Care. 2016 Jun 29. pii: 2048872616649859. [Epub ahead of print]

Butler J, Hamo CE, Udelson JE, Pitt B, Yancy C, Shah SJ, Desvigne-Nickens P, Bernstein HS, Clark RL, Depre C, Dinh W, Hamer A, Kay-Mugford P, Kramer F, Lefkowitz M, Lewis K, Maya J, Maybaum S, Patel MJ, Pollack PS, Roessig L, Rotman S, Salsali A, Sims JJ, Senni M, Rosano G, Dunnmon P, Stockbridge N, Anker SD, Zile MR, Gheorghiade M.

Exploring new endpoints for patients with heart failure with preserved ejection fraction.

Circ Heart Fail. 2016 Nov;9(11). pii: e003358.

- Caminiti G, Fossati C, Battaglia D, Selli S, Fortuna D, Volterrani M.
Exercise training in heart failure, clinical evidences and areas of uncertainty.
Journal of Cardiology and Therapy. 2016;3(1):473-482.
- Caprio M, Infante M, Armani A, Lenzi A, Fabbri A.
Recettore mineralcorticoide e organo adiposo: Implicazioni cliniche e terapeutiche.
L'Endocrinologo. 2016;17(2):73-77.
- Catalá-López F, Macías Saint-Gerons D, González-Bermejo D, Rosano GM, Davis BR, Ridao M, Zaragoza A, Montero-Corominas D, Tobías A, de la Fuente-Honrubia C, Tabarés-Seisdedos R, Hutton B.
Cardiovascular and Renal Outcomes of Renin-Angiotensin System Blockade in Adult Patients with Diabetes Mellitus: A Systematic Review with Network Meta-Analyses.
PLoS Med. 2016 Mar 8;13(3):e1001971. Review.
- Cvan Trobec K, Grabnar I, Kerec Kos M, Vovk T, Trontelj J, Anker SD, Rosano G, Lainscak M.
Bisoprolol pharmacokinetics and body composition in patients with chronic heart failure: a longitudinal study.
Eur J Clin Pharmacol. 2016 Jul;72(7):813-22. Epub 2016 Mar 21.
- Garofalo T, Matarrese P, Manganelli V, Marconi M, Tinari A, Gambardella L, Faggioni A, Misasi R, Sorice M, Malorni W.
Evidence for the involvement of lipid rafts localized at the ER-mitochondria associated membranes in autophagosome formation.
Autophagy. 2016 Jun 2;12(6):917-935.
- Giuseppe C, Chiara F, Giuseppe R, Maurizio V.= 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. 2016 Jan 1;202:73-74.
- Caminiti G, Fossati C, Battaglia D, Massaro R, Rosano G, Volterrani M.
Ranolazine improves insulin resistance in non-diabetic patients with coronary heart disease. A pilot study.
Int J Cardiol. 2016 Jun 11;219:127-129.
- Campolongo G, Riccioni CV, Raparelli V, Spoletini I, Marazzi G, Vitale C, Volterrani M.
The combination of nutraceutical and simvastatin enhances the effect of simvastatin alone in normalising lipid profile without side effects in patients with ischemic heart disease.
IJC Metabolic & Endocrine. 2016 6;11:3-6.
- Caprio M, Infante M, Calanchini M, Mammi C, Fabbri A.
Vitamin D: not just the bone. Evidence for beneficial pleiotropic extraskeletal effects
Eat Weight Disord. August 2016 [Epub ahead of print]
- Di Bari M, Esposti LD, Veronesi C, Pecorelli S, Fini M, Baldasseroni S, Mossello E, Fumagalli S, Scatigna M, Marchionni N.
Combination evidence-based therapy is effective in the oldest 'old patients' following myocardial infarction. The "Salute e Benessere nell'Anziano" (SeBA) observational study.
Intern Emerg Med. 2016 Aug;11(5):677-685.
- 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 Sep 21. [Epub ahead of print]

Ferrari D, Vitiello L, Idzko M, Ia Sala A.
Purinergic signaling in atherosclerosis.
Trends Mol Med. 2015 Mar;21(3):184-192.

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. 2016 Sep;7(4):449-457.

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. 2016 Aug;68(2):100-103.

Gori M, Volterrani M, Piepoli M, Senni M.
Angiotensin receptor-neprilysin inhibitor (ARNi): Clinical studies on a new class of drugs.
Int J Cardiol. 2017 Jan 1;226:136-140.

Griffo R, Tramarin R, Volterrani M, Ambrosetti M, Caiazza F, Chimini C, Favretto G, Febo O, Gabriele M, Pusineri E, Greco C, Proto C; Società Italiana Cardiologia Ospedalita Accreditata.
[The Italian Survey on Cardiac Rehabilitation - 2013 (ISYDE.13-Directory): national availability and organization of cardiac rehabilitation facilities].
G Ital Cardiol (Rome). 2016 Mar;17(3):217-224.

Haider A, Yassin A, Haider KS, Doros G, Saad F, Rosano GM.
Men with testosterone deficiency and a history of cardiovascular diseases benefit from long-term testosterone therapy: observational, real-life data from a registry study.
Vasc Health Risk Manag. 2016 Jun 14;12:251-261.

Harjola VP, Mebazaa A, Čelutkienė J, Bettex D, Bueno H, Chioncel O, Crespo-Leiro MG, Falk V, Filippatos G, Gibbs S, Leite-Moreira A, Lassus J, Masip J, Mueller C, Mullens W, Naeije R, Nordgraaf AV, Parissis J, Riley JP, Ristic A, Rosano G, Rudiger A, Ruschitzka F, Seferovic P, Sztrymf B, Vieillard-Baron A, Yilmaz MB, Konstantinides S.
Contemporary management of acute right ventricular failure: a statement from the Heart Failure Association and the Working Group on Pulmonary Circulation and Right Ventricular Function of the European Society of Cardiology.
Eur J Heart Fail. 2016 Mar;18(3):226-241.

EH, Brest P, Bridges D, Bringer MA, Brini M, Brito GC, Brodin B, Brookes PS, Brown EJ, Brown K, Broxmeyer HE, Bruhat A, Brum PC, Brumell JH, Brunetti-Pierri N, Bryson-Richardson RJ, Buch S, Buchan AM, Budak H, Bulavin DV, Bultman SJ, Bultynck G, Bumbasirevic V, Burelle Y, Burke RE, Burmeister M, Bütikofer P, Caberlotto L, Cadwell K, Cahova M, Cai D, Cai J, Cai Q, Calatayud S, Camougrand N, Campanella M, Campbell GR, Campbell M, Campello S, Candau R, Caniggia I, Cantoni L, Cao L, Caplan AB, Caraglia M, Cardinali C, Cardoso SM, Carew JS, Carleton LA, Carlin CR, Carloni S, Carlsson SR, Carmona-Gutierrez D, Carneiro LA, Carnevali O, Carra S, Carrier A, Carroll B, Casas C, Casas J, Cassinelli G, Castets P, Castro-Obregon S, Cavallini G, Ceccherini I, Cecconi F, Cederbaum AI, Ceña V, Cenci S, Cerella C, Cervia D, Cetrullo S, Chaachouay H, Chae HJ, Chagin AS, Chai CY, Chakrabarti G, Chamilos G, Chan EY, Chan MT, Chandra D, Chandra P, Chang CP, Chang RC, Chang TY, Chatham JC, Chatterjee S,

Chauhan S, Che Y, Cheetham ME, Cheluvappa R, Chen CJ, Chen G, Chen GC, Chen G, Chen H, Chen JW, Chen JK, Chen M, Chen M, Chen P, Chen Q, Chen Q, Chen SD, Chen S, Chen SS, Chen W, Chen WJ, Chen WQ, Chen W, Chen X, Chen YH, Chen YG, Chen Y, Chen Y, Chen Y, Chen YJ, Chen YQ, Chen Y, Chen Z, Chen Z, Cheng A, Cheng CH, Cheng H, Cheong H, Cherry S, Chesney J, Cheung CH, Chevet E, Chi HC, Chi SG, Chiacchiera F, Chiang HL, Chiarelli R, Chiariello M, Chieppa M, Chin LS, Chiong M, Chiu GN, Cho DH, Cho SG, Cho WC, Cho YY, Cho YS, Choi AM, Choi EJ, Choi EK, Choi J, Choi ME, Choi SI, Chou TF, Chouaib S, Choubey D, Choubey V, Chow KC, Chowdhury K, Chu CT, Chuang TH, Chun T, Chung H, Chung T, Chung YL, Chwae YJ, Cianfanelli V, Ciarcia R, Ciechomska IA, Ciriolo MR, Cirone M, Claerhout S, Clague MJ, Clària J, Clarke PG, Clarke R, Clementi E, Cleyrat C, Cnop M, Coccia EM, Cocco T, Codogno P, Coers J, Cohen EE, Colecchia D, Coletto L, Coll NS, Colucci-Guyon E, Comincini S, Condello M, Cook KL, Coombs GH, Cooper CD, Cooper JM, Coppens I, Corasaniti MT, Corazzari M, Corbalan R, Corcelle-Termeau E, Cordero MD, Corral-Ramos C, Corti O, Cossarizza A, Costelli P, Costes S, Cotman SL, Coto-Montes A, Cottet S, Couve E, Covey LR, Cowart LA, Cox JS, Coxon FP, Coyne CB, Cragg MS, Craven RJ, Crepaldi T, Crespo JL, Criollo A, Crippa V, Cruz MT, Cuervo AM, Cueva JM, Cui T, Cutillas PR, Czaja MJ, Czyzyk-Krzeska MF, Dagda RK, Dahmen U, Dai C, Dai W, Dai Y, Dalby KN, Dalla Valle L, Dalmasso G, D'Amelio M, Damme M, Darfeuille-Michaud A, Dargemont C, Darley-Usmar VM, Dasarathy S, Dasgupta B, Dash S, Dass CR, Davey HM, Davids LM, Dávila D, Davis RJ, Dawson TM, Dawson VL, Daza P, de Belleruche J, de Figueiredo P, de Figueiredo RC, de la Fuente J, De Martino L, De Matteis A, De Meyer GR, De Milito A, De Santi M, de Souza W, De Tata V, De Zio D, Debnath J, Dechant R, Decuypere JP, Deegan S, Dehay B, Del Bello B, Del Re DP, Delage-Mourroux R, Delbridge LM, Deldicque L, Delorme-Axford E, Deng Y, Dengjel J, Denizot M, Dent P, Der CJ, Deretic V, Derrien B, Deutsch E, Devarenne TP, Devenish RJ, Di Bartolomeo S, Di Daniele N, Di Domenico F, Di Nardo A, Di Paola S, Di Pietro A, Di Renzo L, DiAntonio A, Díaz-Araya G, Díaz-Laviada I, Diaz-Meco MT, Diaz-Nido J, Dickey CA, Dickson RC, Diederich M, Digard P, Dikic I, Dinesh-Kumar SP, Ding C, Ding WX, Ding Z, Dini L, Distler JH, Diwan A, Djavaheri-Mergny M, Dmytruk K, Dobson RC, Doetsch V, Dokladny K, Dokudovskaya S, Donadelli M, Dong XC, Dong X, Dong Z, Donohue TM Jr, Doran KS, D'Orazi G, Dorn GW 2nd, Dosenko V, Dridi S, Drucker L, Du J, Du LL, Du L, du Toit A, Dua P, Duan L, Duann P, Dubey VK, Duchon MR, Duchosal MA, Duez H, Dugail I, Dumit VI, Duncan MC, Dunlop EA, Dunn WA Jr, Dupont N, Dupuis L, Durán RV, Durcan TM, Duvezin-Caubet S, Duwuri U, Eapen V, Ebrahimi-Fakhari D, Echard A, Eckhart L, Edelstein CL, Edinger AL, Eichinger L, Eisenberg T, Eisenberg-Lerner A, Eissa NT, El-Deiry WS, El-Khoury V, Elazar Z, Eldar-Finkelman H, Elliott CJ, Emanuele E, Emmenegger U, Engedal N, Engelbrecht AM, Engelender S, Enserink JM, Erdmann R, Erenpreisa J, Eri R, Eriksen JL, Erman A, Escalante R, Eskelinen EL, Espert L, Esteban-Martínez L, Evans TJ, Fabri M, Fabrias G, Fabrizi C, Facchiano A, Færgeman NJ, Faggioni A, Fairlie WD, Fan C, Fan D, Fan J, Fang S, Fanto M, Fanzani A, Farkas T, Faure M, Favier FB, Fearnhead H, Federici M, Fei E, Felizardo TC, Feng H, Feng Y, Feng Y, Ferguson TA, Fernández

ÁF, Fernandez-Barrena MG, Fernandez-Checa JC, Fernández-López A, Fernandez-Zapico ME, Feron O, Ferraro E, Ferreira-Halder CV, Fesus L, Feuer R, Fiesel FC, Filippi-Chiela EC, Filomeni G, Fimia GM, Fingert JH, Finkbeiner S, Finkel T, Fiorito F, Fisher PB, Flajolet M, Flamigni F, Florey O, Florio S, Floto RA, Folini M, Follo C, Fon EA, Fornai F, Fortunato F, Fraldi A, Franco R, Francois A, François A, Frankel LB, Fraser ID, Frey N, Freyssenet DG, Frezza C, Friedman SL, Frigo DE, Fu D, Fuentes JM, Fueyo J, Fujitani Y, Fujiwara Y, Fujiya M, Fukuda M, Fulda S, Fusco C, Gabryel B, Gaestel M, Gailly P, Gajewska M, Galadari S, Galili G, Galindo I, Galindo MF, Galliciotti G, Galluzzi L, Galluzzi L, Galy V, Gammoh N, Gandy S, Ganesan AK, Ganesan S, Ganley IG, Gannagé M, Gao FB, Gao F, Gao JX, García Nannig L, García Vescovi E, Garcia-Macía M, Garcia-Ruiz C, Garg AD, Garg PK, Gargini R, Gassen NC, Gatica D, Gatti E, Gavard J, Gavathiotis E, Ge L, Ge P, Ge S, Gean PW, Gelmetti V, Genazzani AA, Geng J, Genschik P, Gerner L, Gestwicki JE, Gewirtz DA, Ghavami S, Ghigo E, Ghosh D, Giammarioli AM, Giampieri F, Giampietri C, Giatromanolaki A, Gibbings DJ, Gibellini L, Gibson SB, Ginet V, Giordano A, Giorgini F, Giovannetti E, Girardin SE, Gispert S, Giuliano S, Gladson CL, Glavic A, Gleave M, Godefroy N, Gogal RM Jr, Gokulan K,

Goldman GH, Goletti D, Goligorsky MS, Gomes AV, Gomes LC, Gomez H, Gomez-Manzano C, Gómez-Sánchez R, Gonçalves DA, Goncu E, Gong Q, Gongora C, Gonzalez CB, Gonzalez-Alegre P, Gonzalez-Cabo P, González-Polo RA, Goping IS, Gorbea C, Gorbunov NV, Goring DR, Gorman AM, Gorski SM, Goruppi S, Goto-Yamada S, Gotor C, Gottlieb RA, Gozes I, Gozuacik D, Graba Y, Graef M, Granato GE, Grant GD, Grant S, Gravina GL, Green DR, Greenhough A, Greenwood MT, Grimaldi B, Gros F, Grose C, Groulx JF, Gruber F, Grumati P, Grune T, Guan JL, Guan KL, Guerra B, Guillen C, Gulshan K, Gunst J, Guo C, Guo L, Guo M, Guo W, Guo XG, Gust AA, Gustafsson ÅB, Gutierrez E, Gutierrez MG, Gwak HS, Haas A, Haber JE, Hadano S, Hagedorn M, Hahn DR, Halayko AJ, Hamacher-Brady A, Hamada K, Hamai A, Hamann A, Hamasaki M, Hamer I, Hamid Q, Hammond EM, Han F, Han W, Handa JT, Hanover JA, Hansen M, Harada M, Harhaji-Trajkovic L, Harper JW, Harrath AH, Harris AL, Harris J, Hasler U, Hasselblatt P, Hasui K, Hawley RG, Hawley TS, He C, He CY, He F, He G, He RR, He XH, He YW, He YY, Heath JK, Hébert MJ, Heinzen RA, Helgason GV, Hensel M, Henske EP, Her C, Herman PK, Hernández A, Hernandez C, Hernández-Tiedra S, Hetz C, Hiesinger PR, Higaki K, Hilfiker S, Hill BG, Hill JA, Hill WD, Hino K, Hofius D, Hofman P, Höglinger GU, Höhfeld J, Holz MK, Hong Y, Hood DA, Hoozemans JJ, Hoppe T, Hsu C, Hsu CY, Hsu LC, Hu D, Hu G, Hu HM, Hu H, Hu MC, Hu YC, Hu ZW, Hua F, Hua Y, Huang C, Huang HL, Huang KH, Huang KY, Huang S, Huang S, Huang WP, Huang YR, Huang Y, Huang Y, Huber TB, Huebbe P, Huh WK, Hulmi JJ, Hur GM, Hurley JH, Husak Z, Hussain SN, Hussain S, Hwang JJ, Hwang S, Hwang TI, Ichihara A, Imai Y, Imbriano C, Inomata M, Into T, Iovane V, Iovanna JL, Iozzo RV, Ip NY, Irazoqui JE, Iribarren P, Isaka Y, Isakovic AJ, Ischiropoulos H, Isenberg JS, Ishaq M, Ishida H, Ishii I, Ishmael JE, Isidoro C, Isobe KI, Isono E, Issazadeh-Navikas S, Itahana K, Itakura E, Ivanov AI, Iyer AK, Izquierdo JM, Izumi Y, Izzo V, Jäättelä M, Jaber N, Jackson DJ, Jackson WT, Jacob TG, Jacques TS, Jagannath C, Jain A, Jana NR, Jang BK, Jani A, Janji B, Jannig PR, Jansson PJ, Jean S, Jendrach M, Jeon JH, Jessen N, Jeung EB, Jia K, Jia L, Jiang H, Jiang H, Jiang L, Jiang T, Jiang X, Jiang X, Jiang X, Jiang Y, Jiang Y, Jiménez A, Jin C, Jin H, Jin L, Jin M, Jin S, Jinwal UK, Jo EK, Johansen T, Johnson DE, Johnson GV, Johnson JD, Jonasch E, Jones C, Joosten LA, Jordan J, Joseph AM, Joseph B, Joubert AM, Ju D, Ju J, Juan HF, Juenemann K, Juhász G, Jung HS, Jung JU, Jung YK, Jungbluth H, Justice MJ, Jutten B, Kaakoush NO, Kaarniranta K, Kaasik A, Kabuta T, Kaeffer B, Kågedal K, Kahana A, Kajimura S, Kakhlon O, Kalia M, Kalvakolanu DV, Kamada Y, Kambas K, Kaminsky VO, Kampinga HH, Kandouz M, Kang C, Kang R, Kang TC, Kanki T, Kanneganti TD, Kanno H, Kanthasamy AG, Kantorow M, Kaparakis-Liaskos M, Kapuy O, Karantza V, Karim MR, Karmakar P, Kaser A, Kaushik S, Kawula T, Kaynar AM, Ke PY, Ke ZJ, Kehrl JH, Keller KE, Kemper JK, Kenworthy AK, Kepp O, Kern A, Kesari S, Kessel D, Ketteler R, Kettelhut ID, Khambu B, Khan MM, Khandelwal VK, Khare S, Kiang JG, Kiger AA, Kihara A, Kim AL, Kim CH, Kim DR, Kim DH, Kim EK, Kim HY, Kim HR, Kim JS, Kim JH, Kim JC, Kim JH, Kim KW, Kim MD, Kim MM, Kim PK, Kim SW, Kim SY, Kim YS, Kim Y, Kimchi A, Kimmelman AC, Kimura T, King JS, Kirkegaard K, Kirkin V, Kirshenbaum LA, Kishi S, Kitajima Y, Kitamoto K, Kitaoka Y, Kitazato K, Kley RA, Klimecki WT, Klinkenberg M, Klucken J, Knævelsrud H, Knecht E, Knuppertz L, Ko JL, Kobayashi S, Koch JC, Koechlin-Ramonatxo C, Koenig U, Koh YH, Köhler K, Kohlwein SD, Koike M, Komatsu M, Kominami E, Kong D, Kong HJ, Konstantakou EG, Kopp BT, Korcsmaros T, Korhonen L, Korolchuk VI, Koshkina NV, Kou Y, Koukourakis MI, Koumenis C, Kovács AL, Kovács T, Kovacs WJ, Koya D, Kraft C, Krainc D, Kramer H, Kravic-Stevovic T, Krek W, Kretz-Remy C, Krick R, Krishnamurthy M, Kriston-Vizi J, Kroemer G, Kruer MC, Kruger R, Ktistakis NT, Kuchitsu K, Kuhn C, Kumar AP, Kumar A, Kumar A, Kumar D, Kumar D, Kumar R, Kumar S, Kundu M, Kung HJ, Kuno A, Kuo SH, Kuret J, Kurz T, Kwok T, Kwon TK, Kwon YT, Kymizi I, La Spada AR, Lafont F, Lahm T, Lakkaraju A, Lam T, Lamark T, Lancel S, Landowski TH, Lane DJ, Lane JD, Lanzi C, Lapaquette P, Lapierre LR, Laporte J, Laukkarinen J, Laurie GW, Lavandero S, Lavie L, LaVoie MJ, Law BY, Law HK, Law KB, Layfield R, Lazo PA, Le Cam L, Le Roch KG, Le Stunff H, Leardkamolkarn V, Lecuit M, Lee BH, Lee CH, Lee EF, Lee GM, Lee HJ, Lee H, Lee JK, Lee J, Lee JH, Lee JH, Lee M, Lee MS, Lee PJ, Lee SW, Lee SJ, Lee SJ, Lee SY, Lee SH, Lee SS, Lee SJ, Lee S, Lee YR, Lee YJ, Lee YH, Leeuwenburgh C, Lefort S, Legouis R, Lei J, Lei QY, Leib DA, Leibowitz G, Lekli I, Lemaire SD, Lemasters JJ, Lemberg MK, Lemoine A, Leng S, Lenz

G, Lenzi P, Lerman LO, Lettieri Barbato D, Leu JI, Leung HY, Levine B, Lewis PA, Lezoualc'h F, Li C, Li F, Li FJ, Li J, Li K, Li L, Li M, Li M, Li Q, Li R, Li S, Li W, Li W, Li X, Li Y, Lian J, Liang C, Liang Q, Liao Y, Liberal J, Liberski PP, Lie P, Lieberman AP, Lim HJ, Lim KL, Lim K, Lima RT, Lin CS, Lin CF, Lin F, Lin F, Lin FC, Lin K, Lin KH, Lin PH, Lin T, Lin WW, Lin YS, Lin Y, Linden R, Lindholm D, Lindqvist LM, Lingor P, Linkermann A, Liotta LA, Lipinski MM, Lira VA, Lisanti MP, Liton PB, Liu B, Liu C, Liu CF, Liu F, Liu HJ, Liu J, Liu JJ, Liu JL, Liu K, Liu L, Liu L, Liu Q, Liu RY, Liu S, Liu S, Liu W, Liu XD, Liu X, Liu XH, Liu X, Liu X, Liu X, Liu Y, Liu Y, Liu Z, Liu Z, Liuzzi JP, Lizard G, Ljujic M, Lodhi IJ, Logue SE, Lokeshwar BL, Long YC, Lonial S, Loos B, López-Otín C, López-Vicario C, Lorente M, Lorenzi PL, Lőrincz P, Los M, Lotze MT, Lovat PE, Lu B, Lu B, Lu J, Lu Q, Lu SM, Lu S, Lu Y, Luciano F, Luckhart S, Lucocq JM, Ludovico P, Lugea A, Lukacs NW, Lum JJ, Lund AH, Luo H, Luo J, Luo S, Luparello C, Lyons T, Ma J, Ma Y, Ma Y, Ma Z, Machado J, Machado-Santelli GM, Macian F, MacIntosh GC, MacKeigan JP, Macleod KF, MacMicking JD, MacMillan-Crow LA, Madeo F, Madesh M, Madrigal-Matute J, Maeda A, Maeda T, Maegawa G, Maellaro E, Maes H, Magariños M, Maiese K, Maiti TK, Maiuri L, Maiuri MC, Maki CG, Malli R, Malorni W, Maloyan A, Mami-Chouaib F, Man N, Mancias JD, Mandelkow EM, Mandell MA, Manfredi AA, Manié SN, Manzoni C, Mao K, Mao Z, Mao ZW, Marambaud P, Marconi AM, Marelja Z, Marfe G, Margeta M, Margittai E, Mari M, Mariani FV, Marin C, Marinelli S, Mariño G, Markovic I, Marquez R, Martelli AM, Martens S, Martin KR, Martin SJ, Martin S, Martin-Acebes MA, Martín-Sanz P, Martinand-Mari C, Martinet W, Martinez J, Martinez-Lopez N, Martinez-Outschoorn U, Martínez-Velázquez M, Martinez-Vicente M, Martins WK, Mashima H, Mastrianni JA, Matarese G, Matarrese P, Mateo R, Matoba S, Matsumoto N, Matsushita T, Matsuura A, Matsuzawa T, Mattson MP, Matus S, Maugeri N, Mauvezin C, Mayer A, Maysinger D, Mazzolini GD, McBrayer MK, McCall K, McCormick C, McInerney GM, McIver SC, McKenna S, McMahan JJ, McNeish IA, Mechta-Grigoriou F, Medema JP, Medina DL, Megyeri K, Mehrpour M, Mehta JL, Mei Y, Meier UC, Meijer AJ, Meléndez A, Melino G, Melino S, de Melo EJ, Mena MA, Meneghini MD, Menendez JA, Menezes R, Meng L, Meng LH, Meng S, Menghini R, Menko AS, Menna-Barreto RF, Menon MB, Meraz-Ríos MA, Merla G, Merlini L, Merlot AM, Meryk A, Meschini S, Meyer JN, Mi MT, Miao CY, Micale L, Michaeli S, Michiels C, Migliaccio AR, Mihailidou AS, Mijaljica D, Mikoshiba K, Milan E, Miller-Fleming L, Mills GB, Mills IG, Minakaki G, Minassian BA, Ming XF, Minibayeva F, Minina EA, Mintern JD, Minucci S, Miranda-Vizuete A, Mitchell CH, Miyamoto S, Miyazawa K, Mizushima N, Mnich K, Mograbi B, Mohseni S, Moita LF, Molinari M, Molinari M, Møller AB, Mollereau B, Mollinedo F, Mongillo M, Monick MM, Montagnaro S, Montell C, Moore DJ, Moore MN, Mora-Rodriguez R, Moreira PI, Morel E, Morelli MB, Moreno S, Morgan MJ, Moris A, Moriyasu Y, Morrison JL, Morrison LA, Morselli E, Moscat J, Moseley PL, Mostowy S, Motori E, Mottet D, Mottram JC, Moussa CE, Mpakou VE, Mukhtar H, Mulcahy Levy JM, Muller S, Muñoz-Moreno R, Muñoz-Pinedo C, Münz C, Murphy ME, Murray JT, Murthy A, Mysorekar IU, Nabi IR, Nabissi M, Nader GA, Nagahara Y, Nagai Y, Nagata K, Nagelkerke A, Nagy P, Naidu SR, Nair S, Nakano H, Nakatogawa H, Nanjundan M, Napolitano G, Naqvi NI, Nardacci R, Narendra DP, Narita M, Nascimbeni AC, Natarajan R, Navegantes LC, Nawrocki ST, Nazarko TY, Nazarko VY, Neill T, Neri LM, Netea MG, Netea-Maier RT, Neves BM, Ney PA, Nezis IP, Nguyen HT, Nguyen HP, Nicot AS, Nilsen H, Nilsson P, Nishimura M, Nishino I, Niso-Santano M, Niu H, Nixon RA, Njar VC, Noda T, Noegel AA, Nolte EM, Norberg E, Norga KK, Noureini SK, Notomi S, Notterpek L, Nowikovsky K, Nukina N, Nürnberger T, O'Donnell VB, O'Donovan T, O'Dwyer PJ, Oehme I, Oeste CL, Ogawa M, Ogretmen B, Ogura Y, Oh YJ, Ohmuraya M, Ohshima T, Ojha R, Okamoto K, Okazaki T, Oliver FJ, Ollinger K, Olsson S, Orban DP, Ordonez P, Orhon I, Orosz L, O'Rourke EJ, Orozco H, Ortega AL, Ortona E, Osellame LD, Oshima J, Oshima S, Osiewacz HD, Otomo T, Otsu K, Ou JJ, Outeiro TF, Ouyang DY, Ouyang H, Overholtzer M, Ozburn MA, Ozdinler PH, Ozpolat B, Pacelli C, Paganetti P, Page G, Pages G, Pagnini U, Pajak B, Pak SC, Pakos-Zebrucka K, Pakpour N, Palková Z, Palladino F, Pallauf K, Pallet N, Palmieri M, Paludan SR, Palumbo C, Palumbo S, Pampiega O, Pan H, Pan W, Panaretakis T, Pandey A, Pantazopoulou A, Papackova Z, Papademetrio DL, Papassideri I, Papini A, Parajuli N, Pardo J, Parekh VV, Parenti G, Park JI, Park J, Park OK, Parker R, Parlato R, Parys JB, Parzych KR, Pasquet JM, Pasquier B, Pasumarthi KB, Patschan D, Patterson C, Pattingre S, Pattison S, Pause A, Paven-

städt H, Pavone F, Pedrozo Z, Peña FJ, Peñalva MA, Pende M, Peng J, Penna F, Penninger JM, Pensalfini A, Pepe S, Pereira GJ, Pereira PC, Pérez-de la Cruz V, Pérez-Pérez ME, Pérez-Rodríguez D, Pérez-Sala D, Perier C, Perl A, Perlmutter DH, Perrotta I, Pervaiz S, Pesonen M, Pessin JE, Peters GJ, Petersen M, Petrache I, Petrof BJ, Petrovski G, Phang JM, Piacentini M, Pierdominici M, Pierre P, Pierrefite-Carle V, Pietrocola F, Pimentel-Muiños FX, Pinar M, Pineda B, Pinkas-Kramarski R, Pinti M, Pinton P, Piperdi B, Piret JM, Plataniias LC, Platta HW, Plowey ED, Pöggeler S, Poirot M, Polčić P, Poletti A, Poon AH, Popelka H, Popova B, Poprawa I, Poulouse SM, Poulton J, Powers SK, Powers T, Pozuelo-Rubio M, Prak K, Prange R, Prescott M, Priault M, Prince S, Proia RL, Proikas-Cezanne T, Prokisch H, Promponas VJ, Przyklenk K, Puertollano R, Pugazhenth S, Puggielli L, Pujol A, Puyal J, Pyeon D, Qi X, Qian WB, Qin ZH, Qiu Y, Qu Z, Quadrilatero J, Quinn F, Raben N, Rabinowich H, Radogna F, Ragusa MJ, Rahmani M, Raina K, Ramanadham S, Ramesh R, Rami A, Randall-Demllo S, Randow F, Rao H, Rao VA, Rasmussen BB, Rasse TM, Ratovitski EA, Rautou PE, Ray SK, Razani B, Reed BH, Reggiori F, Rehm M, Reichert AS, Rein T, Reiner DJ, Reits E, Ren J, Ren X, Renna M, Reusch JE, Revuelta JL, Reyes L, Rezaie AR, Richards RI, Richardson DR, Richetta C, Riehle MA, Rihn BH, Rikihisa Y, Riley BE, Rimbach G, Rippo MR, Ritis K, Rizzi F, Rizzo E, Roach PJ, Robbins J, Roberge M, Roca G, Roccheri MC, Rocha S, Rodrigues CM, Rodríguez CI, de Cordoba SR, Rodríguez-Muela N, Roelofs J, Rogov VV, Rohn TT, Rohrer B, Romanelli D, Romani L, Romano PS, Roncero MI, Rosa JL, Rosello A, Rosen KV, Rosenstiel P, Rost-Roszkowska M, Roth KA, Roué G, Rouis M, Rouschop KM, Ruan DT, Ruano D, Rubinsztein DC, Rucker EB 3rd, Rudich A, Rudolf E, Rudolf R, Ruegg MA, Ruiz-Roldan C, Ruparelia AA, Rumsini P, Russ DW, Russo GL, Russo G, Russo R, Rusten TE, Ryabovol V, Ryan KM, Ryter SW, Sabatini DM, Sacher M, Sachse C, Sack MN, Sadoshima J, Saftig P, Sagi-Eisenberg R, Sahni S, Saikumar P, Saito T, Saitoh T, Sakakura K, Sakoh-Nakatogawa M, Sakuraba Y, Salazar-Roa M, Salomoni P, Saluja AK, Salvaterra PM, Salvioli R, Samali A, Sanchez AM, Sánchez-Acázar JA, Sanchez-Prieto R, Sandri M, Sanjuan MA, Santaguida S, Santambrogio L, Santoni G, Dos Santos CN, Saran S, Sardiello M, Sargent G, Sarkar P, Sarkar S, Sarrias MR, Sarwal MM, Sasakawa C, Sasaki M, Sass M, Sato K, Sato M, Satriano J, Savaraj N, Saveljeva S, Schaefer L, Schaible UE, Scharl M, Schatzl HM, Schekman R, Scheper W, Schiavi A, Schipper HM, Schmeisser H, Schmidt J, Schmitz I, Schneider BE, Schneider EM, Schneider JL, Schon EA, Schönenberger MJ, Schöenthal AH, Schorderet DF, Schröder B, Schuck S, Schulze RJ, Schwarten M, Schwarz TL, Sciarretta S, Scotto K, Scovassi AI, Screatton RA, Screen M, Seca H, Sedej S, Segatori L, Segev N, Seglen PO, Seguí-Simarro JM, Segura-Aguilar J, Seki E, Sell C, Selliez I, Semenkovich CF, Semenza GL, Sen U, Serra AL, Serrano-Puebla A, Sesaki H, Setoguchi T, Settembre C, Shacka JJ, Shajahan-Haq AN, Shapiro IM, Sharma S, She H, Shen CJ, Shen CC, Shen HM, Shen S, Shen W, Sheng R, Sheng X, Sheng ZH, Shepherd TG, Shi J, Shi Q, Shi Q, Shi Y, Shibutani S, Shibuya K, Shidoji Y, Shieh JJ, Shih CM, Shimada Y, Shimizu S, Shin DW, Shinohara ML, Shintani M, Shintani T, Shioi T, Shirabe K, Shiri-Sverdlov R, Shirihi O, Shore GC, Shu CW, Shukla D, Sibirny AA, Sica V, Sigurdson CJ, Sigurdsson EM, Sijwali PS, Sikorska B, Silveira WA, Silvente-Poirot S, Silverman GA, Simak J, Simmet T, Simon AK, Simon HU, Simone C, Simons M, Simonsen A, Singh R, Singh SV, Singh SK, Sinha D, Sinha S, Sinicrope FA, Sirko A, Sirohi K, Sishi BJ, Sittler A, Siu PM, Sivridis E, Skwarska A, Slack R, Slaninová I, Slavov N, Smaili SS, Smalley KS, Smith DR, Soenen SJ, Soleimanpour SA, Solhaug A, Somasundaram K, Son JH, Sonawane A, Song C, Song F, Song HK, Song JX, Song W, Soo KY, Sood AK, Soong TW, Soon-tornniyomkij V, Sorice M, Sotgia F, Soto-Pantoja DR, Sotthibundhu A, Sousa MJ, Spaink HP, Span PN, Spang A, Sparks JD, Speck PG, Spector SA, Spies CD, Springer W, Clair DS, Stacchiotti A, Staels B, Stang MT, Starczynyowski DT, Starokadomskyy P, Steegborn C, Steele JW, Stefanis L, Steffan J, Stellrecht CM, Stenmark H, Stepkowski TM, Stern ST, Stevens C, Stockwell BR, Stoka V, Storchova Z, Stork B, Stratoulas V, Stravopodis DJ, Strnad P, Strohecker AM, Ström AL, Stromhaug P, Stulik J, Su YX, Su Z, Subauste CS, Subramaniam S, Sue CM, Suh SW, Sui X, Sukserree S, Sulzer D, Sun FL, Sun J, Sun J, Sun SY, Sun Y, Sun Y, Sun Y, Sundaramoorthy V, Sung J, Suzuki H, Suzuki K, Suzuki N, Suzuki T, Suzuki YJ, Swanson MS, Swanton C, Swärd K, Swarup G, Sweeney ST, Sylvester PW, Szatmari Z, Szegezdi E, Szlosarek PW, Taegtmeier H, Tafani

M, Taillebourg E, Tait SW, Takacs-Vellai K, Takahashi Y, Takáts S, Takemura G, Takigawa N, Talbot NJ, Tamagno E, Tamburini J, Tan CP, Tan L, Tan ML, Tan M, Tan YJ, Tanaka K, Tanaka M, Tang D, Tang D, Tang G, Tanida I, Tanji K, Tannous BA, Tapia JA, Tasset-Cuevas I, Tatar M, Tavassoly I, Tavernarakis N, Taylor A, Taylor GS, Taylor GA, Taylor JP, Taylor MJ, Tchetina EV, Tee AR, Teixeira-Clerc F, Telang S, Tencomnao T, Teng BB, Teng RJ, Terro F, Tettamanti G, Theiss AL, Theron AE, Thomas KJ, Thomé MP, Thomes PG, Thorburn A, Thorner J, Thum T, Thumm M, Thurston TL, Tian L, Till A, Ting JP, Titorenko VI, Toker L, Toldo S, Tooze SA, Topisirovic I, Torgersen ML, Torosantucci L, Torriglia A, Torrisi MR, Tournier C, Towns R, Trajkovic V, Travassos LH, Triola G, Tripathi DN, Trisciuglio D, Troncoso R, Trougakos IP, Truttmann AC, Tsai KJ, Tschan MP, Tseng YH, Tsukuba T, Tsung A, Tsvetkov AS, Tu S, Tuan HY, Tucci M, Tumbarello DA, Turk B, Turk V, Turner RF, Tveita AA, Tyagi SC, Ubukata M, Uchiyama Y, Udelnow A, Ueno T, Umekawa M, Umemiya-Shirafuji R, Underwood BR, Ungermann C, Ureshino RP, Ushioda R, Uversky VN, Uzcátegui NL, Vaccari T, Vaccaro MI, Váchová L, Vakifahmetoglu-Norberg H, Valdor R, Valente EM, Vallette F, Valverde AM, Van den Berghe G, Van Den Bosch L, van den Brink GR, van der Goot FG, van der Klei IJ, van der Laan LJ, van Doorn WG, van Egmond M, van Golen KL, Van Kaer L, van Lookeren Campagne M, Vandenabeele P, Vandenberghe W, Vanhorebeek I, Varela-Nieto I, Vasconcelos MH, Vasko R, Vavvas DG, Vega-Naredo I, Velasco G, Velentzas AD, Velentzas PD, Vellai T, Vellenga E, Vendelbo MH, Venkatachalam K, Ventura N, Ventura S, Veras PS, Verdier M, Vertessy BG, Viale A, Vidal M, Vieira H, Vierstra RD, Vigneswaran N, Vij N, Vila M, Villar M, Villar VH, Villarroja J, Vindis C, Viola G, Viscomi MT, Vitale G, Vogl DT, Voitsekhovskaja OV, von Haefen C, von Schwarzenberg K, Voth DE, Vouret-Craviari V, Vuori K, Vyas JM, Waeber C, Walker CL, Walker MJ, Walter J, Wan L, Wan X, Wang B, Wang C, Wang CY, Wang C, Wang C, Wang C, Wang D, Wang F, Wang F, Wang G, Wang HJ, Wang H, Wang HG, Wang H, Wang HD, Wang J, Wang J, Wang M, Wang MQ, Wang PY, Wang P, Wang RC, Wang S, Wang TF, Wang X, Wang XJ, Wang XW, Wang X, Wang X, Wang Y, Wang Y, Wang Y, Wang YJ, Wang Y, Wang Y, Wang YT, Wang Y, Wang ZN, Wappner P, Ward C, Ward DM, Warnes G, Watada H, Watanabe Y, Watase K, Weaver TE, Weekes CD, Wei J, Weide T, Wehl CC, Weindl G, Weis SN, Wen L, Wen X, Wen Y, Westermann B, Weyand CM, White AR, White E, Whitton JL, Whitworth AJ, Wiels J, Wild F, Wildenberg ME, Wileman T, Wilkinson DS, Wilkinson S, Willbold D, Williams C, Williams K, Williamson PR, Winklhofer KF, Witkin SS, Wohlgemuth SE, Wollert T, Wolvetang EJ, Wong E, Wong GW, Wong RW, Wong VK, Woodcock EA, Wright KL, Wu C, Wu D, Wu GS, Wu J, Wu J, Wu M, Wu M, Wu S, Wu WK, Wu Y, Wu Z, Xavier CP, Xavier RJ, Xia GX, Xia T, Xia W, Xia Y, Xiao H, Xiao J, Xiao S, Xiao W, Xie CM, Xie Z, Xie Z, Xilouri M, Xiong Y, Xu C, Xu C, Xu F, Xu H, Xu H, Xu J, Xu J, Xu J, Xu L, Xu X, Xu Y, Xu Y, Xu ZX, Xu Z, Xue Y, Yamada T, Yamamoto A, Yamanaka K, Yamashina S, Yamashiro S, Yan B, Yan B, Yan X, Yan Z, Yanagi Y, Yang DS, Yang JM, Yang L, Yang M, Yang PM, Yang P, Yang Q, Yang W, Yang WY, Yang X, Yang Y, Yang Y, Yang Z, Yang Z, Yao MC, Yao PJ, Yao X, Yao Z, Yao Z, Yasui LS, Ye M, Yedvobnick B, Yeganeh B, Yeh ES, Yeyati PL, Yi F, Yi L, Yin XM, Yip CK, Yoo YM, Yoo YH, Yoon SY, Yoshida KI, Yoshimori T, Young KH, Yu H, Yu JJ, Yu JT, Yu J, Yu L, Yu WH, Yu XF, Yu Z, Yuan J, Yuan ZM, Yue BY, Yue J, Yue Z, Zacks DN, Zacksenhaus E, Zaffaroni N, Zaglia T, Zakeri Z, Zecchini V, Zeng J, Zeng M, Zeng Q, Zervos AS, Zhang DD, Zhang F, Zhang G, Zhang GC, Zhang H, Zhang H, Zhang H, Zhang H, Zhang J, Zhang J, Zhang J, Zhang J, Zhang JP, Zhang L, Zhang L, Zhang L, Zhang L, Zhang MY, Zhang X, Zhang XD, Zhang Y, Zhang Y, Zhang Y, Zhang Y, Zhang Y, Zhao M, Zhao WL, Zhao X, Zhao YG, Zhao Y, Zhao Y, Zhao YX, Zhao Z, Zhao ZJ, Zheng D, Zheng XL, Zheng X, Zhivotovsky B, Zhong Q, Zhou GZ, Zhou G, Zhou H, Zhou SF, Zhou XJ, Zhu H, Zhu H, Zhu WG, Zhu W, Zhu XF, Zhu Y, Zhuang SM, Zhuang X, Ziparo E, Zois CE, Zoladek T, Zong WX, Zorzano A, Zughai SM.

Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy*. 2016 Jan 2;12(1):1-222.

Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, Abedin MJ, Abeliovich H, Acevedo Arozena A, Adachi H, Adams CM, Adams PD, Adeli K, Adhietty PJ, Adler SG, Agam G, Agarwal R, Aghi MK, Agnello M, Agostinis P, Aguilar PV, Aguirre-Ghiso J, Airoidi EM, Ait-Si-Ali S, Akematsu T, Akporiaye ET, Al-Ru-

beai M, Albaiceta GM, Albanese C, Albani D, Albert ML, Aldudo J, Algül H, Alirezaei M, Alloza I, Almasan A, Almonte-Beceril M, Alnemri ES, Alonso C, Altan-Bonnet N, Altieri DC, Alvarez S, Alvarez-Erviti L, Alves S, Amadoro G, Amano A, Amantini C, Ambrosio S, Amelio Kotecha D, Manzano L, Krum H, Rosano G, Holmes J, Altman DG, Collins PD, Packer M, Wikstrand J, Coats AJ, Cleland JG, Kirchhof P, von Lueder TG, Rigby AS, Andersson B, Lip GY, van Veldhuisen DJ, Shibata MC, Wedel H, Böhm M, Flather MD.

Beta-Blockers in Heart Failure Collaborative Group. Effect of age and sex on efficacy and tolerability of β blockers in patients with heart failure with reduced ejection fraction: individual patient data meta-analysis.

BMJ. 2016 Apr 20;353:i1855.

Kristensen SL, Preiss D, Jhund PS, Squire I, Cardoso JS, Merkely B, Martinez F, Starling RC, Desai AS, Lefkowitz MP, Rizkala AR, Rouleau JL, Shi VC, Solomon SD, Swedberg K, Zile MR, McMurray JJ, Packer M; PARADIGM-HF Investigators and Committees.

Risk Related to Pre-Diabetes Mellitus and Diabetes Mellitus in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: Insights From Prospective Comparison of ARNI With ACEI to Determine Impact on Global Mortality and Morbidity in Heart Failure Trial.

Circ Heart Fail. 2016 Jan;9(1). pii: e002560.

Lainscak M, Vitale C.

Biological and chronological age in heart failure: role of immunosenescence.

J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2016 Dec;17(12):857-859.

Lainscak M, Vitale C, Seferovic P, Spoletini I, Cvan Trobec K, Rosano GM.

Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cardiovascular drugs in chronic heart failure.

Int J Cardiol. 2016 Dec 1;224:191-198.

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.

Lauro F, Giancotti LA, Ilari S, Dagostino C, Gliozzi M, Morabito C, Malafoglia V, Raffaeli W, Muraca M, Goffredo BM, Mollace V, Muscoli C.

Inhibition of Spinal Oxidative Stress by Bergamot Polyphenolic Fraction Attenuates the Development of Morphine Induced Tolerance and Hyperalgesia in Mice.

PLoS One. 2016 May 26;11(5):e0156039. eCollection 2016.

Lauro F, Ilari S, Giancotti LA, Ventura CA, Morabito C, Gliozzi M, Malafoglia V, Palma E, Paolino D, Mollace V, Muscoli C.

Pharmacological effect of a new idebenone formulation in a model of carrageenan-induced inflammatory pain.

Pharmacol Res. 2016 Sep;111:767-773.

Lopatin YM, Rosano GM, Fragasso G, Lopaschuk GD, Seferovic PM, Gowdak LH, Vinereanu D, Hamid MA, Jourdain P, Ponikowski P.

Rationale and benefits of trimetazidine by acting on cardiac metabolism in heart failure.

Int J Cardiol. 2016 Jan 15;203:909-915.

Lopatin YM, Vitale C.

Effect of ivabradine on central aortic blood pressure in patients with stable coronary artery disease:

What do we know?

Int J Cardiol. 2016 Dec 1;224:145-148.

Malafoglia V, Traversetti L, Del Grosso F, Scalici M, Lauro F, Russo V, Persichini T, Salvemini D, Mollace V, Fini M, Raffaelli W, Muscoli C, Colasanti M.

Transient Receptor Potential Melastatin-3 (TRPM3) Mediates Nociceptive-Like Responses in *Hydra vulgaris*.

PLoS One. 2016 Mar 14;11(3):e0151386. eCollection 2016.

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] doi:10.1016/j.ijcha.2015.01.004

Mammi C, Marzolla V, Armani A, Feraco A, Antelmi A, Maslak E, Chlopicki S, Cinti F, Hunt H, Fabbri A, Caprio M.

A novel combined glucocorticoid-mineralocorticoid receptor selective modulator markedly prevents weight gain and fat mass expansion in mice fed a high-fat diet.

Int J Obes (Lond). 2016 Jun;40(6):964-972.

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. 2016 Mar;18(3):314-325.

Marazzi G, Pelliccia F, Campolongo G, Cacciotti L, Massaro R, Poggi S, Tanzilli A, Di Iorio M, Volterrani M, Lainscak M, Rosano GM.

Greater cardiovascular risk reduction with once-daily fixed combination of three antihypertensive agents and statin versus free-drug combination: The ALL-IN-ONE trial.

Int J Cardiol. 2016 Nov 1;222:885-887.

Mascolo A, Sessa M, Scavone C, De Angelis A, Vitale C, Berrino L, Rossi F, Rosano G, Capuano A.

New and old roles of the peripheral and brain renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS): Focus on cardiovascular and neurological diseases.

Int J Cardiol. 2016 Oct 27. pii: S0167-5273(16)33231-4. [Epub ahead of print]

Matarrese P, Abbruzzese C, Mileo AM, Vona R, Ascione B, Visca P, Rollo F, Benevolo M, Malorni W, Paggi MG.

Interaction between the human papillomavirus 16 E7 oncoprotein and gelsolin ignites cancer cell motility and invasiveness.

Oncotarget. 2016 Apr 7;32: 50972-50985.

Molinari F, Malara N, Mollace V, Rosano G, Ferraro E.

Animal models of cardiac cachexia.

Int J Cardiol. 2016 May 31;219:105-110. [Epub ahead of print]

Musolino V, Palus S, Tschirner A, Drescher C, Gliozzi M, Carresi C, Vitale C, Muscoli C, Doehner W, von Haehling S, Anker SD, Mollace V, Springer J.

Megestrol acetate improves cardiac function in a model of cancer cachexia-induced cardiomyopa-

thy by autophagic modulation.

J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2016 Dec;7(5):555-566.

Pelliccia F, Rollini F, Marazzi G, Greco C, Gaudio C, Angiolillo DJ, Rosano G.

New oral anticoagulants and dual antiplatelet therapy: Focus on apixaban.

Int J Cardiol. 2016 Oct 3;225:154-158.

Pelliccia F, Rosano S, Marazzi G, Poggi S, Tanzilli A, Greco C, Gaudio C, Rosano G.

Efficacy and safety of novel anticoagulants versus vitamin K antagonists in patients with mild and moderate to severe renal insufficiency: Focus on apixaban.

Int J Cardiol. 2016 Oct 1;225:77-81.

Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GM, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P; Authors/Task Force Members.

2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC.

Eur Heart J. 2016 Jul 14;37(27):2129-2200.

Rizzo M, Rizvi AA, Patti AM, Nikolic D, Giglio RV, Castellino G, Li Volti G, Caprio M, Montalto G, Provenzano V, Genovese S, Ceriello A.

Liraglutide improves metabolic parameters and carotid intima-media thickness in diabetic patients with the metabolic syndrome: an 18-month prospective study.

Cardiovasc Diabetol. 2016 Dec 3;15(1):162.

Rosano GM.

Clinical Trial Design, Endpoints, and Regulatory Requirements.

Handb Exp Pharmacol. 2016 Oct 28. [Epub ahead of print]

Rosano GM, Vitale C, Volterrani M.

Pharmacological Management of Chronic Stable Angina: Focus on Ranolazine.

Cardiovasc Drugs Ther. 2016 Aug;30(4):393-398.

Savarese G, D'Amore C, Federici M, De Martino F, Dellegrottaglie S, Marciano C, Ferrazzano F, Losco T, Lund LH, Trimarco B, Rosano GM, Perrone-Filardi P.

Effects of Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibitors and Sodium-Glucose LinkedcoTransporter-2 Inhibitors on cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis.

Int J Cardiol. 2016 Jun 27;220:595-601.

Savarese G, Giugliano RP, Rosano GM, McMurray J, Magnani G, Filippatos G, Dellegrottaglie S, Lund LH, Trimarco B, Perrone-Filardi P.

Efficacy and Safety of Novel Oral Anticoagulants in Patients With Atrial Fibrillation and Heart Failure: A Meta-Analysis.

JACC Heart Fail. 2016 Nov;4(11):870-880.

Savarese G, Hage C, Orsini N, Dahlström U, Perrone-Filardi P, Rosano GMC, Lund LH.

Reductions in N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels are associated with lower mortality and heart failure hospitalization rates in patients with heart failure with mid-range and preserved ejection fraction.

Circ Heart Fail. 2016 Nov;9(11). pii: e003105.

Savarese G, Lund LH, Rosano GM.

Incretin-based therapy for type 2 diabetes: A real class effect?

Int J Cardiol. 2016 doi: 10.1016/j.ijcard.2016.11.018

Schmidt M, Lamberts M, Olsen AM, Fosbøll E, Niessner A, Tamargo J, Rosano G, Agewall S, Kaski JC, Kjeldsen K, Lewis BS, Torp-Pedersen C.

Cardiovascular safety of non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drugs: review and position paper by the working group for Cardiovascular Pharmacotherapy of the European Society of Cardiology.

Eur Heart J. 2016 Apr 1;37(13):1015-1023.

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):133-141.

Scuteri A, Di Daniele N.

Are Hemodynamic Factors Involved in Cognitive Impairment?

Hypertension. 2016 Jan;67(1):34-35.

Senni M, McMurray JJ, Wachter R, McIntyre HF, Reyes A, Majercak I, Andreka P, Shehova-Yankova N, Anand I, Yilmaz MB, Gogia H, Martinez-Selles M, Fischer S, Zilahi Z, Cosmi F, Gelev V, Galve E, Gómez-Doblas JJ, Nociar J, Radomska M, Sokolova B, Volterrani M, Sarkar A, Reimund B, Chen F, Charney A.

Initiating sacubitril/valsartan (LCZ696) in heart failure: results of TITRATION, a double-blind, randomized comparison of two uptitration regimens.

Eur J Heart Fail. 2016 Sep;18(9):1193-1202.

Vetrano DL, La Carpia D, Grande G, Casucci P, Bacelli T, Bernabei R, Onder G; Italian Group for Appropriate Drug Prescription in the Elderly (I-GrADE) (Bonassi S, Fini M, Vitale C) .

Anticholinergic Medication Burden and 5-Year Risk of Hospitalization and Death in Nursing Home Elderly Residents With Coronary Artery Disease.

J Am Med Dir Assoc. 2016 Nov 1;17(11):1056-1059.

Vitacca M, Scalvini S, Volterrani M, Paneroni M, Giordano A, Ambrosino N.

Physiological and symptom effects of changing posture from sitting to supine, and vice versa, in stable chronic heart failure.

Acta Cardiol. 2016;71(5):543-548.

Vitale C, Kaski JC.

Microvascular angina and systemic hypertension.

E-journal of Cardiology Practice. 2016; Vol.14, N° 2 - 26 Jan 2016

<http://www.escardio.org/Guidelines-&Education/Journals-and-publications/ESC-journals-family/E-journal-of-Cardiology-Practice/Volume-14/microvascular-angina-and-systemic-hypertension>

Vitale C, Mammi C, Gambacciani M, Russo N, Spoletini I, Fini M, Volterrani M, Rosano GM.

Effect of hormone replacement therapy with the anti-mineralocorticoid progestin Drospirenone compared to tibolone on endothelial function and central haemodynamics in post-menopausal

women.

Int J Cardiol. 2016 Nov 9. [Epub ahead of print]

Vitale C, Rosano GM, Kaski JC.

Role of Coronary Microvascular Dysfunction in Takotsubo Cardiomyopathy.

Circ J. 2016;80(2):299-305.

Vitale C, Rosano GM, Prasad K.

Need for streamlined use of DPP-4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes.

Cardiovasc Diabetol. 2016 Apr 2;15(1):55.

Vitiello L, Ferraro E, De Simone S, Gatta L, Feraco A, Racioppi L, Rosano G.

CXCL12 prolongs naive CD4+ T lymphocytes survival via activation of PKA, CREB and Bcl2 and BclXI up-regulation.

Int J Cardiol. 2016 Dec 1;224:206-212.

Volterrani M, Iellamo F.

Eplerenone in chronic heart failure with depressed systolic function.

Int J Cardiol. 2016 Dec 1;224:206-212.

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). 2016 Sep;17(9): 647-652.

Volterrani M, Iellamo F, Senni M, Piepoli MF.

Therapeutic options of Angiotensin Receptor Neprilysin inhibitors (ARNis) in chronic heart failure with reduced ejection fraction: Beyond RAAS and sympathetic nervous system inhibition.

Int J Cardiol. 2016 May 7. pii: S0167-5273(16)30876-2. [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 Malattie Cronico-Neurodegenerative

Aiello A, Bacci L, Re A, Ripoli C, Pierconti F, Pinto F, Masetti R, Grassi C, Gaetano C, Bassi PF, Pontecorvi A, Nanni S, Farsetti A.

MALAT1 and HOTAIR Long Non-Coding RNAs Play Opposite Role in Estrogen-Mediated Transcriptional Regulation in Prostate Cancer Cells.

Sci Rep. 2016 Dec 6;6:38414. doi: 10.1038/srep38414.

Ambrosi C, Aleandri M, Giordano A, Scribano D, Marazzato M, Zagaglia C, Conte MP, Palamara AT.

Molecular characterisation of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: First report of a new sequence type in Italy.

J Glob Antimicrob Resist. 2016 Nov 1;7:154-156.

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.

Oxid Med Cell Longev. 2016;2016:1746985. PubMed PMID: 26885246; PubMed Central PMCID: PMC4739232.

Di Pasquale P, Caterino M, Di Somma A, Squillace M, Rossi E, Landini P, Iebba V, Schippa S, Papa R, Selan L, Artini M, Palamara AT, Duilio A.

Exposure of *E. coli* to DNA-Methylating Agents Impairs Biofilm Formation and Invasion of Eukaryotic Cells via Down Regulation of the N-Acetylneuraminase Lyase NanA.

Front Microbiol. 2016 Feb 11;7:147. eCollection 2016.

Erratum in: Front Microbiol. 2016;7:383. Palamara, Annateresa. Front Microbiol. 2016;7:383. PubMed PMID: 26904018; PubMed Central PMCID: PMC4749703.

Fá M, Puzzo D, Piacentini R, Staniszewski A, Zhang H, Baltrons MA, Li Puma DD, Chatterjee I, Li J, Saeed F, Berman HL, Ripoli C, Gulisano W, Gonzalez J, Tian H, Costa JA, Lopez P, Davidowitz E, Yu WH, Haroutunian V, Brown LM, Palmeri A, Sigurdsson EM, Duff KE, Teich AF, Honig LS, Sierks M, Moe JG, D'Adamio L, Grassi C, Kanaan NM, Fraser PE, Arancio O.

Extracellular Tau Oligomers Produce An Immediate Impairment of LTP and Memory.

Sci Rep. 2016 Jan 20;6:19393.

Fusco S, Leone L, Barbati SA, Samengo D, Piacentini R, Maulucci G, Toietta G, Spinelli M, McBurney M, Pani G, Grassi C.

A CREB-Sirt1-Hes1 Circuitry Mediates Neural Stem Cell Response to Glucose Availability.

Cell Rep. 2016 Feb 9;14(5):1195-1205.

Iachininoto MG, Camisa V, Leone L, Pinto R, Lopresto V, Merla C, Giorda E, Carsetti R, Zaffina S, Podda MV, Teofili L, Grassi C.

Effects of exposure to gradient magnetic fields emitted by nuclear magnetic resonance devices on clonogenic potential and proliferation of human hematopoietic stem cells.

Bioelectromagnetics. 2016 May;37(4):201-211.

Itzhaki RF, Lathe R, Balin BJ, Ball MJ, Bearer EL, Braak H, Bullido MJ, Carter C, Clerici M, Cosby SL, Del Tredici K, Field H, Fulop T, Grassi C, Griffin WS, Haas J, Hudson AP, Kamer AR, Kell DB, Licastro F, Letenneur L, Lövheim H, Mancuso R, Miklossy J, Otth C, Palamara AT, Perry G, Preston C, Pretorius E, Strandberg T, Tabet N, Taylor-Robinson SD, Whittum-Hudson JA.

Microbes and Alzheimer's Disease.

J Alzheimers Dis. 2016 Mar 8;51(4):979-984.

Mandaliti W, Nepravishta R, Sinibaldi Vallebona P, Pica F, Garaci E, Paci M.

Thymosin α 1 Interacts with Exposed Phosphatidylserine in Membrane Models and in Cells and Uses Serum Albumin as a Carrier.

Biochemistry. 2016 Mar 15;55(10):1462-1472.

Nanni S, Re A, Ripoli C, Gowran A, Nigro P, D'Amario D, Amodeo A, Crea F, Grassi C, Pontecorvi A, Farsetti A, Colussi C.

The nuclear pore protein Nup153 associates with chromatin and regulates cardiac gene expression in dystrophic mdx hearts.

Cardiovasc Res [Internet]. 2016; 112(2):555-567.

Nepravishta R, Mandaliti W, Vallebona PS, Pica F, Garaci E, Paci M.

Mechanism of Action of Thymosin α 1: Does It Interact with Membrane by Recognition of Exposed Phosphatidylserine on Cell Surface? A Structural Approach.

Vitam Horm. 2016;102:101-119.

Panella S, Marcocci ME, Celestino I, Valente S, Zwergel C, Li Puma DD, Nencioni L, Mai A, Palamara AT, Simonetti G.

MC1568 inhibits HDAC6/8 activity and influenza A virus replication in lung epithelial cells: role of Hsp90 acetylation.

Future Med Chem. 2016 Oct 14.

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.

Pica F, Chimenti MS, Gaziano R, Buè C, Casalnuovo IA, Triggianese P, Conigliaro P, Di Carlo D, Cordero V, Adorno G, Volpi A, Perricone R, Garaci E.

Serum thymosin α 1 levels in patients with chronic inflammatory autoimmune diseases.

Clin Exp Immunol. 2016 Oct;186(1):39-45.

Podda MV, Cocco S, Mastrodonato A, Fusco S, Leone L, Barbati SA, Colussi C, Ripoli C, Grassi C.

Anodal transcranial direct current stimulation boosts synaptic plasticity and memory in mice via epigenetic regulation of Bdnf expression.

Sci Rep. 2016 Feb 24;6:22180.

Rodio DM, Anzivino E, Mischitelli M, Bellizzi A, Scrivo R, Scribano D, Conte G, Prezioso C, Trancassini M, Valesini G, Palamara AT, Pietropaolo V.

Increased Prevalence of Human Polyomavirus JC Viruria in Chronic Inflammatory Rheumatic Diseases Patients in Treatment with Anti-TNF α : A 18 Month Follow-Up Study.

Front Microbiol. 2016 May 10;7:672. eCollection 2016.

Laboratorio di Patologia Molecolare, Cellulare e Ultrastrutturale

Carnevale I, Pellegrini L, D'Aquila P, Saladini S, Lococo E, Polletta L, Vernucci E, Foglio E, Coppola S, Sansone L, Passarino G, Bellizzi D, Russo MA, Fini M, Tafani M.

SIRT1-SIRT3 Axis Regulates Cellular Response to Oxidative Stress and Etoposide.

J Cell Physiol. 2016 Dec 7. [Epub ahead of print]

Frustaci A, Letizia C, Verardo R, Grande C, Calvieri C, Russo MA, Chimenti C.

Atrogin-1 Pathway Activation in Cushing Syndrome Cardiomyopathy.

J Am Coll Cardiol. 2016 Jan 5;67(1):116-117.

Leone AM, D'Amario D, Teofili L, Basile E, Cannata F, Graziani F, Marzilli M, Russo MA, Tarantini G, Ceconi C, Leone G, Trani C, Rebuzzi AG, Crea F.

The combined effect of subcutaneous granulocyte- colony stimulating factor and myocardial contrast echocardiography with intravenous infusion of sulfur hexafluoride on post-infarction left ventricular function, the RIGENERA 2.0 trial: study protocol for a randomized controlled trial.

Trials. 2016 Feb 19;17(1):97.

Magrone T, Russo MA, Jirillo E.

Role of Immune Cells in the Course of Central Nervous System Injury: Modulation with Natural Products.

Curr Pharm Des. 2016;22(6):701-708.

Mari E, Mardente S, Morgante E, Tafani M, Lococo E, Fico F, Valentini F, Zicari A.
Graphene Oxide Nanoribbons Induce Autophagic Vacuoles in Neuroblastoma Cell Lines.
Int J Mol Sci. 2016 Nov 29;17(12).

Mariani S, Di Rocco G, Toietta G, Russo MA, Petrangeli E, Salvatori L.
Sirtuins 1-7 expression in human adipose-derived stem cells from subcutaneous and visceral fat depots: influence of obesity and hypoxia.
Endocrine. 2016 Nov 14. [Epub ahead of print]

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. 2016 Mar;23(3):668-679

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]

Ravenna L, Salvatori L, Russo MA.
HIF3 α : the little we know.
FEBS J. 2016 Mar;283(6):993-1003. [Epub ahead of print 2015 Oct 28]
Russo MA, Ravenna L, Pellegrini L, Petrangeli E, Salvatori L, Magrone T, Fini M, Tafani M.
Hypoxia and Inflammation in prostate cancer progression. Cross-talk with androgen and estrogen receptors and cancer stem cells.
Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2016 Nov 30. [Epub ahead of print]

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. 2016;2016:3907147.

Area di Ricerca Biomarkers and Advanced Biotechnologies

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. 2016 Feb;19(1):79-89.

Betsou F, Bulla A, Cho SY, Clements J, Chuaqui R, Coppola D, De Souza Y, De Wilde A, Grizzle W, Guadagni F, Gunter E, Heil S, Hodgkinson V, Kessler J, Kiehnopf M, Kim HS, Koppandi I, Shea K, Singh R, Sobel M, Somiari S, Spyropoulos D, Stone M, Tybring G, Valyi-Nagy K, Van den Eynden G, Wadhwa L.
Assays for Qualification and Quality Stratification of Clinical Biospecimens Used in Research: A Technical Report from the ISBER Biospecimen Science Working Group.
Biopreserv Biobank. 2016 Oct;14(5):398-409.

Capuani B, Pacifici F, Pastore D, Palmirotta R, Donadel G, Arriga R, Bellia A, di Daniele N, Rogliani

- P, Abete P, Sbraccia P, Guadagni F, Lauro D, Della-Morte D.
The Role of Epsilon PKC in Acute and Chronic Diseases: Possible Pharmacological Implications of its Modulators.
Pharmacol Res. 2016 Sep;111:659-67.
- Curcio F, Ferro G, Basile C, Liguori I, Parrella P, Pirozzi F, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Tocchetti CG, Bonaduce D, Abete P.
Biomarkers in sarcopenia: A multifactorial approach.
Exp Gerontol. 2016 Sep 12;85:1-8.
- 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.2016, Jan 26;7(4):4048-4061.
- Della-Morte D, Pacifici F, Rundek T.
Genetic susceptibility to cerebrovascular disease.
Curr Opin Lipidol. 2016 Apr;27(2):187-195.
- 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. 2016 Jun;28(3):407-412.
- 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.
- Dong C, Della-Morte D, Rundek T, Wright CB, Elkind MS, Sacco RL.
Evidence to Maintain the Systolic Blood Pressure Treatment Threshold at 140 mmHg for Stroke Prevention: The Northern Manhattan Study.
Hypertension. 2016 Mar;67(3):520-526.
- Ferroni P, Formica V, Della-Morte D, Lucchetti J, Spila A, D'Alessandro R, Riondino S, Guadagni F, Roselli M.
Prognostic value of glycated hemoglobin in colorectal cancer.
World J Gastroenterol. 2016 Dec 7;22(45):9984-9993.
- 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. 2016 Jan;115(1):143-151.
- Ferroni P, Riondino S, Guadagni F, Roselli M.
VEGF and VTE Risk in Cancer Patients-Letter.
Clin Cancer Res. 2016 Mar 1;22(5):1295.
- Ferroni P, Riondino S, Laudisi A, Portarena I, Formica V, Alessandrini J, D'Alessandro R, Orlandi A, Costarelli L, Cavaliere F, Guadagni F, Roselli M.
Pretreatment Insulin Levels as a Prognostic Factor for Breast Cancer Progression.
Oncologist. 2016 Sep;21(9):1041-1049

- Ferroni P, Roselli M, Riondino S, Cavaliere F, Guadagni F.
Insulin resistance as a predictor of venous thromboembolism in breast cancer.
Endocr Relat Cancer. 2016 Jun;23(6):L25-8.
- Ferroni P, Santilli F, Cavaliere F, Simeone P, Costarelli L, Liani R, Tripaldi R, Riondino S, Roselli M, Davi G, Guadagni F.
Oxidant stress as a major determinant of platelet activation in invasive breast cancer.
Int J Cancer. 2016 Oct 26. Epub 2016 Nov 7
- Formica V, Morelli C, Ferroni P, Nardecchia A, Tesauro M, Pellicori S, Cereda V, Russo A, Riondino S, Guadagni F, Roselli M.
Neutrophil/lymphocyte ratio helps select metastatic pancreatic cancer patients benefitting from oxaliplatin.
Cancer Biomark. 2016 Sep 26;17(3):335-345.
- Gaignaux A, Ashton G, Coppola D, De Souza Y, De Wilde A, Eliason J, Grizzle W, Guadagni F, Gunter E, Koppandi I, Shea K, Shi T, Stein JA, Sobel ME, Tybring G, Van den Eynden G, Betsou F.
A Biospecimen Proficiency Testing Program for Biobank Accreditation: Four Years of Experience.
Biopreserv Biobank. 2016 Oct;14(5):429-439.
- Hamilton DH, Roselli M, Ferroni P, Costarelli L, Cavaliere F, Taffuri M, Palena C, Guadagni F.
Brachyury, a vaccine target, is overexpressed in triple-negative breast cancer.
Endocr Relat Cancer. 2016 Oct;23(10):783-796.
- Khanna S, Thomas A, Abate-Daga D, Zhang J, Morrow B, Steinberg SM, Orlandi A, Ferroni P, Schlom J, Guadagni F, Hassan R.
Malignant Mesothelioma Effusions Are Infiltrated by CD3(+) T Cells Highly Expressing PD-L1 and the PD-L1(+) Tumor Cells within These Effusions Are Susceptible to ADCC by the Anti-PD-L1 Antibody Avelumab.
J Thorac Oncol. 2016 Nov;11(11):1993-2005.
- La Farina F, Raparelli V, Napoleone L, Guadagni F, Basili S, Ferroni P.
Inflammation and Thrombophilia in Pregnancy Complications: Implications for Risk Assessment and Clinical Management.
Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets. 2016;15(3):187-203.
- Palmirotta R, Cives M, Della-Morte D, Capuani B, Lauro D, Guadagni F, Silvestris F.
Sirtuins and Cancer: Role in the Epithelial-Mesenchymal Transition.
Oxid Med Cell Longev. 2016;2016:3031459. Epub 2016 Jun 9.
- Raparelli V, Basili S, Ferroni P.
Platelet Function: the Janus face of haemostasis in cirrhosis.
Thromb Res. 2015 Jun;135(6):1224-1225.
- Rizzo FM, Palmirotta R, Marzullo A, Resta N, Cives M, Tucci M, Silvestris F.
Parallelism of DOG1 expression with recurrence risk in gastrointestinal stromal tumors bearing KIT or PDGFRA mutations.
BMC Cancer. 2016 Feb 11;16(1):87.
- Roselli M, Ferroni P, Riondino S, Mariotti S, Portarena I, Alessandrini J, Ialongo C, Massoud R,

Costarelli L, Cavaliere F, Bernardini S, Guadagni F.
Functional impairment of activated protein C in breast cancer - relationship to survival outcomes.
Am J Cancer Res. 2016 Jun 1;6(6):1450-1457.

Roselli M, Formica V, Cereda V, Jochems C, Richards J, Grenga I, Orlandi A, Ferroni P, Guadagni F, Schlom J.

The association of clinical outcome and peripheral T-cell subsets in metastatic colorectal cancer patients receiving first-line FOLFIRI plus bevacizumab therapy.

Oncoimmunology. 2016 May 19;5(7):e1188243.

Tiozzo E, Gardener H, Hudson BI, Dong C, Della-Morte D, Crisby M, Goldberg RB, Elkind MS, Cheung YK, Wright CB, Sacco RL, Desvarieux M, Rundek T.

Subfractions of High-Density Lipoprotein-Cholesterol and Carotid Intima-Media Thickness: The Northern Manhattan Study.

Stroke. 2016 Jun;47(6):1508-1513.

Area Epidemiologia clinica e molecolare e Area di Broncopneumologia

Annangi B, Bonassi S, Marcos R, Hernández A.

Biomonitoring of humans exposed to arsenic, chromium, nickel, vanadium, and complex mixtures of metals by using the micronucleus test in lymphocytes.

Mutat Res. 2016 Oct - Dec;770(Pt A):140-161.

Atramont A, Guida F, Mattei F, Matrat M, Cenée S, Sanchez M, Carton M, Menvielle G, Marrer E, Neri M, Luce D, Stücker I; Icare study group.

Professional Cleaning Activities and Lung Cancer Risk Among Women: Results From the ICARE Study.

J Occup Environ Med. 2016 Jun;58(6):610-616.

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. 2016 Jun;45(3):835-845.

Bolognesi C, Knasmueller S, Nersesyan A, Roggieri P, Ceppi M, Bruzzone M, Blaszczyk E, Mielzynska-Svach D, Milic M, Bonassi S, Benedetti D, Da Silva J, Toledo R, Salvadori DM, de Restrepo HG, Filipic M, Hercog K, Aktaş A, Burgaz S, Kundi M, Grummt T, Thomas P, Hor M, Escudero-Fung M, Holland N, Fenech M.

Inter-laboratory consistency and variability in the buccal micronucleus cytome assay depends on biomarker scored and laboratory experience: results from the HUMNxl international inter-laboratory scoring exercise.

Mutagenesis. 2016 Sep 26. pii: gew047. [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* 2016, Jan;219(1):24-32.

Bonassi S, Milić M, Neri M.

Frequency of micronuclei and other biomarkers of DNA damage in populations exposed to dusts, asbestos and other fibers. A systematic review. *Mutat Res.* 2016 Oct - Dec;770(Pt A):106-118.

Chiappetta M, Rosella F, Dall'armi V, Pomes LM, Petracca Ciavarella L, Nachira D, Pirroni T, Margaritora S, Granone P.

CT-guided fine-needle ago-biopsy of pulmonary nodules: predictive factors for diagnosis and pneumothorax occurrence.

Radiol Med. 2016 Aug;121(8):635-643.

Costa S, Ceppi M, Costa C, Silva S, Pereira C, Laffon B, Bonassi S, Teixeira JP.

The cytokinesis-block micronucleus (CBMN) assay in human populations exposed to styrene: A systematic review and meta-analysis.

Mutat Res. 2016 Oct - Dec;770(Pt A):92-105.

Fenech M, Knasmueller S, Bolognesi C, Bonassi S, Holland N, Migliore L, Palitti F, Natarajan AT, Kirsch-Volders M.

Molecular mechanisms by which in vivo exposure to exogenous chemical genotoxic agents can lead to micronucleus formation in lymphocytes in vivo and ex vivo in humans.

Mutat Res. 2016 Oct - Dec;770(Pt A):12-25.

Fucic A, Bonassi S, Gundy S, Lazutka J, Sram R, Ceppi M, Lucas JN.

Frequency of Acentric Fragments Are Associated with Cancer Risk in Subjects Exposed to Ionizing Radiation.

Anticancer Res. 2016 May;36(5):2451-2457.

Lauretti S, Cardaci V, Barrese F, Calzetta L.

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and erectile dysfunction (ED): Results of the BRED observational study.

Arch Ital Urol Androl. 2016 Oct 5;88(3):165-170.

Lauretti S, Cardaci V, Barrese F, Calzetta L.

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and erectile dysfunction (ED): Results of the BRED observational study.

Arch Ital Urol Androl. 2016 Oct 5;88(3):165-170.

Lorenzi M, Lorenzi T, Marzetti E, Landi F, Vetrano DL, Settanni S, Antocicco M, Bonassi S, Valdiglesias V, Bernabei R, Onder G.

Association of frailty with the serine protease HtrA1 in older adults.

Exp Gerontol. 2016 Aug;81:8-12.

Nersesyan A, Fenech M, Bolognesi C, Mišik M, Setayesh T, Wulsch G, Bonassi S, Thomas P, Knasmüller S.

Use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay in occupational biomonitoring of genome damage caused by in vivo exposure to chemical genotoxins: Past, present and future.

Mutat Res. 2016 Oct - Dec;770(Pt A):1-11.

Paone G, Leone V, Conti V, De Marchis L, Ialleni E, Graziani C, Salducci M, Ramaccia M, Munafò

- G.
Blood and sputum biomarkers in COPD and asthma: a review.
Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2016;20(4):698-708.
- Rocco M, Prinzi G, Campagna E, Battaglia T, Barucco T, Polchi S, Kisialiou A, Colasanti M, Felli E, Lepiane P, Santoro R, Vennarecci G, Ettore GM.
Liver Transplantation and Abuse of Drugs and Alcohol: A Correlation Between Scales of the MMPI-2.
Transplant Proc. 2016 Mar;48(2):386-390.
- Rocco M, Prinzi G, Campagna E, Battaglia T, Barucco T, Polchi S, Kisialiou A, Colasanti M, Felli E, Lepiane P, Santoro R, Vennarecci G, Ettore GM.
La compliance nei pazienti in attesa di trapianto di fegato con storia di abuso di droghe e/o alcol.
Trapianti 2016;20(3):108-112.
- 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]
- 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.
J Vasc Surg Venous Lymphat Disord. 2016 Jan;4(1):64-72.
- 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. 2016 Mar;39(1):87-91.
- Cimolin V, Capodaglio P, Cau N, Galli M, Santovito C, Patrizi A, Tringali G, Sartorio A.
Computation of spatio-temporal parameters in level walking using a single inertial system in lean and obese adolescents.
Biomed Tech (Berl). 2016 Nov 29. [Epub ahead of print]
- Cimolin V, Cau N, Tacchini E, Galli M, Rigoldi C, Rinolfi M, Aspesi V, Capodaglio EM, Capodaglio P.
Spinal load in nurses during emergency lifting of obese patients: preliminary results.
Med Lav. 2016 Sep 26;107(5):356-363.
- de Almeida Carvalho Duarte N, Collange Grecco LA, Zanon N, Galli M, Fregni F, Santos Oliveira C.
Motor Cortex Plasticity in Children With Spastic Cerebral Palsy: A Systematic Review.
J Mot Behav. 2016 Oct 18:1-10. [Epub ahead of print]
- Fronczek-Wojciechowska M, Padula G, Kowalska J, Galli M, Livatino S, Kopacz K.
Static balance and dynamic balance related to rotational movement in ballet dance students.
International Journal of Performance Analysis in Sport. 2016;16(3):801-816.
- Galli M, Cimolin V, Rigoldi C, Albertini G.
Quantitative evaluation of the effects of ankle foot orthosis on gait in children with cerebral palsy using the gait profile score and gait variable scores.
Journal of Developmental and Physical Disabilities. 2016;28:367-379.

- 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]
- Pacifici I, Galli M, Kleiner AFR, Corona F, Coghe G, Marongiu E, Loi A, Crisafulli A, Cocco E, Marro-su MG, Pau M.
The required coefficient of friction for evaluating gait alterations in people with multiple sclerosis during gait.
Multiple Sclerosis and Related Disorders. 2016 11;10:174-178.
- Rigoldi C, Galli M, Vimercati SL, Condoluci C, Tacchino G, Bianchi AM, Albertini G.
Monosynaptic reflexes and preprogrammed reactions in down syndrome: A surface electromyographic study.
Journal of Policy and Practice in Intellectual Disabilities. 2016;13(2):157-164.
- 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. 2016 Jan-Feb;26(1):95-102.
- 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; Volume 19, March 2016, Pages 35–43.
- Walus M, Kida E, Rabe A, Albertini G, Golabek AA.
Widespread cerebellar transcriptome changes in Ts65Dn Down syndrome mouse model after life-long running.
Behav Brain Res. 2016 Jan 1;296:35-46.
- Franchi C, Tettamanti M, Djade CD, Pasina L, Mannucci PM, Onder G, Gussoni G, Manfellotto D, Bonassi S, Salerno F, Nobili A; ELICADHE Investigators.
E-learning in order to improve drug prescription for hospitalized older patients: a cluster-randomized controlled study.
Br J Clin Pharmacol. 2016 Jul;82(1):53-63.
- 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. 2016 Jan;45(1):136-142.
- 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, ù 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. 2016 Feb 1;17(2):168-172.

***PUBBLICAZIONI SU RIVISTE
SENZA IMPACT FACTOR***



Galli M, Cimolin V, De Pandis M.F, Le Pera D, Sova I, Albertini G, Stocchi F, Franceschini M. Robot-assisted gait training versus treadmill training in patients with Parkinson's disease: a kinematic evaluation with gait profile score. *Funct Neurol*. 2016 Jul-Sep;31(3):163-170.

Morano A, Cifelli P, Nencini P, Antonilli L, Fattouch J, Ruffolo G, Roseti C, Aronica E, Limatola C, Di Bonaventura C, Palma E, Giallonardo AT. Cannabis in epilepsy: From clinical practice to basic research focusing on the possible role of cannabidivarin. *Epilepsia Open*, 1(3-4):145–151, 2016. doi: 10.1002/epi4.12015

Caminiti G, Fossati C, Battaglia D, Selli S, Fortuna D, Volterrani M. Exercise Training in Heart Failure, Clinical Evidences and Areas of Uncertainty. *Journal of Cardiology and Therapy* 2016; 3(1): 473-482 Available from: URL: <http://www.ghrnet.org/index.php/jct/article/view/1598>

Campolongo G, Riccioni CV, Raparelli V, Spoletini I, Marazzi G, Vitale C, Volterrani M. The combination of nutraceutical and simvastatin enhances the effect of simvastatin alone in normalising lipid profile without side effects in patients with ischemic heart disease. *IJC METABOLIC & ENDOCRINE* 11 (2016) 3-6

Guadagni F, Scarpato N, Ferroni P, D'Ottavi G, Boavida F, Roselli M, Garrisi G, Lisi A. Personal and sensitive data in the e-health-IoT universe. Second International Summit, IoT 360° 2015, Rome, Italy, October 27-29, 2015, Revised Selected Papers, Part II. Eds. Mandler B., Barja J., Mitre Campista M.E., Cagáňová D., Chaouchi H., Zedally S., Badra M., Giordano S., Fazio M., Somov A., Vieriu, R.L. ISBN 978-3-319-47075-7 pg 504-514. <http://www.springer.com/us/book/9783319470740>

Della-Morte D, Pastore D, Capuani B, Pacifici P, Lauro D: SGK-1. *Encyclopedia of Signaling Molecules*, 2nd Edition. Springer Editorial Platform, 2016.

Massimiliano Caprio, Marco Infante, Andrea Armani, Andrea Lenzi, Andrea Fabbri. Recettore mineralcorticoide e organo adiposo: implicazioni cliniche e terapeutiche. *Endocrinologo* 2016

Nijenhuis SM, Prange-Lasonder GB, Amirabdollahian F, Infarinato F, Buurke JH, Rietman JS. Feasibility of a Second Iteration Wrist and Hand Supported Training System for Self-administered Training at Home in Chronic Stroke. In: *eTELEMED 2016 : The Eighth International Conference on eHealth, Telemedicine, and Social Medicine (with DIGITAL HEALTHY LIVING 2016 / MATH 2016)* ; 2016 April 24 - 28; Venice, Italy. IARIA; 2016. p. 51-6.

Adinolfi F, Caggianese G, Gallo L, Grosso J, Infarinato F, Marchese N, SaleP, Spaltro E. SmartCARE—An ICT platform in the domain of stroke pathology to manage rehabilitation treatment and telemonitoring at home. *Smart Innovation, Systems and Technologies*. 55, 2016,39-49. DOI: 10.1007/978-3-319-39345-2_4

Lauro F. et al. The protective role of bergamot polyphenolic fraction on several animal models of pain. *Pharmanutrition* 2016; S35-S40

LIBRI E CAPITOLI DI LIBRI

Barbanti P, Jirillo E.

Mangia Sano che ti Passa - Nutrizione e Mal di Testa. miti, scienza e novità
CIC Edizioni Internazionali; 2016.

Ferroni P, Riondino S, Barbanti P, Guadagni F.

Capitolo 8: Infiammazione e ossidazione.

In "Mangia Sano che ti Passa - Nutrizione e Mal di Testa. miti, scienza e novità".
Barbanti P, Jirillo E, CIC Edizioni Internazionali; 2016.

De Marchis ML, Guadagni F, Palmirotta R.

Capitolo 33: Basi genetiche dell'approccio nutrizionale delle cefalee.

In "Mangia Sano che ti Passa - Nutrizione e Mal di Testa. miti, scienza e novità".
Eds. Autori: Barbanti P., Jirillo E., CIC Edizioni Internazionali; 2016.

*PARTECIPAZIONI A CONGRESSI
NAZIONALI ED INTERNAZIONALI*



- Franceschini M. 2° Congresso Biennale della Società Europea di Riabilitazione (ESPRM); “Effects of Upper Limb Robot-Assisted Therapy on Motor Recovery of Subacute Stroke Patients”, Estoril, Aprile 2016
- Franceschini M. Congresso Nazionale della Società Serba di Neuroriabilitazione; “Assessment in Robotic Rehabilitation”, Belgrado, Giugno 2016
- Franceschini M et al. 25° European Stroke Conference; Poster: “Acute prognostic indicators for 6-month outcomes after stroke in Italian patients eligible for In-Hospital Rehabilitation”; Aprile 2016
- Franceschini M. 16° Congresso della Società di Riabilitazione Neurologica (SIRN); “Rischio clinico nella riabilitazione della persona con stroke: Le problematiche cardiovascolari”; Ascoli Piceno, Aprile 2016.
- Franceschini M et al. 44° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina Fisica e Riabilitazione (SIMFER), Bari, Ottobre 2016:
- Dr Paravati “Indicatori di recupero funzionale nella riabilitazione robotica dell’arto superiore della persona con esiti di Stroke con InMotion2”
- Le Pera D. “Efficacia della riabilitazione assistita da sistemi robotici nella malattia di parkinson: studio multicentrico randomizzato controllato”
- Damiani C “Terapia Riabilitativa con Realtà Virtuale in pazienti con protesizzazione di ginocchio: studio randomizzato controllato”
- Franceschini M. 11° congresso “Forum Risk Management in Sanità”; “Telieriabilitazione negli IRC-ES: situazione attuale, strategie, quali prospettive”, Firenze, Dicembre 2016
- Franceschini M. 12° Corso della Scuola Mediterranea di Medicina Fisica e Riabilitazione Siracusa, Novembre 2016. Docenze:
 - “The movement as an adjunct to physical therapy”
 - “Robotics as the movement support”
- Franceschini M. Fondazione Don Gnocchi “La tecnologia e la robotica in riabilitazione”; “Nuove tecnologie e robotica: quali opportunità di sviluppo e sinergie per una riabilitazione per tutti”, Roma, Novembre 2016
- Galafate D. 44° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina Fisica e Riabilitazione (SIMFER); “Sistema robotico a cammino libero”, Bari, Ottobre 2016
- Stocchi F. 2° Congresso Accademia LIMPE-DISMOV - Accademia Italiana per lo Studio della Malattia di Parkinson e i Disordini del Movimento; “Safinamide, un nuovo trattamento oltre la dopamina”, Bari, Maggio 2016
- Stocchi F. Il Programma della NASA – Neuroscienze a Salerno. Seminario: Il trattamento nella Malattia di Parkinson; “Monoterapia verso Politerapia sintomi motori”, Salerno, Settembre 2016
- Stocchi F. Primo Congresso Nazionale AMGe – Oltre ed Altro Nella Cura Dell’ Anziano; “Le novità nella terapia farmacologica della malattia di Parkinson”, Roma, Settembre 2016
- Stocchi F. Brain&Mind Day, XLVII Congresso Società Italiana di Neurologia; Parma, Ottobre 2016
- Stocchi F. XLVII Congresso Società Italiana di Neurologia; “Safinamide: dai trial clinici alla pratica clinica”; Venezia, Ottobre 2016
- Stocchi F. 2016 Motore SANITA’ Ospedale e Territorio: La Situazione Epidemiologica Nazionale e L’Impatto delle Nuove Terapie nella Cura del Parkinson; “L’innovazione farmacologica nella cura del Parkinson”, Roma, Marzo 2016
- Stocchi F. MOVE ON: Movimento e Controllo nella Malattia di Parkinson; “Xadago: Nuovo trattamento per le fasi intermedie e avanzate della malattia di Parkinson – Sviluppo clinico”, Roma, Aprile 2106
- Stocchi F. Gestione Clinico-riabilitativa del Paziente con Malattia di Parkinson: Continuità di cura dell’Ambiente Specialistico Ospedaliero dell’Assistenza Territoriale; “Disturbi gastrointestinali: diagnosi e trattamento”, Palermo, Aprile 2016

- Vacca L. XIX Convegno Nazionale Geriatrico – Parkinson: Conoscerlo e Gestirlo; “Quale terapia farmacologica nei pazienti con disturbi della deglutizione”, Cassino (FR), Luglio 2016

- Stocchi F. XIX Convegno Nazionale Geriatrico – Parkinson: Conoscerlo e Gestirlo; “Presente e fu-

turo nella terapia farmacologica della malattia di Parkinson”, Cassino (FR), Luglio 2016

– Stocchi F. Ci Sono Nuove Terapie nel Parkinson? , Università G. D’ Annunzio; “La Teoria Pulsatile” e “La terapia dell’ “off”: acuta e preventiva, cronica. Nuove proposte, vecchie tecniche poco note” , Chieti, Luglio 2016

– Stocchi F. Trattamenti avanzati nella malattia di Parkinson: dai principi alla pratica clinica; “Verso le terapie invasive”, Roma, Giugno 2016

– Stocchi F. Percorsi Decisionali nella Malattia di Parkinson; “Dai Trials clinici alla pratica clinica” e “Altre Terapie”, Bologna, Novembre 2016

– Stocchi F. Masterclass Neurology Rome: Morbo di Parkinson, dalla diagnosi al trattamento. “Come è cambiata la terapia dei pazienti de novo”, Roma, Novembre 2016

– Vacca L. Masterclass Neurology Rome: Morbo di Parkinson, dalla diagnosi al trattamento. “Le fluttuazioni motorie: fenomenologia e risk factors”, Roma, Novembre 2016

– Torti M. Masterclass Neurology Rome: Morbo di Parkinson, dalla diagnosi al trattamento. “DBS pros and cons”, Roma, Novembre 2016

– Stocchi F. 11° Forum Risk Management 2016 nella Sanità. Programma “PDTA MALATTIA DI PARKINSON”; “Approcci Terapeutici e Riabilitativi della Malattia di Parkinson”, Firenze, Novembre 2016.

– F. Stocchi, M. Torti, E. Heller, L. Vacca, E. Heller, A. Heller, P. Grassini, M. Casali, F. Radicati, C. Fossati, P. Stirpe, C.W. Olanow. A20th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders - Poster: LBA 32 “Phase 2a study of standard administration versus semicontinuous intraoral administration of levodopa/carbidopa in patients with advanced Parkinson's disease”, Berlino, Giugno 2016

– S. Lopez, M.F. De Pandis, F. Sorpresi, G. B. Frisoni, F. Nobili, F. Stocchi, U. Gschwandtner, P. Fuhr, A. Meyer, C. Babiloni. 2° Congresso Accademia LIMPE-DISMOV- Accademia Italiana per lo studio della Malattia di Parkinson i Disordini del Movimento – Poster: P25: “Mild cognitive impairment in Parkinson's and Alzheimer's Diseases show different relationships between cortical resting state EEG rhythms and global cognitive function”, Bari, Maggio 2016

– L. Vacca, M. Torti, P. Grassini, M. Casali, P. Stirpe, M. Onofrij, F. Stocchi. 2° Congresso Accademia LIMPE-DISMOV- Accademia Italiana per lo studio della Malattia di Parkinson i Disordini del Movimento – Poster: P39: “Clinical and pharmacokinetics study to evaluate the therapeutic equivalence and bioequivalence of Levodopa Benserazide generic formulation (Teva Italia) versus the originator (Madopar®)”, Bari, Maggio 2016

– F. Stocchi, M. Torti, L. Vacca, E. Heller, A. Heller, P. Grassini, M. Casali, F. Radicati, C. Fossati, P. Stirpe, W. Olanow. 2° Congresso Accademia LIMPE-DISMOV- Accademia Italiana per lo studio della Malattia di Parkinson i Disordini del Movimento – Poster: P40: “A Phase 2A study of standard administration versus semicontinuous intra-oral administration of Levodopa/Carbidopa in patients with advanced Parkinson's disease”, Bari, Maggio 2016

– Palma E. Immunity and inflammation in epilepsy; “Neuroinflammation and neurotransmission: how inflammatory mediators can influence GABAergic activity”, Milano Ottobre 2016.

- Palma E. 1st Synanet Workshop; “Xenopus oocytes: from synapse to brain diseases”, Theoretical and practical workshop, Roma, Giugno 2016.
- Palma E. “Creazione d un network meridionale per l’identificazione di biomarcatori (genetici, immunologici e di imaging)”, Catanzaro, Aprile 2016.
- Volterrani M. ISCP and SICOA Cardiovascular Workshop; “Ipertensione arteriosa: considerazioni fisiopatologiche ed epidemiologiche”, Londra, Gennaio 2016.
- Volterrani M. ISCP and SICOA Cardiovascular Workshop; “Analogie e differenze tra le linee guida americane (AHA/ACC) ed europee (EAS/ESC e NICE)”, Londra, Gennaio 2016.
- Volterrani M. Il Convegno Interregionale SICOA Centro; “LCZ inizio di una nuova era”, Roma, Febbraio 2016.
- Volterrani M. 8th International Cardio Event - Cardiology towards the Future Cardiovascular Precision Medicine; “The Geriatrician and Heart Failure”, Firenze, Febbraio 2016.
- Volterrani M. Update in cardiologia: dalla fase acuta alla prevenzione secondaria; “Ivabradina in cardiologia riabilitativa”, Lecce, Febbraio 2016.
- Volterrani M. Asian Board of Heart Failure ; “The Heart Failure clinic story from Italian point of view”, Seul (Corea), Febbraio 2016.
- Volterrani M. Asian Board of Heart Failure ; “The role of ivabradine in the management of Heart Failure”, Seul (Corea), Febbraio 2016.
- Volterrani M. Convegno SICOA - La cardiologia nel 2016 fra novità terapeutiche e certezza consolidate; “Il ruolo dell’ivabradina nella gestione terapeutica delle malattie cardiovascolari oggi”, Catania, Marzo 2016.
- Volterrani M. ISCP Cardio-Metabolic Workshop; Responsabile scientifico, Governatore ISCP per l’Italia (insieme al Presidente ISCP Antoni Martinez Rubio e al Prof. Juan Carlos Kaski); Chair: “Global Cardiovascular Risk e Cardio-Metabolic Risk”, Siviglia, Aprile 2016.
- Volterrani M. ISCP Cardio-Metabolic Workshop; Responsabile scientifico, Governatore ISCP per l’Italia (insieme al Presidente ISCP Antoni Martinez Rubio e al Prof. Juan Carlos Kaski); Chair: “Interactive Panel Discussion: strategies for cardiovascular disease prevention and management - Guidelines versus real life clinical practice”, Siviglia, Aprile 2016.
- Volterrani M. XXIV Corso di aggiornamento in cardiologia; “ Riabilitazione cardiologica: dove siamo e dove andiamo”, Bormio, Aprile 2016.
- Volterrani M. ISCP and ST George’s University of London - International Cardiovascular Workshop; Chair “ Interactive discussion on prevention of stroke in atrial fibrillation”, Londra, Aprile 2016.
- Volterrani M. ISCP and ST George’s University of London - International Cardiovascular Workshop; Chair: “Comparing real-life experiences across International borders”, Londra, Aprile 2016.
- Volterrani M. ISCP and ST George’s University of London - International Cardiovascular Workshop; Chair: “Interactive discussion on global use of NOACs”, Londra, Aprile 2016.

- Volterrani M. Challenges in the treatment of heart failure; “Use of Ivabradine in Heart Failure”, Malta, Aprile 2016.
- Volterrani M. Master Class in Heart Failure; “Esercizio fisico e riabilitazione: quando e come”, Roma, Maggio 2016.
- Volterrani M. HEART FAILURE 2016; “Tele-medical management and remote care in heart failure”, Firenze, Maggio 2016.
- Volterrani M. HEART FAILURE 2016; “Exercise Training: for whom, when and how” , Firenze, Maggio 2016.
- Volterrani M. HEART FAILURE 2016; “Tele-medical management for home based rehabilitation”, Firenze, Maggio 2016.
- Volterrani M. XIV Congresso Nazionale SICOA; discussant nella sessione: “NAO: come li stiamo usando”, Giardini Naxos (ME), Maggio 2016.
- Volterrani M. Congresso ESC (European Society of Cardiology); “Clinical Implication of novel natriuretic peptides”, Roma, Agosto 2016.
- Volterrani M. Congresso ESC (European Society of Cardiology); Moderatore della session poster: “Prognostication in Heart Failure”, Roma, Agosto 2016.
- Volterrani M. ISCP and ST George’s University of London - International Cardiovascular Workshop Chair della sessione: “Interactive discussion on prevention of stroke in atrial fibrillation”, Londra, Settembre - Ottobre 2016.
- Volterrani M. ISCP and ST George’s University of London - International Cardiovascular Workshop; “Discussion on global use of NOACs”; Londra, Settembre-Ottobre 2016.
- Volterrani M. European cardiovascular workshop in association with ISCP, ISMERI and ITAHFA; “Treatment to target heart rate in heart failure”, Capri, Ottobre 2016.
- Volterrani M. Giornate Cardiologiche per la Sardegna 2016; “Nuovi target di terapia”, Monserrato (CA), Ottobre 2016.
- Volterrani M. XXVI EAHM Congress - Sustainable Healthcare: needs, responsibility and competence; “Empowering patients through educational program. The Italian platform for heart failure”, Bologna, Ottobre 2016.
- Rosano GMC. European Cardiovascular Workshop in association with ISCP, ISMERI and ITAHFA; “Trial highlights from ESC 2016”, Capri, Ottobre 2016.
- Vitale C. ISCP and ST George’S University of London – Workshop on diagnosis and management of peripheral venous disorders; “La Malattia Venosa Cronica e le vene varicose: perché parlarne oggi”, Londra, Novembre 2016.
- Vitale C. ISCP and ST George’S University of London – Workshop on diagnosis and management of peripheral venous disorders; “Proposta di un protocollo terapeutico congiunto per il trattamento della malattia venosa” , Londra, Novembre 2016.

- Campolongo G. Il Convegno Interregionale SICOA Centro; “Aderenza alla terapia medica nel paziente iperteso”, Roma, Febbraio 2016.
- Campolongo G. Corso di aggiornamento ECM - La terapia antiaritmica della Fibrillazione Atriale dalle linee guida alla pratica clinica; “Lo screening della FA e l’auto misurazione della PA”, Roma, Aprile 2016.
- Caminiti G. Europrevent Meeting 2016; Poster: “Impact of right ventricular systolic dysfunction on exercise tolerance of elderly patients with permanent atrial fibrillation”, Sophia Antipolis (Nizza), Giugno 2016
- Caminiti G. Heart Failure 2016 Poster: “Effect of cardiac rehabilitation on progenitor endothelial cells in patients with heart failure”, “ Ivabradine improves heart rate control and exercise tolerance in patients with heart failure with preserved ejection fraction and atrial fibrillation”, “Effect of trimetazidine on exercise capacity and muscle strength in patients with HfrEF”, Firenze, Maggio 2016.
- D’Antoni V. Convegno SIEC Macroarea Centro Roma; “Right ventricular dysfunction predicts poor exercise tolerance in elderly patients with persistent/permanent atrial fibrillation”, Roma Settembre 2016.
- D’Antoni V. Congresso nazionale GICR/IACPR; Poster: “Right ventricular systolic dysfunction is related to exercise intolerance of elderly patients with permanent atrial fibrillation”, Genova, Ottobre 2016.
- Guadagni F. 2nd International Conference Exhibition on Tissue preservation & Bio-banking; “Biobanks as a pivotal research infrastructure in precision medicine”, Philadelphia, USA, Settembre 2016.
- Guadagni F et al. 2016 ISBER Annual Meeting & Exhibits. Poster: “Assays for qualification and quality stratification of clinical biospecimens used in research. A technical report from the ISBER Biospecimen Science Working Group”. Berlin, Germany, April 2016.
- Riordino S, Valente MG, Vallone D, Fratangeli F, Ferroni P, Roselli M, Guadagni F et al. 2nd International Conference & Exhibition on Tissue preservation and Bio-banking; poster: “Introducing SPREC in a software for Biobank”. Philadelphia, USA, Settembre, 2016.
- Del Monte G, Vallone D, Di Cioccio L, Durazzo F, Fratangeli F, Spila A, Ferroni P, Roselli M, Guadagni F. XXIII Congresso Nazionale SICP - Società Italiana di Cure Palliative; Poster: “From bench to bedside: un approccio multidisciplinare personalizzato nelle cure palliative”, Roma, Novembre, 2016.
- Della-Morte D, et al. XXVI Congresso Nazionale della società italiana di Diabetologia, (SID), Poster: “Effetto combinato di SGK1 e AKT1 nella produzione di ossido nitrico in cellule coronariche”, Rimini, Maggio 2016. Il Diabete, supplemento I n°1 Maggio 2016.
- Della-Morte D et al. XXVI Congresso Nazionale della società italiana di Diabetologia (SID); Poster “Coinvolgimento della PRDX6 nella patogenesi dell’obesità e NAFLD”, Rimini, 2016, Maggio 2016. Il Diabete, supplemento I n°1 Maggio 2016.
- Della-Morte D, et al. XXVI Congresso Nazionale della società italiana di Diabetologia (SID); Poster: “Effetto anti infiammatorio della Metformina mediato dal recettore Toll-like receptor 4 nelle cellule mononucleate del sangue periferico”, Rimini, Maggio 2016. Il Diabete, supplemento I n°1 Maggio 2016.

- Della-Morte D et al. XXVI Congresso Nazionale della società italiana di Diabetologia, (SID); Poster: “Trascrittoma e proteoma di modelli murini mancanti del recettore insulinico rivelano nuove molecole coinvolte nella fisiopatologia del Diabete Mellito di tipo 2”, Rimini, Maggio 2016. Il Diabete, supplemento I n°1 Maggio 2016.
- Della-Morte D et al. XXVI Congresso Nazionale della società italiana di Diabetologia, (SID); Poster: “Prdx6 come nuovo regolatore della secrezione insulinica glucosio-dipendente in β cellule pancreatiche murine”, Rimini, Maggio 2016. Il Diabete, supplemento I n°1 Maggio 2016.
- Della-Morte D et al. American Diabetes Association (ADA), 76nd scientific sessions; Poster: “Prdx6 depletion results in a decrease of glucose-induced insulin secretion in pancreatic β -cells”, New Orleans, Giugno 2016.
- Della-Morte D et al. American Diabetes Association (ADA), 76nd scientific sessions; Poster: “Hepatic microRNAs profile in insulin receptor knockout mice reveal novel molecules involved in the Diabetes Pathophysiology”, New Orleans, Giugno 2016.
- Della-Morte D et al. 52th Annual meeting of The European Association for the Study of Diabetes (EASD); Poster: “A Salvage Pathway of SGK1 in eNOS Activation in Coronary Cells”, Monaco, Settembre 2016.
- Della-Morte D et al. 52th Annual meeting of The European Association for the Study of Diabetes (EASD); Poster: “Periredoxin6 Deletion Impairs Mitochondria Function and Decreases Insulin Secretion in Pancreatic Beta Cells”, Monaco, Settembre 2016.
- Della-Morte D et al. 52th Annual meeting of The European Association for the Study of Diabetes (EASD); Poster: “Toll like receptor 4 mediates the anti-inflammatory effect of Metformin in human Peripheral Blood Mononuclear cells”, Monaco, Settembre 2016.
- Della-Morte D et al. 52th Annual meeting of The European Association for the Study of Diabetes (EASD); Poster: “Involvement of PRDX6 in the pathogenesis of obesity and nonalcoholic fatty liver disease” , Monaco, Settembre 2016.
- Della-Morte D et al. 52th Annual meeting of The European Association for the Study of Diabetes (EASD); Poster: “Microarray Analysis in Insulin Receptor Knockout Mice Identified Novel Biomarkers to Prevent Type 2 Diabetes Mellitus”, Monaco, Settembre 2016.
- Palamara A.T. Senato della Repubblica, Biblioteca del Senato “Giovanni Spadolini”; “Una nuova resistenza contro la sfida globale dei superbatteri”, Roma, Settembre 2016.
- Palamara A.T. Accademia Medica di Roma Istituto Pasteur (Fondazione Cenci Bolognetti) Auditorium Prima Clinica Medica Policlinico Umberto I; “I Vaccini: novità e problematiche”, Maggio 2016.
- Palamara A.T. XLV Congresso Nazionale A M C L I (Associazione Microbiologi Clinici); “Vaccini e vaccinazioni in Italia: stato dell’arte e problematiche aperte”; Rimini, Novembre 2016.
- Palamara A.T. Congresso SOI (Società Oftalmica Italiana); “Infezioni resistenti agli antibiotici e approccio one health: una strategia senza confini per combattere i superbatteri”, Milano, Maggio 2016.
- Palamara A.T. XIV FISV CONGRESS 2016 (Federazione Italiana Scienze della Vita), Sapienza Università di Roma, Chairman: “Immunology and Host-Pathogen Interaction”, Roma, Settembre 2016.

- Palamara A.T. XI Forum Risk Management in Sanità 2016 ; “Lavorare insieme per una nuova sanità”, Firenze, Novembre- Dicembre 2016.
- Palamara A.T. Sopravvivenza e morte cellulare: nuove acquisizioni e ricadute applicative; “Infezioni virali e destino cellulare”, Istituto Superiore di Sanità , Roma, Aprile 2016.
- Palamara A.T. Il Workshop della Microbiologia veterinaria di Napoli; “La microbiologia e Immunologia Veterinaria italiana: saperi da condividere”; Napoli, Maggio 2016
- Palamara A.T. Promuovere la Salute. Il Valore delle Vaccinazioni (Polio e HPV); “Polio, Vaccinazioni, Eradicazione Globale”, Milano, Aprile 2016
- Palamara A.T et al. Società Italiana di Microbiologia , International Summer Course Intrinsic And innate immunity to pathogens; Organizing Committee e Poster: “Herpes simplex virus tipe-1 (HSV-1) infection, neuroinflammation and neurodegeneration: a possible role for activated glia?”, Granozzo con Monticello, Novara (Italy), Novara (Italy), Giugno 2016
- Palamara A.T. XLV Congresso Nazionale A M C L I (Associazione Microbiologi Italiani); “Vaccini e vaccinazioni in Italia: stato dell’arte e problematiche aperte”, Rimini, Novembre 2016
- Palamara A.T. Comitato di Presidenza XI Congresso Nazionale Società Italiana di Microbiologia Farmaceutica, Bologna, Giugno 2016
- Palamara A.T. 44° Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia; “Glutathionilazione delle proteine virali: nuovo meccanismo di patogenicità del virus dell’influenza?”, Pisa, Settembre 2016
- Barbanti P. Seminario clinico multimediale di formazione sulle cefalee; “La clinica delle cefalee di tipo tensivo e diagnosi differenziale con le altre cefalee primarie”, Roma, Marzo 2016
- Barbanti P. La neuroprotezione, una nuova opportunità terapeutica nel glaucoma e nelle malattie neurodegenerative del sistema nervoso centrale; “Esiste una neuroprotezione?” Roma, Marzo 2016
- Barbanti P. Roma InConTra – VI edizione; “Gli anticorpi monoclonali nella profilassi dell’emicrania”, Roma, Aprile 2016
- Barbanti P. Cefalee up-date, V edizione; “I nutraceutici nel dolore cefalico”, Solbiate Olona, Aprile 2016
- Barbanti P. Il Cenacolo delle Idee-Associazione nazionale medici direzioni ospedaliere (ANMDO); “Mal di testa: sport, alimentazione e stili di vita”, Bologna, Maggio 2016
- Barbanti P. Seminario clinico multimediale di formazione sulle cefalee; “La gestione del paziente in PS: le Strategie terapeutiche”, Roma Novembre 2016
- Barbanti P. Emicrania e trattamento: passato, presente e futuro. VIII giornata ANIRCEF in Lombardia; “Gli anticorpi monoclonali” Brescia, Giugno 2016
- Barbanti P. 5th European Headache and Migraine Trust International Congress (EHMTIC 2016); “Dopamine beta hydroxylase ((Dβ-H) 19bp insertion/del polymorphism influences medication overuse headache”, Glasgow, Settembre 2016

- Barbanti P. et al. 5th European Headache and Migraine Trust International Congress (EHMTIC 2016); Poster: Non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS) for the acute treatment of migraine without aura in adolescents: preliminary clinical experience, *Cephalalgia* 2016;36(suppl1)78-79, Glasgow, Settembre 2016
- Barbanti P. 2° Congresso Nazionale Congiunto ANIRCEF-SISC; “La neurostimolazione del nervo sovraorbitario come profilassi emicranica di prima scelta”, Bologna, Novembre 2016
- Barbanti P. 2° Congresso Nazionale Congiunto ANIRCEF-SISC; “Dopamine beta hydroxylase (DBH) 19bp insertion/del polymorphism influences medication overuse headache”, Bologna, Novembre 2016
- Barbanti P. 2° Congresso Nazionale Congiunto ANIRCEF-SISC; “Premenopausal females with chronic migraine show an increased thrombophilic predisposition”, Bologna, Novembre 2016
- Barbanti P. XVIII Maratona Internazionale di Ravenna, città d’arte; “Scatta in testa, corri più veloce del tuo mal di testa”, Ravenna, Novembre 2016
- Gatta L, Vitiello L, Giammarioli AM, Malorni W, Rosano G, Ferraro E. Heart Failure 2016. Poster: “Metabolic reprogramming as therapeutic strategy to ameliorate skeletal muscle tissue engineering procedures”, Firenze, Maggio 2016
- Vitiello L, Ferraro E, De Simone S, Racioppi L, Rosano G. Heart Failure 2016. Poster: “Exposure to CXCL12 prolongs naive CD4+ T lymphocytes survival”, Firenze, Maggio 2016
- Ferraro E. EuroPrevent Meeting; “Metabolic modulation in chronic cardiovascular disease: a novel therapeutic target”, Sophia Antipolis-France, Giugno 2016
- Ferraro E. IIM-Myology 2016; “The metabolic reprogramming agent Trimetazidine as an ‘exercise mimetic’ in cachectic C26-bearing mice”, Assisi, Ottobre 2016
- Vitiello L, Badagliacca R, Poscia R, Volterrani M, Rosano G, Vizza D, Ferraro E; 9h Cachexia Conference 2016, Poster: “Cachexia-associated TGFβ superfamily ligands as circulating biomarkers of pulmonary hypertension”, Berlino, Dicembre 2016
- Feraco A, Molinari F, Armani A, Ferraro E, Rosano G. 9h Cachexia Conference 2016, Poster: “Mineralocorticoid Receptor (MR) activation affects skeletal muscle homeostasis”, Berlino, Dicembre 2016
- Valeriani L, Vecchio F, Assalti G, Pietropaolo M, Trocchi G. 11th European congress of aesthetic medicine; Poster: “Aesthetic medicine in palliative care: improving the quality of life and reducing the pain during the end of life through cosmetic treatments”, Roma, maggio 2016
- F. Miraglia, F. Vecchio, R. Di Iorio, G. Granata, R. Romanello, P. M. Rossini. 6th International Conference on Transcranial Brain Stimulation; Poster: “Transcranial direct current stimulation of the brain motor area generates a transient increase of small worldness in connectivity: an EEG graph theoretical analysis”, Göttingen, Settembre 2016
- F. Vecchio, F. Ferreri, F. Miraglia, D. Ponzio, P. M. Rossini. 6th International Conference on Transcranial Brain Stimulation; Poster: “Time-varying coupling of EEG oscillations predicts excitability fluctuations in the primary motor cortex as reflected by motor evoked potentials amplitude: An EEG-TMS study”, Göttingen, Settembre 2016

- R. Di Iorio, F. Vecchio, M. C. Pellicciari, F. Miraglia, D. Brignani, G. Granata, C. Miniussi, P.M. Rossini; 6th International Conference on Transcranial Brain Stimulation; Poster: “Effects of transcranial direct current stimulation on the functional coupling of the sensorimotor cortical network”, Göttingen, Settembre 2016
- R. Di Iorio, G. Granata, F. Vecchio, F. Miraglia, P. M. Rossini. 6th International Conference on Transcranial Brain Stimulation; Poster: “Assessment of primary motor cortex plastic changes following the use of a new prosthetic system able to provide somatosensory feedback from the missing hand in an amputee patient: a TMS study”, Göttingen, Settembre 2016
- F. Vecchio, F. Miraglia, C. Vollono, F. Fuggetta, P. Bramanti, B. Cioni, P.M. Rossini. XLVII Congresso della Società Italiana di Neurologia; “Pre-seizure architecture of the local connections of the epileptic focus examined via graph-theory”, Venezia, Ottobre 2016
- Miraglia F, Vecchio F, Di Iorio R, Granata G, Romanello R, Rossini PM. XLVII Congresso della Società Italiana di Neurologia. Best Poster Awards Neuroscience: “The impact of bipolar tDCS on cortical networks connectivity: a graph theory study”, Venezia, Ottobre 2016
- R. Di Iorio, G. Granata, F. Vecchio, F. Miraglia, P.M. Rossini. XLVII Congresso della Società Italiana di Neurologia; “Motor cortical reorganization following the restoring of sensory feedback in an amputee patient by the use of novel implanted multichannel intrafascicular electrodes: a TMS mapping study”, Venezia, Ottobre 2016
- F. Vecchio, F. Miraglia. Festival della divulgazione. Presentazione: “La percezione della realtà tra arte e neuroscienza”, Potenza, Novembre 2016
- Valeriani L, Vecchio F, Assalti G, Pietropaolo M, Trocchi G. XXIII Congresso Nazionale S.I.C.P. (Società italiana di cure palliative), “Il tempo delle cure palliative: migliorare la qualità di vita e diminuire il dolore nel fine vita prendendosi cura del paziente anche attraverso trattamenti cosmetologici”, Roma, Novembre 2016
- F. Vecchio. Updates on human brain connectome: from physiology to diseases. Presentazione: “EEG/MEG”, Roma, Novembre 2016
- Muscoli C. Study In Multidisciplinary pain in research (SIMPAR); “Young researcher speech. Nutritions and pain: Italian research”, Roma, Aprile 2016
- Muscoli C. Study In Multidisciplinary pain in research (SIMPAR); “Nutraceuticals: the state of the art”, Roma, Aprile 2016
- S. Ilari, L.G. Giancotti, F. Lauro, C. Montagna, C. Morabito, M. Gliozzi, G. Filomeni, V. Mollace, D. Salvemini, C. Muscoli. International Association for the Study of Pain (IASP); Poster: “S-nitrosogluthione reductase (GSNOR) deficiency-induced S-nitrosylation results in neuropathic pain response”, Yokohama, Settembre 2016
- C. Morabito, S. Ilari, F. Lauro, L.A. Giancotti, M. Gliozzi, M. Tafani, M. Fini, M. Russo, V. Mollace, D. Salvemini, C. Muscoli. International Association for the Study of Pain (IASP); Poster: “The crucial role NAD+-dependent SIRT1 deacetylase during acute inflammatory pain”, Yokohama, Settembre 2016
- S. Ilari, C. Morabito, F. Lauro, L.A. Giancotti, M. Gliozzi, M. Tafani, M. Fini, M. Russo, V. Mollace, D. Salvemini, C. Muscoli. Società Italiana di Farmacologia (SIF); “NAD+ dependent

SIRT1 deacetylase and acute inflammatory pain: the crucial role of oxidative stress modulation”; Rimini, Settembre 2016

– Muscoli C. Study In Multidisciplinary pain in research (SIMPAN); “Young researcher speech. Nutrition and pain: Italian research”, Roma, Aprile 2016

– Muscoli C. Study In Multidisciplinary pain in research (SIMPAN); “Nutraceuticals: the state of the art”, Roma, Aprile 2016

– S. Ilari, L.G. Giancotti, F. Lauro, C. Montagna, C. Morabito, M. Gliozzi, G. Filomeni, V. Mollace, D. Salvemini, C. Muscoli. International Association for the Study of Pain (IASP); Poster: “S-nitrosoglutathione reductase (GSNOR) deficiency-induced S-nitrosylation results in neuropathic pain response”, Yokohama, Settembre 2016

– C. Morabito, S. Ilari, F. Lauro, L.A. Giancotti, M. Gliozzi, M. Tafani, M. Fini, M. Russo, V. Mollace, D. Salvemini, C. Muscoli. International Association for the Study of Pain (IASP); Poster: “The crucial role NAD⁺-dependent SIRT1 deacetylase during acute inflammatory pain”, Yokohama, Settembre 2016

– S. Ilari, C. Morabito, F. Lauro, L.A. Giancotti, M. Gliozzi, M. Tafani, M. Fini, M. Russo, V. Mollace, D. Salvemini, C. Muscoli. Società Italiana di Farmacologia (SIF); “NAD⁺ dependent SIRT1 deacetylase and acute inflammatory pain: the crucial role of oxidative stress modulation”; Rimini, Settembre 2016

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 - e un'Area di Diagnostica per Immagini.

AREA DI RICERCA RESPONSABILE

RIABILITAZIONE NEUROMOTORIA E ROBOTICA RIABILITATIVA	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 TELEMEDICINA E E-HEALTH	MAURIZIO VOLTERRANI
PNEUMOLOGIA RIABILITATIVA	VITTORIO CARDACI
CENTRO DI RICERCA CLINICA E SPERIMENTALE	GIUSEPPE ROSANO
EPIDEMIOLOGIA CLINICA E MOLECOLARE	STEFANO BONASSI
DISABILITA' 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

CENTRO RICERCHE IRCCS SAN RAFFAELE PISANA
RICERCA DI BASE - TRASLAZIONALE

LABORATORIO

RESPONSABILE

STAFF

ENDOCRINOLOGIA CARDIOVASCOLARE	MASSIMILIANO CAPRIO	ANDREA ARMANI, CATERINA MAMMI, VINCENZO MARZOLLA
PATOFISIOLOGIA DELLA CACHESSIA E METABOLISMO DEL MUSCOLO SCHELETRICO	ELISABETTA FERRARO	LUCIA GATTA, ALESSANDRA FERACO, FRANCESCA MOLINARI, LAURA PONTECORVO, LAURA VITIELLO
NEUROBIOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE	DANIELA MERLO	ALESSIO CARDINALE, LEONARDO LUPACCHINI
PATOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE	MATTEO ANTONIO RUSSO	TANIA ARCANGELI, MICHELE AVENTAGGIATO, ELEONORA FOGLIO, FEDERICA LIMANA, MARCO PAPALE LAURA PELLEGRINI, ELENA PONTEMEZZO, GIOVANNI PUDDIGHI- NU, 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	FRANCESCO IBERITE, FRANCESCA MIRAGLIA
BIOINGEGNERIA DELLA RIABILITAZIONE	FRANCESCO INFARINATO	ANTONIA MONTERA, FEDERICA RIZZA, PAOLA ROMANO, (TIROCINANTI DI
EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE	PATRIZIA RUSSO	PALMA LAMONACA, EMILIO ROJAS
PATOLOGIE CRONICO-DEGENERATIVE	ANNA TERESA PALAMARA	IGNACIO CELESTINO, PAOLA CHECCONI, DOLORES LIMONGI
FARMACOLOGIA CELLULARE E MOLE- COLARE	CAROLINA MUSCOLI	LUIGINO ANTONIO GIANCOTTI, SARA ILARI, FILOMENA LAURO, VALENTINA MALAFOGLIA
NEUROFISIOLOGIA E NEUROBIOLOGIA MOLECOLARE	SALVATORE FUSCO	

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;
 - a tal fine si prosegue un'attività con alcune Aziende di Settore per la messa a punto di prototipi tecnologici con potenziale utilità nella riabilitazione dell'arto superiore nelle persone con lesione neurologica.
 - Si è inoltre intensificata una rete di collaborazione tra gli IRCCS di area Riabilitativa al fine di condividere progetti comuni per produrre rapidamente casistiche maggiormente significative. L'ambito in cui si sta sviluppando questa attività di ricerca da parte di questo network è quello della continuità assistenziale al momento della dimissione dall'ospedale per la riabilitazione tramite l'uso della tele-riabilitazione.

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;
- riabilitazione in realtà virtuale sia in teleriabilitazione che in ospedale;
- 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 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.

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 2016 ha terminato progetti già in corso negli anni precedenti e iniziato nuovi progetti. Nella maggior parte dei casi le cause della 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. 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 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. Ad oggi diverse sostanze chimiche sono state accreditate per un possibile ruolo neurotossico (solventi organici, fumi esausti, monossido di carbonio, metalli pesanti, erbicidi e pesticidi, ecc). Tali sostanze sono spesso presenti negli ambienti lavorativi. Lo scorso anno il gruppo ha concluso un vasto studio osservazionale caso-controllo (1166 soggetti inclusi) che comprendeva una attenta anamnesi occupazionale per ricostruire esposizioni professionali attuali e pregresse dei soggetti inclusi. I gruppi di occupazioni sono stati categorizzati e utilizzati per l'analisi di associazione con la presenza di MdP. Dal confronto delle distribuzioni di frequenza, si è osservato come alcune categorie risultino distribuite in maniera notevolmente asimmetrica fra casi e controlli, come i medici, i militari, i piloti di aereo ed il personale di volo, gli agricoltori, i lavoratori nel settore stampa, falegnameria e calzaturiero. Si è pertanto iniziato uno studio volto ad analizzare con questionari mirati ed una approfondita anamnesi lavorativa il rischio occupazionale (professioni e sostanze di esposizione) in 112 soggetti (casi e controlli) che appartengono alle categorie lavorative emerse come a rischio.

Riguardo la "quantificazione" dei sintomi della MdP, al giorno vengono utilizzate diverse scale di valutazione clinica: MDS-UPDRS (sintomi motori), mAIMS (movimenti involontari), MoCa (aspetti cognitivi), ma sono estremamente lunghe da somministrare e spesso non riflettono la complessità della malattia dei pazienti. E' sembrato necessario creare una nuova scala di valutazione che permetta di mettere in risalto la complessità della MdP prendendo in considerazione i sintomi cardinali, i sintomi non motori e i sintomi dovuti alle complicanze del trattamento. La Parkinson's Disease Composite Scale (PDCS) è stata creata come uno strumento di valutazione rapida e semplice, che permette di avere un'impressione immediata della severità di malattia e potrà essere utilizzato negli ospedali

come punto di riferimento per la valutazione del paziente parkinsoniano. I sintomi presenti nella scala sono quelli che secondo la pratica clinica e l'esperienza dei pazienti, segnalano la gravità della malattia e il suo impatto sulla qualità della vita. Nel corso di questo anno è stata eseguita la validazione della scala PDCS in 100 pazienti.

Riguardo l'importanza di strumenti riabilitativi innovativi per il trattamento multifunzionale (farmacologico e riabilitativo) della MDP, è stato intrapreso uno studio che ha utilizzato il Taping Neuromuscolare. Questa innovativa applicazione di un nastro, si basa sulla stimolazione eccentrica della cute, del tessuto muscolare, sistema linfatico e vascolare migliorandone le loro funzioni. Il Taping Neuromuscolare fornisce un allungamento passivo attraverso l'applicazione di un nastro elastico con stimoli eccentrici favorendo la flessibilità e la coordinazione e migliorando il movimento. Si sostiene che gli effetti possano essere dovuti ai meccanismi di feedback sensoriali e propriocettivi. Si è intrapreso uno studio per verificare l'effetto del tape neuromuscolare sul dolore in pazienti con MdP con disturbi della postura e della deambulazione. Le performance motorie, posturali e del cammino sono state analizzate tramite metodica di analisi del cammino mediante Gait Analysis (BTS Milano) effettuata all'inizio e alla fine trattamento; sono stati arruolati 23 casi e 24 controlli che termineranno le valutazioni nel corso del 2017.

Si è proseguito uno studio di tipo osservazionale prospettico in un gruppo di pazienti con MdP che ha 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, e continuerà nel 2017.

Si è concluso lo studio che si proponeva 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 MdP 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. Sono stati valutati con questo questionario 151 pazienti. Tenendo conto che il fenomeno della disfagia rappresenta un rilevante outcome sfavorevole a livello personale e sociale delle persone affette da MdP e PSP, è proseguito uno studio in cui ci si proponeva di monitorare il funzionamento del distretto orale su un campione di pazienti con MdP e PSP che manifestavano 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. Infine, si è conclusa 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 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.

Dispositivo medico recante marcatura CE, posto in commercio e sperimentato nella stessa indicazione d'uso prevista dal marchio CE; numero di banca dati del dispositivo è 576439; dati del fabbricante sono: Ecker Technologies Sagl, vicolo Nassetta 2, 6900 Lugano, Svizzera, Partita IVA CHE-411.255.977, Registro delle Imprese di Lugano con il CH501.4.015.634-7; Denominazione commerciale: Gondola; Codice: EK-01; Categoria del dispositivo: 2; Classe di Rischio: 2°. Pazienti che hanno utilizzato Gondola: 38 (assistenziale)

Nel corso di questo anno si 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 2016 è di 10 nuovi soggetti affetti da PSP.

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

Anche nell'anno 2016 l'Area ha aderito alla "Giornata Nazionale della Malattia di Parkinson", promossa dall'Accademia Limpe-Dismov.

Questo evento è nato otto anni fa con l'obiettivo di sensibilizzare l'opinione pubblica nei confronti di questa diffusa malattia neurodegenerativa.

In questa giornata medici specialisti si mettono a disposizione presso le Strutture che aderiscono all'iniziativa con incontri e iniziative di vario genere, volte a fornire una maggiore conoscenza della malattia.

Il team di professionisti ha deciso di scendere in piazza portando la conoscenza del Parkinson anche al di fuori delle mura dell'ospedale, avvicinandosi sia a chi il Parkinson lo vive ogni giorno, sia a chi invece non lo conosce.

L'appuntamento con l'equipe di ricerca dell'IRCCS San Raffaele Pisana ha avuto luogo venerdì 25 Novembre 2016 nella prestigiosa sede del MAXXI - Museo Nazionale delle Arte del XXI secolo.

I medici e i ricercatori sono stati a disposizione di pazienti e familiari per dare informazioni sulla malattia di Parkinson.

Grazie alla preziosa collaborazione con l'Accademia delle Belle Arti di Roma, quest'anno l'incontro si è accompagnato ad una mostra di opere realizzate dagli studenti dell'Accademia, dal titolo "Elogio della Lentezza".

In questa occasione è avvenuta la presentazione del libro dedicato ai pazienti: "Slow life – manuale pratico per vivere meglio con il Parkinson" e il professore Stocchi ha concluso la giornata con aggiornamenti sulle nuove prospettive di cura.

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 2014 è di 80 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 neuropsicologici 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 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. È 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****M. BISCEGLIA, V. CONTI,
S. DI TORO, A. ZARZANA,
E. LEMONTZI, C. POZZU-
TO, A. SCIANNAMEA**

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.

L'Area inoltre pianifica e conduce trials di ricerca clinica sponsorizzata ed è altresì impegnata sul fronte della Formazione aziendale ed ECM oltre che in attività di fund raising.

AREE DI RICERCA

**AREA DI RIABILITAZIONE
CARDIOVASCOLARE,
TELEMEDICINA
E E-HEALTH**

RESPONSABILE

MAURIZIO VOLTERRANI

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 comorbidità 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.

AREE DI RICERCA

**CENTRO DI RICERCA
CLINICA
E SPERIMENTALE**

RESPONSABILE

GIUSEPPE ROSANO

STAFF

**A. ANELMI, 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. MASTRAN-
TONI, R. MELCHIONNA,
G. NASSO, N. PUNZO, I.
SPOLETINI, 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 comorbidità 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. L'Area comprende 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) laboratorio di Epidemiologia Molecolare e b) 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 (Broncopatia cronica ostruttiva) e la patologia cardiovascolare.

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. 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.

Gli interessi scientifici del gruppo includono gli aspetti di potenziale trasferibilità (tecnologica e gestionale) verso il Sistema Sanitario Regionale. 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.

L'area di Ricerca ha espresso inoltre un importante impegno nel campo della geriatria, con particolare attenzione alla appropriatezza delle prescrizioni farmaceutiche negli anziani.

Un progetto real-world, in collaborazione con tre RSA della rete San Raffaele, si è concluso nel corso del 2016, con un lavoro sottomesso per la pubblicazione. Lo studio consiste in una sperimentazione sugli effetti derivanti dalla somministrazione dell'estratto del Ginkgo Biloba (IDN 5933) in pazienti residenti nelle suddette strutture (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03004508). L'obiettivo primario è stato 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. L'obiettivo secondario è stato di compiere 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. Nel corso del 2016 sono stati completati il reclutamento dei pazienti e l'intero studio. I risultati dello studio saranno pubblicati nel corso del 2017.

All'interno dell'Area, l'attività del gruppo di Epidemiologia Clinica e Biostatistica si è prevalentemente concentrata sull'attività di supporto metodologico a realtà del San Raffaele o esterne, incluso varie realtà internazionali. Fra le realtà interne sono stati analizzati e pubblicati studi con le strutture di Riabilitazione Respiratoria, Cardiologica, e Neurologica. Con l'Area di ricerca sul Parkinson e i disturbi del movimento, sono stati lanciati studi epidemiologici sul ruolo della familiarità e dei fattori di rischio occupazionali in pazienti affetti dalla Malattia di Parkinson.

Con l'Area di ricerca sulle Cefalee e dolore neuropatico sono stati analizzati datasets clinici di pazienti con cefalea oltre alla stesura di un lavoro riguardante il fenotipo dell'emigrania condotto su 757 pazienti.

A) Laboratorio di Epidemiologia Clinica e Molecolare

Nel corso dell'anno si sono conclusi e sono proseguiti vari studi di popolazione. E' 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 Micronucleus) 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. 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 è 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 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").

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. 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 nel 2016 la 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).

Nel 2016 sono stati convocati gli attori impegnati in questo processo ed è stata svolta regolarmente l'indagine di prevalenza Infezioni ospedaliere.

AREE DI RICERCA

**BIOTECNOLOGIE
AVANZATE**

RESPONSABILE

IORELLA GUADAGNI

STAFF

**D.DELLA MORTE,
P.FERRONI, F. LA FARINA,
R.PALMIROTTA, M. G.
VALENTE**

Le malattie cronicodegenerative rappresentano uno dei problemi più visibili di salute pubblica, a causa degli elevati valori di prevalenza ed incidenza nella popolazione e per la notevole complessità della loro gestione clinica, dovuta anche alla possibile contemporanea presenza di comorbidità. Per tali motivi, si sente sempre più forte l'esigenza di introdurre nuovi strumenti che permettano l'attivazione di piani di prevenzione finalizzati ad introdurre nella pratica clinica nuovi strumenti di medicina predittiva che permettano, da una parte, la valutazione del rischio individuale, dall'altra, l'adozione di protocolli diagnostici-terapeutici-riabilitativi che migliorino la qualità e l'appropriatezza della gestione clinica della malattia e delle sue complicanze.

In questo complesso ed articolato contesto, l'innovazione nei processi clinici (caratterizzata dalla personalizzazione dei processi di cura per diagnosticare precocemente eventi avversi e per ottimizzare il trattamento), e l'innovazione nei sistemi e nelle metodologie per l'integrazione, gestione ed elaborazione dei dati biomedici e clinici (dal dato genetico, cellulare, tissutale, a quello di organo, di apparato e di sistema) rappresentano le basi fondamentali per lo sviluppo e l'implementazione di programmi assistenziali innovativi. Tali considerazioni sono ancor più evidenti alla luce della rapida crescita cui si è assistito negli ultimi anni della quantità di dati biologici, biomedici ed epidemiologici prodotti non solo mediante le tecnologie "omics", ma anche attraverso l'impiego di fascicoli sanitari elettronici, che rappresentano una fonte generosa di informazioni per una medicina predittiva (big-data). Tuttavia, questa ampia disponibilità pone nuove sfide in termini di gestione ed analisi dei dati, superando il concetto di "campionamento statistico" a favore della ricerca euristica di correlazioni tra fenomeni per la costruzione di modelli predittivi. Ecco quindi che entrano in gioco nuove tecnologie, tra cui il metodo dell'apprendimento automatico – machine learning – grazie al quale è possibile estrapolare nuove informazioni e/o individuare correlazioni nascoste che sarebbero altrimenti difficili da individuare perché ancora sconosciute.

In tale contesto, si collocano i progetti di ricerca afferenti all'Area di Biomarker Discovery e Biotecnologie Avanzate (BioDAT). Nel corso dell'anno 2016, grazie alla disponibilità di un numero significativo di campioni biologici conservati nella BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (Progetto BioBIM) e grazie anche alle collaborazioni attive con alcune prestigiosi centri di ricerca statunitensi (National Institutes of Health – Bethesda, Department of Neurology, Miller School of Medicine, University of Miami) è stata completata una serie di studi disegnati allo scopo di valutare l'impatto di alcuni biomarcatori tradizionali o innovativi in patologie cronicodegenerative. Alcuni di questi studi hanno riguardato l'analisi del ruolo della componente genetica nella predisposizione all'aterosclerosi e, di conseguenza, all'invecchiamento vascolare e allo sviluppo di malattie cerebrovascolari. Altri studi hanno, invece, riguardato il comportamento di alcuni biomarcatori tradizionali metabolici, infiammatori o di stress ossidativo quali parametri predittivi da impiegare in un contesto di medicina predittiva. Grazie all'ampia mole di informazioni raccolte, è stato messo a punto e validato un modello algoritmico basato su tecniche di machine learning/random optimization applicabile a diversi contesti di medicina predittiva.

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 etiopatogenetici, 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,**

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 e la realtà virtuale, 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 all'utilizzo di moderne tecniche di analisi sviluppate 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 di 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
ROMANO****TIROCINANTI: 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 traslazonalità 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, nel 2016 ha contribuito:

- alla definizione delle caratteristiche e all'ottimizzazione del design e della funzionalità e della valutazione dell'accettabilità e dell'effetto clinico potenziale del prototipo di strumentazione multisensoryizzata 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 e alla validazione in ambito domiciliare. (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);
- alla gestione e definizione della sperimentazione clinica del progetto ACTIONPARK, Action observation therapy: a chance for Parkinson Disease patients of improving mobility through a home-based training."

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
- Stelar 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 sono stati svolti nel 2016 cinque 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).
- Strumenti e strategie per l'acquisizione e l'analisi avanzata dei segnali elettroencefalografici: metodi per la valutazione strumentale dei correlati neurali della neuroriabilitazione (in collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 5 mesi).
- Riabilitazione robotica dell'arto superiore: Analisi dei dati cinematici e dinamici durante sessioni di terapia riabilitativa in pazienti con patologie neurologiche (in collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 2 mesi).

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'innescamento 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 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: 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, cardiovascolari 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.

La ricerca ha l'obiettivo di caratterizzare i tessuti cerebrali di pazienti adulti con epilessia farmaco-resistente e pazienti pediatrici con malformazioni dello sviluppo cerebrale, quali sclerosi tuberosa (TSC), displasia corticale (FCD) e sindrome di Down (SD). In particolare, l'interesse è volto a studiare le proprietà funzionali dei recettori GABA/AMPA in questi tessuti e confrontarli con tessuti di controllo da autopsie in modo da individuare meccanismi che possano contribuire a spiegare l'alta incidenza di crisi epilettiche in questi pazienti. Questa parte della ricerca è svolta in collaborazione con il Dipartimento di Neuropatologia dell'Università di Amsterdam che fornisce i tessuti.

B. Funzione di recettori nicotinici muscolari in pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA). L'obiettivo della ricerca è studiare se e come il recettore nicotinico muscolare di pazienti affetti da SLA possa contribuire alla progressione della malattia nonché a comprendere le differenze molecolari esistenti nella composizione del suddetto recettore che siano in grado di spiegare la sua alterata funzionalità nelle fibre muscolari di questi pazienti. Viene, inoltre, 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. Questa parte della ricerca è svolta in collaborazione con il Centro SLA dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Umberto I di Roma e con l'Irvine University della California.

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 del 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 disturbi caratterizzati da perdita della massa muscolare. 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. 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. Si studierà il possibile coinvolgimento di queste molecole in collaborazione con il gruppo del Laboratorio di Patologia molecolare, cellulare e ultrastrutturale.

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.

Modulazione del metabolismo al fine di ridurre l'atrofia muscolare e la cachessia indotte dallo scompenso cardiaco: uno studio preclinico.

Quando lo scompenso cardiaco è associato alla cachessia, l'efficacia dei trattamenti per lo scompenso si riduce notevolmente e i pazienti hanno una prognosi devastante, indipendentemente dalla frazione di eiezione sinistra. L'eziologia e la patofisiologia della cachessia non sono note e non ci

sono trattamenti adeguati per evitare la perdita di peso.

Visto l'effetto simil-esercizio fisico individuato per il modulatore metabolico trimetazidina (TMZ) e visto che l'esercizio fisico è una delle poche terapie che abbia un certo effetto nel limitare la cachessia cardiaca, l'obiettivo di questo studio è analizzare, in collaborazione con l'Università Magna Graecia (CZ), il ruolo della TMZ in un modello murino di cachessia cardiaca definito TAC (costrizione aortica transversa). Ci si focalizzerà sullo studio dell'autofagia.

Ruolo della proteina apoptotica Apaf1 nel differenziamento muscolare.

Apaf1 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 Apaf1; infatti, è dimostrato che Apaf1 media il corretto funzionamento del centrosoma e che svolge un ruolo nella neurogenesi.

Visto che il centrosoma e l'organizzazione del citoscheletro sono cruciali anche per il differenziamento muscolare, con questo progetto ci si è proposti di studiare la possibile implicazione di Apaf1 nello sviluppo muscolare, in collaborazione con il Danish Cancer Society Research Center, di Copenhagen.

Role of the adipocyte mineralocorticoid receptor in the development of sarcopenic obesity.

Giovani Ricercatori: PI Alessandra Feraco

L'obesità sarcopenica rappresenta una condizione patologica complessa caratterizzata dalla compresenza di obesità e sarcopenia (perdita di massa muscolare) ed è spesso associata allo sviluppo di osteoporosi, in particolar modo nei soggetti anziani.

Il progetto mira a stabilire se l'aumento di espressione delle citochine pro-infiammatorie indotto dall'attivazione del Recettore Mineralcorticoide (MR), nei soggetti obesi, induca un danno a livello del muscolo scheletrico e del tessuto osseo. Questo progetto viene sviluppato in collaborazione con il gruppo del Laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare e con il gruppo dell'Università Foro Italico.

Nell'ottica di trovare una strategia terapeutica per la protezione del paziente complesso contro le infezioni virali emergenti (in particolare causate dai flavivirus incluso il virus Zika), è stata recentemente attivata una nuova collaborazione con l'Università La Sapienza per lo studio dell'effetto dell'infezione da parte dei flavivirus sulla maturazione delle cellule dendritiche. Queste infezioni vengono contrastate dai soggetti sani ma non dai soggetti immunocompromessi o fragili come il paziente anziano e il paziente complesso con plurimorbosità. I flavivirus verranno incubati con le cellule dendritiche immature e viene valutata la capacità delle dendritiche di produrre interferoni responsabili della risposta antivirale e di up-regolare marcatori di maturazione necessari alla corretta attivazione del sistema immunitario.

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 cronic- degenerative, 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 volte alla identificazione dei meccanismi responsabili del danno d'organo nei pazienti con malattie croniche evolutive e particolarmente quelle cardiovascolari e alla indagine dei 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, l'obesità e la sindrome metabolica.

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 comorbidità cardio-respiratorie ed endocrino-metaboliche 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.

LABORATORIO

**PATOLOGIA
MOLECOLARE E
CELLULARE**

RESPONSABILE

MATTEO ANTONIO RUSSO

STAFF

**C. LANE ALVES,
T. ARCANGELI,
E. DE SANTIS,
E. FOGLIO, F. LIMANA,
E. PONTEMEZZO,
G. PUDDIGHINU,
S. SALADINI, L. SANSONE,
M. TAFANI**

Le principali competenze del Laboratorio di Patologia Molecolare e Cellulare comprendono le metodologie di base di biologia molecolare e cellulare, tra cui 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 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 progetti che esplorano i meccanismi di recupero di funzioni perdute, 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 delle 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, essendo coinvolte nella risposta metabolica, nell'invecchiamento, nei tumori, ecc... ed essendo modulate dall'attività fisica, costituiscono un importante biomarcatore molecolare degli outcome della riabilitazione fisica. Il gruppo di lavoro sta esplorando 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 non solo strutturale (come nel disco Z e nelle densità fusiformi), ma anche come coattivatori o corepressori trascrizionali, potendo essere traslocati nel nucleo, per cui influenzano potentemente l'espressione di geni e la sintesi di proteine coinvolte nel mantenimento e nella riparazione delle cellule e negli effetti benefici della riabilitazione. Infatti, alcuni membri di questa famiglia proteica sono noti come meccanosensori sensibili a stimoli meccanici, inclusi quelle della riabilitazione fisica e della gravità.

- La terza classe studiata comprende le miopalladine e le 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 perdute:

- E' stata osservata una stretta interazione tra sirtuine e CSRP 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.).

Infine, in collaborazione con il prof. Michele Carbone dell'Hawaii University Cancer Center e il prof. Alessandro Gualtieri, mineralologo dell'Università di Modena e Reggio, è in corso un progetto di data-base per le fibre inorganiche possibilmente coinvolte in patologie umane. La dott.ssa Laura Pellegrini è la responsabile del progetto.

LABORATORIO**EPIDEMIOLOGIA
MOLECOLARE****RESPONSABILE****PATRIZIA RUSSO****STAFF****A. DEL BUFALO
P. LAMONACA**

Negli ultimi decenni si è assistito a un incremento delle possibilità offerte dalle tecnologie “high throughput” in termini di qualità, quantità e oltre che ottimizzazione della “misura” molecolare e cellulare a livello, 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 la broncopneumopatia cronica ostruttiva (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.

Si ha la possibilità di ottimizzare e personalizzare le strategie terapeutiche riabilitative dei pazienti. Sono studiati metodi per l'individuazione di nuovi farmaci o terapie, marcatori prognostici e di risposta, e test tossicologici e funzionali.

Nel corso del 2016 si è attivata la proposta è uno studio interdisciplinare “proof of concept” svolto da un gruppo clinico e di ricerca di eccellenza pionieristico nella Systems Medicine (SM) con l'obiettivo di fornire una conoscenza completa dello stato dell'arte della riabilitazione delle malattie non comunicabili [“Non-Communicable Diseases”: NCDs (malattie croniche cardiopolmonari e neurodegenerative)]. Il progetto sposta l'attenzione clinica e di ricerca verso la medicina personalizzata paziente-diretta, adottando i fenotipi correlati alla malattia a un quadro di ri-classificazione generale delle stesse. Il progetto offre la possibilità di adattare gli strumenti di SM alla real life, convalidando l'insieme delle variabili da raccogliere, misurandone l'impatto e quindi modificando le terapie in base ai fattori individuali. Sono sviluppati modelli di bioinformatica per l'interpretazione dei dati e per ponderare il ruolo del “profiling molecolare in ambito clinico”. L'innovazione filosofica/tecnica, intrinseca agli approcci sistemici, richiede uno sforzo di intensa diffusione. Questo progetto traslazionale genererà risultati e programmi di gestione che saranno trasferiti ai diversi soggetti interessati.

Il progetto affronta alcune delle criticità nella gestione di pazienti affetti da NCDs.

La realizzazione di programmi di riabilitazione integrata è particolarmente importante. La riabilitazione integrata è un intervento globale e multidisciplinare, costruito sull'evidenza dei benefici ottenuti dai pazienti in base a parametri di efficacia ed efficienza, 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.

La comorbidità in questi pazienti rappresenta una sfida clinica nei programmi di riabilitazione personalizzati.

Cambiamenti giornalieri dei sintomi, tolleranza agli esercizi, risposta ai farmaci e qualità della vita correlati dopo riabilitazione integrata sono ampiamente diversi e non tutti i pazienti beneficiano allo stesso modo della riabilitazione.

La valutazione integrata della efficacia della riabilitazione è complessa richiedendo un forte approfondimento iniziale e una attenta valutazione degli outcomes. Le classiche caratteristiche al baseline non possono predire l'intensità della risposta alla riabilitazione poiché non possono risolvere la complessità dell'interrelazione tra geni, stili di vita e ambiente che determinano le diverse risposte al trattamento di riabilitazione. La valutazione psicocognitiva svolge un ruolo critico nelle NCDs e deve essere considerata parte integrante della riabilitazione.

La prospettiva innovativa della medicina P5 ((Predittiva, Personalizzata, Preventiva, Partecipatoria e Psico-cognitiva), è affrontata con un “System Oriented Aspect”.

I pazienti sono parte di uno studio di fattibilità di un approccio di Systems Medicine in real life medicine. Gli studi di real life sono un passaggio fondamentale per validare i dati ottenuti dai trial clinici randomizzati che richiedono criteri stringenti di inclusione/esclusione e sono condotti in centri di eccellenza nazionali/internazionali. Di solito è coinvolto l'1% della popolazione con una data malattia, ma i risultati ottenuti sono applicati al 100% dei pazienti. Come esempio di real life medicine il Salford Lung Study è stato designato per una vasta real-world population di pazienti con BPCO in condizioni di “normal care”.

La Real Life o Real World Medicine è raccomandata dalla European Medicines Agency e rappresenta uno strumento indispensabile dell'eccellenza nella pratica clinica e conseguentemente determina una migliore qualità delle cure erogate.

La possibilità di disegnare un profilo personalizzato di un paziente responder o non responder alla riabilitazione, in accordo alla moderna teoria della Medicina P5 consentirà la personalizzazione della terapia e sarà immediatamente traslato alla clinica.

Per la salute si assiste da sempre al dilemma tra l'impiego di risorse per la cura, la prevenzione o l'individuazione dei soggetti rispondenti alla terapia. Un approccio di SM impone di investire maggiori risorse nell'immediato, aggravando la spesa sanitaria, ma portando a ridurre sensibilmente la spesa sanitaria nel medio/lungo periodo, investendo parte del risparmio in riqualificazione della spesa e dando così maggiori risposte ai bisogni assistenziali - in accordo al BES- ad oggi ancora non soddisfatti. Questo impone di dover “re-ingegnerizzare” l'intero SSN, essendo essenziale formare una nuova classe di professionisti della salute, orientati alla persona e non solo alla singola patologia/patologie, e di trasformare, mettendole in rete, le strutture - sanitarie e non - già esistenti sul territorio per educare attivamente i cittadini alla tutela della propria salute. E' inoltre utile comunicare adeguatamente ai cittadini il beneficio di medio termine di un intervento di questo genere, per sensibilizzare l'opinione pubblica ad apprezzare il valore di un tale intervento a prescindere dai risultati immediati. Il nuovo paradigma dovrà quindi ambire a spostare risorse economiche e umane dalla cura della malattia alla “cura dell'uomo”.

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 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.
3. Generare neuroni e progenitori neurali chimicamente derivati da fibroblasti di pazienti affetti da malattie neurodegenerative per test farmacologici e studi di medicina personalizzata.
4. Applicare nuove strategie immunoterapeutiche specifiche per la malattia di Alzheimer basate sull’utilizzo di anticorpi intracellulari diretti contro oligomeri del peptide beta amiloide in specifici compartimenti cellulari.

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

LABORATORIO**NEUROBIOLOGIA
MOLECOLARE E
CELLULARE****RESPONSABILE****STAFF****DANIELA MERLO**

Il dolore cronico rimane ancora una sfida importante della medicina moderna; è una condizione che affligge milioni di persone in tutto il mondo. Significative evidenze collegano il superossido, l'ossido nitrico e il perossinitrito (radicali altamente reattivi) al dolore di diversa eziologia. I nostri dati, infatti, hanno evidenziato come il perossinitrito sia implicato nel dolore acuto, nell'iperalgia e nella tolleranza antinocicettiva in seguito alla somministrazione cronica di morfina. Questi eventi sono legati alla nitratura degli antiossidanti endogeni, alla loro inattivazione e alla formazione continua di radicali liberi con conseguente amplificazione della risposta iperalgesica. Recenti studi, inoltre, hanno dimostrato come le strategie terapeutiche dirette contro questi radicali siano in grado di prevenire e revertire patologie associate alle diverse tipologie di dolore.

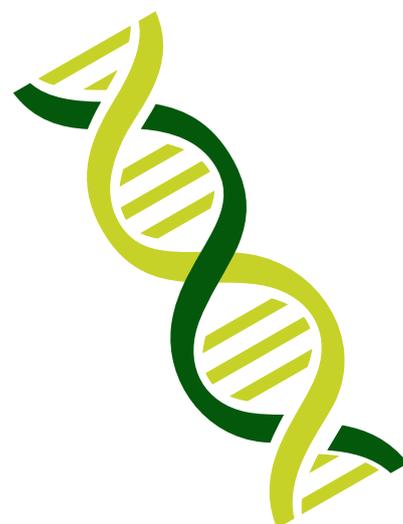
Il controllo fisiologico del dolore, che è una delle condizioni che limitano di più la produttività e ne peggiorano la qualità della vita, rappresenta un'ovvia priorità ponendosi tuttavia una serie di problemi di management strettamente terapeutico che ne limitano, abbastanza spesso, l'efficacia.

Nonostante gli anti-infiammatori non steroidei (FANS) rappresentino la classe di farmaci più comunemente utilizzata per il trattamento degli stati dolorosi acuti di lieve/moderata intensità, spesso questi si rivelano poco utilizzabili nel trattamento degli stati cronici a causa degli effetti collaterali ad essi associati.

Nasce quindi l'esigenza di trovare nuovi approcci terapeutici efficaci per la gestione del dolore.

Gli obiettivi principali del laboratorio consistono nel produrre solidi dati sperimentali che rafforzino le prime evidenze sull'azione dei radicali liberi nello sviluppo del dolore acuto e post-operatorio (osservato in diversi modelli di dolore) ed identificare nuovi farmaci, sia di sintesi che naturali, per lo sviluppo di terapie più efficaci e sicure.

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 con 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 fattori 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**

La riabilitazione del cammino con esoscheletro indossabile EKSO: aspetti clinici e neuromuscolari

Il recupero del cammino è uno dei principali obiettivi della riabilitazione post-ictus e la terapia robotica ha mostrato dei risultati incoraggianti (Mehrholz et al. 2013)(Sale et al. 2012). Recentemente, per il riapprendimento assistito della locomozione è stato commercializzato un esoscheletro indossabile (Ekso™), permettendo al paziente di camminare controllando il robot spostando lateralmente il proprio corpo (Mertz 2012). Tuttavia, la letteratura scientifica non presenta studi clinici sulla riabilitazione del cammino mediante esoscheletro.

Lo studio si prefigge di:

- osservare eventuali modificazioni cliniche e strumentali nel gruppo che esegue una rieducazione del cammino col robot EKSO rispetto a chi esegue un trattamento tradizionale
- individuare pattern specifici neuro-fisiologici elettromiografici (EMG) ed elettroencefalografici (EEG) al fine di individuare fattori prognostici rispetto al recupero del cammino

Lo studio è uno studio Randomizzato Controllato (RCT) e multicentrico (IRCCS San Raffaele Pisana – Roma; Oras Motta Di Livenza –Treviso; Fondazione Centri di Riabilitazione Padre Pio Onlus – San Giovanni Rotondo; Villa Beretta – Ospedale Valduce – Costa Masnaga; Negrar – Verona; Dipartimento Riabilitazione – Foligno e SCRIN – Trevi; Istituto Santo Stefano di Porto – Potenza Picena; e Istituto Santo Stefano –Villa Adria - di Ancona), e prevede complessivamente l'arruolamento di 162 pazienti reclutati entro 90 giorni dall'evento acuto con emisindrome piramidale da lesione cerebrale. I soggetti vengono suddivisi in un gruppo sperimentale (EG), che è sottoposto a trattamento con Ekso™, e in uno di controllo (CG), che viene sottoposto a una tradizionale rieducazione del cammino over ground per lo stesso durata di tempo (30'). Entrambi i trattamenti (min 12 – max 20 sedute) hanno una durata da minimo 4 settimane a massimo 6.

I pazienti vengono valutati al momento dell'arruolamento (T0), all'inizio del trattamento (T1), alla fine dello stesso (T2), a distanza di un mese (T3) e dopo tre mesi (T4) dalla fine del trattamento. A T0 sono registrati i dati demografici e clinici. A T1 e T2 vengono:

- somministrate le scale funzionali (Modified Barthel Index, Modified Ashworth Scale, Motricity Index, Trunk Control Test, Functional Ambulation Classification, 10-Meter Walk Test, 6-Minute Walk Test – outcome primario, Time Up and Go test, Walking Handicap Scale, Numeric Rating Scale per tollerabilità-dolore, Scala Valutazione Terapia Robotica);
- acquisiti i segnali EMG degli arti inferiori (bicipite femorale, retto femorale, tibiale anteriore, gastrocnemio mediale): durante la posizione eretta ed il cammino (ove possibile); a soggetto seduto durante la dorsi-flessione di caviglia (a ginocchio flesso ed esteso) e durante la triplice flessione dell'arto inferiore; e durante il primo uso dell'Ekso™.
- acquisiti i segnali EEG: durante la posizione eretta ad occhi aperti e chiusi (ove possibile); a soggetto seduto ad occhi aperti e chiusi e durante la dorsi-flessione di caviglia (a ginocchio flesso ed esteso) e durante la triplice flessione dell'arto inferiore.
- acquisita la cinematica e dinamica del mantenimento della posizione eretta (occhi aperti e chiusi) e del cammino (gait analysis) ove possibile.

I segnali acquisiti vengono elaborati con l'obiettivo di comprendere gli effetti e l'efficacia della terapia con Ekso™ in termini di elettrofisiologici, cinematici e dinamici.

A T3 e T4 i pazienti sono valutati con: Modified Barthel Index, Functional Ambulation Classification, Walking Handicap Scale, Numeric Rating Scale per tollerabilità-dolore.

I risultati ottenuti nel 2016 hanno riguardato la sperimentazione della riabilitazione del cammino di 14

pazienti post-ictus subacuti: 5 (età: 66 ± 10) sono stati inseriti nel gruppo di controllo (CG) e 9 (età: 64 ± 10) nel gruppo sperimentale (EG). I pazienti sono stati sottoposti a 15 sessioni di terapia (1 ora per 3 volte a settimana) di riabilitazione del cammino di tipo tradizionale (CG) o tramite Ekso™ (EG). Le valutazioni cliniche sono state eseguite a T1 e T2. Per rilevare differenze significative tra i gruppi è stato utilizzato il Wilcoxon's test ($p < 0.05$) tra i dati di T1 e T2. I risultati preliminari hanno mostrato miglioramenti significativi in entrambi i gruppi nel 6mWT ($p = 0.05$) e TUG ($p = 0.01$). EG ha migliorato il MI del lato emiplegico ($p = 0.02$), TCT ($p = 0.01$), FAC (0.01) e WHS ($p = 0.03$). Il CG invece ha migliorato solo il 10mWT ($p = 0.04$).

L'attività di ricerca attesa per l'anno 2017 prevede lo studio di un numero più ampio di pazienti e l'analisi del segnale EMG e EEG al fine di individuare fattori prognostici rispetto al recupero del cammino.

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 IES S.r.l. (Ingegneria Elettronica Sistemi) e il Dr. Francesco De Pisi per poter realizzare un dispositivo di carattere biomedico. Il progetto è stato presentato nell'ambito di un Avviso Pubblico per "Progetti di innovazione delle micro e piccole imprese". 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 implementate nel sistema di controllo sono stati:

- movimento di flesso-estensione a controllo manuale;
- movimento di flesso-estensione in base alla contrazione muscolare di bicipite e tricipite;
- movimento di flesso-estensione secondo la pressione esercitata dal braccio interno all'ortesi (forzatura);
- movimento di flesso-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 flesso-estensione in base alla pressione esercitata dal braccio interno sull'ortesi (forzatura);
- movimento di flesso-estensione in base alla contrazione muscolare di bicipite e tricipite;
- movimento di flesso-estensione da contrazione muscolare e forzatura combinate;
- movimento per riabilitazione con ripetizioni controllate in velocità, angoli, pause, ecc.;
- movimento di flesso-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 permette 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'Istituto San Raffaele, non appena il prototipo sarà idoneo ad essere utilizzato sul paziente.

Al 31 Dicembre 2016 il prototipo è ancora in stand-by, perché non ha ancora ricevuto il certificato di idoneità da parte degli organi competenti. Il progetto continuerà nell'anno 2017 con la presentazione del prototipo al Comitato etico per il successivo collaudo nella pratica clinica.

Action observation treatment to improve cortical plasticity and upper limb functions in chronic stroke patients: a RCT study from basic neuroscience to traditional and home-based clinical rehabilitation

La plasticità neurale è uno dei fattori maggiormente implicati nel recupero funzionale post-ischemico; numerose evidenze scientifiche hanno infatti dimostrato che l'uso di un esercizio riabilitativo precoce (French et al. 2010), intensivo (Winstein et al. 2008) ripetitivo e correlato al contesto sia una strategia ottimale per promuovere l'apprendimento motorio (Rodgers et al., 2003; Kwallen et al., 2003). La riorganizzazione corticale finalizzata al recupero di funzione, specificatamente motoria, non si osserva solo nelle aree sensori-motorie danneggiate dall'insulto ischemico, ma anche in altre aree funzionalmente correlate ad esse, come le aree motorie omologhe controlesionali a quelle colpite (Rossini et al., 2007). Il sistema dei neuroni specchio è un sistema di accoppiamento osservazione-esecuzione che viene attivato durante l'osservazione di un'azione, l'apprendimento motorio e l'imitazione di un'azione (Rizzolatti 1996, 2005). Recenti studi hanno dimostrato la maggiore efficacia di un trattamento riabilitativo associato all'osservazione del movimento (Action Observation Task, AOT) rispetto alla sola terapia riabilitativa convenzionale (Ertelt D et Al., 2007; Franceschini et al., 2010, 2012, 2014). Pertanto la AOT è stata suggerita come possibile strumento per ripristinare le funzioni motorie all'arto superiore dopo ictus.

Gli obiettivi dello studio sono suddivisi in 2 fasi:

1) Studio preliminare: verificare in un gruppo di pazienti con ictus ischemico nel territorio della arteria cerebrale media e deficit motorio dell'arto superiore ed un gruppo di soggetti sani di pari età quale tipologia di immagini funzionali dell'arto superiore risulta essere più efficace in termini di attivazione del sistema neuroni a specchio valutata con elettroencefalografia (EEG) al fine di massimizzare l'efficacia della AOT.

2) Sperimentazione clinica preliminare: un gruppo di 5 pazienti sono trattati con terapia riabilitativa convenzionale combinata con l'osservazione del movimento (AOT) al fine di verificare la fattibilità della sperimentazione e la compliance, e di iniziare la raccolta dati sulla riorganizzazione plastica della corteccia sensori-motoria che si accompagna all'eventuale recupero motorio in tale gruppo. L'attività cerebrale viene valutata tramite l'acquisizione e l'elaborazione dei segnali EEG, con l'obiettivo di rilevare la sorgente dello stimolo elettrico.

12 soggetti con ictus (6 lesione dx e 6 lesione sx) e 6 persone sane sono reclutati e sottoposti, una sola volta, alla visione di un set di video sequenze contenenti diverse azioni funzionali dell'arto superiore. Durante l'esposizione alle video sequenze, l'attività elettrica celebrale è acquisita con EEG multicanale per comprendere quale tipo di stimoli visivi con azioni della vita quotidiana siano più efficaci nell'indurre un'eccitabilità motoria durante l'osservazione dell'azione.

L'EEG è acquisito con un sistema innovativo performante composto da 128 elettrodi (Geodesic EEG System 400 GES 400, Electrical Geodesics, Inc., USA). L'elaborazione dei segnali EEG viene condotta mediante software Matlab® (The Mathworks, Inc., Natick, Massachusetts, USA) in grado di filtrare gli artefatti oculari e muscolari e di calcolare l'ampiezza picco-picco del potenziale motorio evocato stimolando l'area motoria sia del lato affetto dall'ischemia cerebrale che dal lato controlaterale. La media delle latenze su ogni canale è valutata manualmente sul plot della media delle risposte. Viene poi calcolata per ogni latenza l'ampiezza picco-picco del segnale EEG rielaborato.

Un confronto dei ritmi EEG (desincronizzazione) tra i due gruppi e le diverse categorie di attività funzionali sono oggetto di indagine. Si valutano eventuali differenze di risposte tra persone affette da ictus e persone sane rispetto alle stesse azioni osservate. Inoltre la/le categoria/e più efficace/i viene successivamente selezionata per le prove globali di un successivo RCT.

Per la valutazione della menomazione e della capacità/performance dell'arto superiore emiparetico sono utilizzati i seguenti test: Fugl-Meyer Scale, Modified Ashworth Scale, Frenchay Arm Test, Box and Block score, Modified Bartel Index, Wolf Motor Function Test e Motor Activity Log.

L'attività del 2016 ha riguardato l'acquisizione EEG di 5 soggetti sani (età: 69±9) e di 2 patologici (di

(di 42 a 74 anni) a riposo (occhi aperti e chiusi) e durante la visione del set di video sequenze contenenti azioni funzionali dell'arto superiore.

L'attività di ricerca attesa per il 2017 riguarda lo studio di un numero più ampio di pazienti e l'analisi del segnale EEG.

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 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 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.

Risultati ottenuti:

Sono stati arruolati 757 emicranici (F/M 604/153) di cui 283 con UAs e 474 senza UAs. Centocinquanta 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 identificati con uno stato civile di coppia rispetto agli emicrania 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 e scarsamente esaurienti, effettuati per lo più su sport specifici (es. pallacanestro, corsa, etc) pertanto le basi scientifiche di riferimento, 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 conclusero 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 per le regolari visite di idoneità sportiva presso l'Istituto di Medicina e Scienza dello Sport del C.O.N.I. di Roma, a partire dal 1 settembre 2011.

Criteri di inclusione::

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

Criteri di esclusione

- a. Atleti non in grado di comprendere le procedure dello studio e di completare i questionari
- b. 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); di questi, in base allo studio delle schede con le caratteristiche cliniche del dolore è stato possibile dedurre che: 56 presentavano una 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 che al di fuori dell'esercizio fisico, 13 in associazione con la pratica sportiva o la competizione agonistica e 32 indipendentemente dalla pratica sportiva.

Non sono state riscontrate correlazioni tra la specifica pratica sportiva e l'incidenza della cefalea. Da aggiungere che dall'analisi non sono neanche risultate specifiche caratteristiche cliniche dell'emicrania negli atleti. A completamento del lavoro è stata effettuata anche una valutazione del profilo psicologico degli atleti.

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 cambiando grazie alla messa a punto dello stimolatore nVNS, acronimo di non invasive vagal nerve stimulation (nVNS). 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 (ICHD-3 beta A.1.1.1-A.1.1.2).

Lo scopo dello studio è quello di valutare, in una popolazione di soggetti con emicrania mestruale e/o emicrania correlata al periodo mestruale (ICHD-3 beta A.1.1.1-A.1.1.2), la risposta ad un 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 utilizzato, nello studio, come profilassi per il controllo degli attacchi nel periodo mestruale.

I soggetti reclutati hanno una età compresa tra 18 e 50 anni. I pazienti vengono valutati, prima di essere inseriti 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 si valuta, tramite questionario, la presenza di allodinia cutanea e tramite diario clinico e questionario MIDAS, vengono osservati i giorni di cefalea e la disabilità del paziente. Alla fine del periodo di utilizzo del GammaCore viene valutato, sempre tramite questionario, il grado di soddisfazione del trattamento. Prima del trattamento i pazienti partecipano, in piccoli gruppi, ad un training in cui viene spiegato il razionale della tecnica e come utilizzare il GammaCore; durante il training i soggetti 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 viene nuovamente valutato clinicamente, si prende 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.

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

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

La Malattia di Parkinson (MdP) 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 MdP avanzato. Gli studi che hanno descritto le caratteristiche cliniche considerando la classificazione Hoehn E Yahr (H&Y), fase 4 e 5, hanno dimostrato che il fenotipo del MdP cambia notevolmente nelle fasi avanzate e che i sintomi che maggiormente contribuiscono alla disabilità nella fase avanzata di malattia differiscono da quelle 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 MdP 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 dei «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 MdP diagnosticata e trattata da più di 20 anni
- individuazione dei sintomi che causano maggiore disabilità
- individuazione delle differenti disabilità

Il progetto prevede l'arruolamento in maniera consecutiva di un minimo pazienti, con MdP diagnosticata e trattata da più di 20 anni, afferenti al Centro Parkinson dell'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma. Le attività previste saranno svolte nel corso di un'unica visita. Per ogni paziente, si raccolgono le caratteristiche cliniche e farmacologiche (età all'esordio, durata di malattia, stadiazione H&Y, storia medica e farmacologica, deformità articolari e posturali ecc). Vengono somministrate le seguenti scale: UPDRS parte III ON-OFF, H&Y stage, UPDRS, NMS Quest (Non Motor Symptoms Questionnaire), Activities of Daily Living (ADL); Questionnaire motor fluctuations, MOCA test, BDI, PDQ 39. In questi 3 anni di studio, sono stati arruolati 27 pazienti (11 M, 16 F) con diagnosi di malattia di Parkinson idiopatica. La durata media di malattia è di 20 ± 3 anni, la media di età è di $71 \pm 4,5$ stadio H&Y $4 \pm 0,7$, dosaggio medio di levodopa 929 mg/day. Il punteggio medio del MOCA test è risultato di 18 ± 4 , evidenziando una moderata compromissione cognitiva. La maggior parte dei pazienti assume anche farmaci non dopaminergici: antidepressivi (30%), anti

colinesterasici (35%) e antipsicotici (40%).

2 pazienti effettuano infusione di duodopa, 1 paziente infusione di apomorfina sottocute.

L'analisi descrittiva dei dati ha evidenziato che 18 pazienti (66.6%) presentano deterioramento cognitivo; le allucinazioni sono presenti in circa 14 pazienti (51.8%). Disturbi della sfera urinaria sono presenti in 20 pazienti (74%). 16 pazienti (59.2%) presentano discinesie indotte da levodopa e 20 pazienti (74.0%) wearing off disabilitanti.

23 pazienti hanno avuto problemi di cadute, riportando almeno un episodio di cadute negli ultimi 12 mesi

Dei 27 pazienti, 20 necessitano di ausili per la deambulazione. Tutti i 27 pazienti vivono a casa, ma la maggior parte richiede la presenza di un care-giver (89%).

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.

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

La Malattia di Parkinson (MdP) 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 MdP 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 tra cui, soprattutto negli stadi avanzati, fattori quali 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 MdP che abbiano perso peso, comparandoli con un campione di soggetti con MdP che non riferiscono perdita di peso.

Gli obiettivi dello studio sono:

- Caratterizzazione della perdita di peso;
- Individuazione di caratteristiche cliniche predittive associate a perdita di peso;
- Analisi del fenomeno nei vari stadi di malattia;
- Correlazione tra perdita di peso e terapia farmacologica;
- Analisi di eventuali associazioni con abitudini alimentari;
- Individuazione di eventuali disfunzioni metaboliche o alterazioni dei parametri di laboratorio in esame.

Lo studio è di tipo monocentrico, osservazionale prospettico. Lo studio prevede l'arruolamento di:

- 20 pazienti afferenti al centro per lo studio della MdP e i disturbi del movimento (ambulatori e reparto di Riabilitazione Neuromotoria) dell'IRCCS San Raffaele Pisana con diagnosi di MdP 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;
- 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 un Emendamento al Protocollo, che prevede quanto segue:

- prolungamento del tempo di arruolamento (da 6 a 18 mesi) per arrivare al numero prefissato di controlli (pazienti con MdP, 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.

1. 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).
2. 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.

In questo secondo anno si è provveduto ad effettuare le visite di controllo (T1) per i soggetti appartenenti al gruppo dei casi. Hanno completato la seconda visita 12 pazienti; la 13a paziente effettuerà la visita di controllo nel 2017, ma avendo un BMI basso ha effettuato, come da Emendamento 1, la consulenza con il medico nutrizionista. Tre soggetti hanno ritirato il loro consenso (1 per impossibilità a raggiungere il centro a causa delle sue condizioni di salute, 2 per l'aggravarsi del deterioramento cognitivo già presente al baseline). Cinque soggetti erano invece stati istituzionalizzati nel periodo di tempo trascorso tra la prima visita ed il follow up (18 mesi).

Si è inoltre provveduto all'arruolamento di nuovi 7 controlli ma si è confermata la difficoltà nel loro reclutamento, in parte per le caratteristiche cliniche, in parte perché è stato difficile trovare soggetti che nel corso della loro malattia non avessero subito alcuna variazione di peso in relazione a eventi differenti (depressione, interventi chirurgici, introduzione di nuovi farmaci). Inoltre molti pazienti con durata di malattia sovrapponibile alla durata media di malattia dei casi arruolati riferivano una importante perdita di peso, elemento che denota l'importanza di questo fenomeno nei pazienti parkinsoniani in fase avanzata. A causa della scarsa motivazione dei soggetti e alla loro minore aderenza alle procedure del protocollo, si è deciso di effettuare una sola visita in questa popolazione.

Le caratteristiche cliniche dei casi al T0 e al T1 e dei controlli inclusi nello studio, sono riassunte nella Tabella che segue.

	CASI (N=21) T10	CASI (N= 12) T1	CONTROLLI (N=17)
ETA' (MEDIA ± DS)	70,19 ± 6.2		70.2 ± 8.45
SESSO (N)	10 M, 11 F	4 M, 8 F	13 M, 4 F
SCOLARITA' (MEDIA ± DS)	11.14 ± 4.47	-	11.7 ± 3.36
PATOLOGIE CARDIOVASCOLARI (%)	33	15.38	35
DIABETE (%)	4.7	7.69	5,88
PATOLOGIE GASTROENTERICHE (%)	14	11.76	0
ANNI DI MALATTIA (MEDIA ± DS)	12.09 ± 6	-	9.0 ± 3.82
TERAPIA CON LEVO-DOPA (%)	100	100	100
MG LEVO-DOPA/DIE (MEDIA ± DS)	655.95 ± 254.57	618.75 ± 263.09	517.64 ± 194,20
TERAPIA CON IMAO (%)	66	58.33	88.23
TERAPIA CON COMT-I (%)	57.1	25	47.5

TERAPIA CON DA (%)	38.1	41.66	41.17
TERAPIA CON AMANTADINA (%)	9.5	16.6	11.7
TERAPIA CON ANTIDEPRESSIVI/ANTIPSICOTICI (%)	23.8	25	5.88
TERAPIA PER LA DEMENZA (%)	9.5	16.6	5.88
HOEHN & YAHR (MEDIA ± DS)	2.8 ± 0.29	2.75 ± 0.58	2.52 ± 0.41
UPDRS TOTALE (MEDIA ± DS)	47.33 ± 13.65	51.16 ± 18.2	40.8 ± 14.51
AIMS (MEDIA ± DS)	5.25 ± 4.22 (N=20)	4.59 ± 3.85	3.46 ± 3.04 (N=9)
MOCA (MEDIA ± DS)	20.9 ± 5.21	22.0 ± 4.36	22 ± 4.92
BMI (MEDIA ± DS)	22.7 ± 4.16	23.93	26.66 ± 3.26
PESO PERSO (MEDIA ± DS)	13.82 ± 7.23	+ 4.51 (N= 6) - 1.63 (N= 6)	NA
MNA (MEDIA ± DS)	20.9 ± 3.95	22.9 ± 2.5	25.76 ± 1.9

I dati raccolti durante la seconda visita hanno evidenziato come 6 soggetti fossero stati in grado di recuperare il peso perso, nella maggior parte dei casi grazie alla sospensione di farmaci già noti per il loro effetto anoressizzante. Sei soggetti hanno invece continuato a perdere peso (-1.63 kg rispetto al T0). Si è inoltre evidenziato un peggioramento dell'UPDRS totale (+3.83 punti) e un deterioramento dell'assetto cognitivo, come testimoniato anche dal maggior utilizzo di farmaci per la demenza. Entrambi i dati concordano con quanto riportato in letteratura, dove il minore BMI è stato messo in correlazione con un peggioramento sia della sintomatologia motoria che di quella cognitiva dei pazienti parkinsoniani, sia in fase iniziale che avanzata di malattia. Tutti i soggetti con BMI inferiore a 24 sono stati sottoposti ad una consulenza con il medico nutrizionista, ricevendo consigli su come migliorare la loro dieta. Tali consulenze hanno evidenziato come alcuni pazienti percepissero come adeguata una dieta in realtà scarsa per tipologia di alimenti e per quantità. L'alterazione più frequentemente riscontrata era una importante riduzione della quantità di proteine assunte, per la paura di causare una minore efficacia del farmaco Levodopa.

E' infine da sottolineare come su 21 pazienti, 5 siano stati istituzionalizzati in un arco di tempo relativamente breve (18 mesi). Questo dato rende conto dell'impatto che la perdita di peso può avere sulla Qualità di Vita dei pazienti parkinsoniani e come esso sia un fenomeno correlato ad una maggiore "fragilità". Una approfondita conoscenza dei fenomeni correlati con la perdita di peso è quindi di fondamentale importanza per un miglioramento della gestione del malato e per garantire una maggiore aspettativa di autonomia.

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

La Malattia di Parkinson (MdP) e la Paralisi Sopranucleare Progressiva (PSP) sono patologie a carattere neuro-degenerativo croniche e progressive, caratterizzate da disturbi motori e disturbi non motori. Alcuni studi hanno evidenziato che i pazienti affetti da PD e PSP presentano una motricità orale spesso ridotta rispetto alla categoria di persone non affette dalla malattia della stessa età ed una difficoltà nella deglutizione, la quale tende ad emergere tuttavia, in quanto sintomo non motorio, solo in un secondo momento rispetto alla diagnosi primaria. In verità è noto che i disordini della deglutizione insorgono molto precocemente, e che 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.

E' per questo che si è cercato di creare uno strumento, sottoforma di questionario, che potesse essere in grado di distinguere i disturbi primordiali della sfera deglutitoria, da quelli più avanzati, osservabili ad occhio nudo.

Il questionario, ha la funzione non di sostituire il clinico durante lo studio della deglutizione, piuttosto si pone l'obiettivo di eseguire uno screening precoce, per evitare impieghi superflui di attrezzature cliniche (es. FEES) laddove non ce ne sia reale bisogno.

Altro obiettivo è quello di dimostrare una certa attendibilità tra ciò che il paziente sente, e ciò che il Logopedista riscontra durante la fase di Bedside Examination.

Lo studio si prefigge di effettuare:

- Analisi dell'attendibilità del questionario circa i disordini della deglutizione;
- Verificare la corrispondenza tra le risposte fornite dal paziente e la Valutazione Funzionale Oggettiva del Logopedista;
- Suddivisione della popolazione analizzata in tre fasce: assenza di disturbi; presenza lieve di disturbi; presenza moderata di disturbi; forte presenza dei disturbi;
- Ricerca di un'ipotetica distinzione tra una bradicinesia deglutitoria ed una reale disfagia;
- Verifica dell'attendibilità del questionario somministrato ad una popolazione sana;
- Analisi della motilità orale attraverso valutazione delle abilità prassiche su un campione di pazienti;
- Ricerca di un'ipotetica correlazione tra deficit a carico della parola e deficit deglutitorio.

Lo studio è di tipo monocentrico, con somministrazione del questionario durante il periodo di degenza o durante visita ambulatoriale e monitoraggio del conseguente miglioramento/mantenimento del tono muscolare del distretto oro-bucco-facciale.

L'obiettivo finale sarà quello di sottoporre il questionario a 120 pazienti con MdP per consentire attraverso l'analisi degli items, una distinzione in merito ai livelli di disordine deglutitorio. Si è deciso infatti di aumentare la numerosità del campione inizialmente stabilita in 100 soggetti per ottenere una maggiore significatività statistica. Per tale motivo lo studio proseguirà nel 2017 fino al raggiungimento del target di arruolamento. Tutti i pazienti sono stati seguiti e monitorati durante lo svolgimento del trattamento attraverso l'esecuzione delle prassi orali eseguite durante i setting logopedici previsti per tutta la durata della degenza ospedaliera.

Al momento dell'inclusione, è stato dunque effettuato:

1. indagine dell'orientamento Spazio/Temporale;
2. analisi della motricità orale attraverso l'esecuzione su richiesta verbale delle prassie orali;
3. indagine delle abilità diadococinetiche riguardanti coppie bisillabiche di fonemi anteriori, mediali e posteriori;
4. 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;

Il questionario ideato per l'indagine e la verifica dell'andamento deglutitorio, è composto da 20 domande volte ad indagare le seguenti aree: difficoltà nella gestione di cibi solidi e liquidi sia nella fase orale che esofagea, permanenza di residui di cibo/compresse nel cavo orale, scialorrea, pregressa anamnesi per infezioni bronco-polmonari che facciano supporre una eziologia *ab ingestis*.

I pazienti sono stati reclutati in modo random, tanto da rendere il più veritiero ed attendibile possibile il questionario. Tutti i pazienti con MdP sono stati valutati il giorno successivo all'ingresso in reparto e tutti si trovavano in stato farmacologico di ON. Nei pazienti con PSP la valutazione è stata effettuata in condizioni cliniche ottimali.

Dal momento in cui si è iniziato a somministrare il questionario sono stati reclutati 81 pazienti affetti da MdP, 17 da Paralisi Sopranucleare Progressiva, tutti appartenenti alla categoria casi.

Il gruppo di pazienti arruolati affetti da Morbo di Parkinson presenta:

- età media di 71.79 anni;
- durata media di malattia pari a 11.09 anni;
- maschi numero: 46
- femmine numero: 35

Si è inoltre provveduto alla creazione di un database dedicato e alla trascrizione dei dati raccolti su supporto informatico ricavato dal questionario. Il questionario è composto da 20 items, dei quali si è cercato attraverso un'indagine di frequenza di risposta preliminare data da parte dei pazienti, di capire quali fossero più significativi rispetto ad altri, e da quanto attualmente rilevato si sono tratti i dati che si riportano di seguito.

ITEMS	Somma di SI	SI %	Severità disturbo
1	29	35,80	35 p --> 0 = 43,20%
2	50	61,72	8 p --> 1 = 9,87%
3	8	9,87	17 p --> 2 = 20,98%
4	16	19,75	20 p --> 3 = 24,69%
5	43	53,08	
6	34	41,97	
7	35	43,20	
8	1	1,23	
9	38	46,91	
10	19	23,45	
11	16	19,75	
12	16	19,75	
13	21	25,92	
14	16	7,40	
15	6	7,40	
16	34	41,97	
17	24	29,62	
18	23	28,39	
19	7	8,64	
20	22	27,16	

Come si evince dalla tabella, si è cercato di notare a quali domande i pazienti avessero risposto di Sì più frequentemente rispetto ad altre, in seguito a tale osservazione si è deciso di suddividere la popolazione campionata in 4 fasce: 0-1-2-3-, dove 0 rappresenta la totale assenza del disordine, 1 una lieve presenza di difficoltà deglutitoria, 2 una moderata presenza di disturbi e 3 un severo grado di disfagia. Questa suddivisione è stata successiva all'analisi delle risposte fornite dai pazienti, seguita e confermata poi da una valutazione funzionale oggettiva del Logopedista eseguita a T0 in bed side examination. Ogni paziente poi è stato successivamente incanalato in una delle 4 fasce, sulla base sia delle risposte fornite in modo soggettivo da se stesso durante l'intervista, sia dalle prove alimentari eseguite immediatamente dopo. . Ciò che è emerso in questi 24 mesi, è stata una forte e specifica corrispondenza tra le risposte date durante il questionario dal paziente stesso e la

valutazione funzionale; ciò sta a significare che il questionario si è dimostrato uno strumento utile e immediato nel supportare una rapida categorizzazione ed individuazione dei soggetti a rischio. Da quanto emerso da una prima analisi degli 81 pazienti visionati, il 24.69% della popolazione riferisce gravi difficoltà nella gestione di varie consistenze alimentari, che determinano forte disfagia; il 20.98 % presentava sintomi moderati, il 9.87% presentava sintomi lievi ed il 43.20 % non riferiva e riportava segni disfagici. Il dato rilevato dalle risposte date dai pazienti concorda con la valutazione oggettiva effettuata dal Logopedista atta a rilevare il grado di disordine deglutitorio.

Nell'anno 2017 si intende terminare l'arruolamento dei pazienti rimanenti del gruppo MdP (numero casi mancanti 19) ed implementare il campione fino ad un totale di 120 pazienti; terminare l'arruolamento dei pazienti con PSP (numero casi mancanti 3) e di passare al reclutamento dei casi controllo, che abbiano le stesse peculiarità inerenti l'età dei casi arruolati per il gruppo di lavoro. Tutto ciò per consentire di verificare ulteriormente l'attendibilità del questionario nella sua funzione di facilitatore di valutazione funzionale. Si provvederà poi all'analisi statistica dei dati per determinare una correlazione tra i sintomi soggettivi riferiti dal paziente e la valutazione oggettiva effettuata dal Logopedista; sarà inoltre possibile verificare la relazione tra stadio di malattia e presenza di disturbi disfagici.

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 (MdP), 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:

1. 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");
2. La parte B è stata disegnata per identificare i principali sintomi che i pazienti manifestano durante il loro OFF.
3. Infine la parte C è una sorta di diario che i pazienti devono compilare autonomamente.

Lo studio si prefigge di:

– documentare la prevalenza dell'early morning OFF nei pazienti con MdP trattati con levodopa nella pratica clinica;

– 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)

Inoltre, si prefigge di 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, monocentrico, non-interventistico.

La popolazione in studio è consistita da soggetti affetti da MdP in trattamento da almeno un anno con levodopa afferenti consecutivamente al centro specialistico dell'IRCCS San Raffaele Pisana, che soddisfacessero i criteri di inclusione e di esclusione, nel periodo di arruolamento concordato.

E' stata eseguita, come previsto, una sola valutazione di ciascun paziente, in occasione di una visita programmata in base alla pratica clinica del centro. Durante questa visita, il paziente ha completato la parte A e B del questionario TOQ, con l'aiuto del medico o del personale idoneo (infermiere o psicologo). Questa parte ha richiesto circa 10-15 minuti. Ai pazienti che avevano indicato di avere ritardo del TTO (definito come una risposta positiva alla parte A), è stato domandato di completare anche il diario (parte C) domiciliarmene per 5-6 giorni, diario che poi è stato recapitato al centro.

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

Sono stati studiati 151 pazienti (62 F e 89 M), con durata media di malattia di 7.49 anni. Di questi pazienti, il 64.3% (97 su 151) 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 (8.11 anni) rispetto al restante 35.7% di pazienti (5.46 anni) che invece non avevano una percezione chiara dell'ON e dell'OFF clinico. Significativo il riscontro che nel primo gruppo i pazienti, seppure con durata di malattia maggiore, erano più giovani rispetto al secondo gruppo (età media 67.44 anni verso 73.92 anni), a testimonianza di una più evidente comprensione del proprio stato clinico. È emerso che il fenomeno dell'early morning OFF è fortemente rappresentato e significativo nella popolazione parkinsoniana. Il 40.2% dei pazienti deve aspettare tra i 15 e i 30 minuti per il funzionamento della prima dose di farmaco e un altro 40.2% tra i 30 e i 45 minuti; il 12.3% entro un'ora; il 3% addirittura più di un'ora; e solo il 4.12% 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. Il periodo medio di attesa per avvertire l'effetto farmacologico, distribuito su tutte le somministrazioni giornaliere, è risultato di oltre 30 minuti. I sintomi che sono maggiormente descritti durante l'attesa dell'ON sono: lentezza (96 pazienti); astenia (85 pazienti); equilibrio (58 pazienti) difficoltà motorie e di deambulazione (66 pazienti), e a seguire tutti gli altri, con alta rappresentazione dei sintomi della sfera cognitiva ed umorale.

I risultati di questo studio, oltre a quantificare l'entità del fenomeno dell'OFF nei pazienti con MdP, hanno confermato che è necessario istruire il paziente stesso nel riportare gli effetti della terapia sui sintomi; solo integrando queste informazioni con gli altri aspetti clinici è possibile ottimizzare le somministrazioni dei farmaci ed aiutare il paziente a migliorare la qualità della vita.

Parkinson's Disease Composite Scale: creazione e validazione di una nuova scala motoria e non motoria per la malattia di Parkinson

La Malattia di Parkinson (MdP) è una patologia molto complessa. I pazienti hanno quotidianamente problematiche motorie e non motorie e l'utilizzo costante di farmaci antiparkinsoniani può indurre complicanze motorie e non motorie. Ad oggi per valutare i sintomi bisogna utilizzare una ampia gamma di scale di valutazione, dall'UPDRS per gli aspetti motori, alla MOCA per i disturbi cognitivi e l'Hoehn & Yahr per stabilire una gravità di malattia.

Risulta dunque molto importante creare una nuova scala di valutazione che permetta in breve tempo di dare una valutazione complessiva dei sintomi del paziente.

Gli obiettivi dello studio sono quelli di validare la PDCS - Parkinson's Disease Composite scale, una nuova scala motoria e non motoria volta a stabilire la gravità della MdP tenendo in considerazione i sintomi motori, non motori e le complicanze del trattamento.

Si tratta di uno studio di validazione, che quindi non implica procedure al di fuori della normale pratica clinica. Lo studio riguarda pazienti che sono affetti da MdP.

Nell'ambito di una normale visita neurologica si rilevano le seguenti informazioni: dati anagrafici (data di nascita, sesso, stato civile, professione) anamnesi generale (peso, statura, pressione arteriosa, patologie concomitanti non neurologiche e neurologiche, condizioni mediche che possono essere associate o predisporre a cadute, terapia non anti-parkinsoniana in atto), anamnesi specifica e farmacologica per MdP (anno della prima diagnosi di malattia, anno di comparsa dei primi sintomi motori, tipologia e distribuzione dei sintomi motori all'esordio, anno di inizio primo trattamento, quale/i farmaci, terapia antiparkinsoniana in atto), somministrazione di scale cliniche e questionari per valutare la qualità della vita, depressione ed ansia, cammino ed equilibrio, esecuzione dell'esame neurologico. Viene inoltre eseguita la scala PDCS Parkinson's Disease Composite Scale, composta da 17 item volti ad analizzare i sintomi motori e non motori della MdP.

Sono stati arruolati 100 pazienti e inclusi nell'analisi statistica 70 pazienti con diagnosi di MdP, età (SD) 70.65 ± 9.72 ; Maschi: 42 (60%), Femmine: 28 (40%); Diagnosi PD (anni): 8.19 ± 4.43 . Le caratteristiche cliniche sono riassunte nelle seguenti tabelle:

Stadiazione Hoehn & Yahr:

H&Y	N	%
1	10	14.30
2	44	62.86
3	15	21.43
4	1	1.43
5	0	0

Valori UPDRS:

1. Mentation, Behavior and Mood	3.06 ± 2.35
2. Activities of Daily Living	9.17 ± 5.28
3. Motor Examination	19.26 ± 7.81
4. Motor complications (items 32 to 39)	3.23 ± 3.15
Other complications (items 40 to 42)	0.69 ± 0.88
Complications of Therapy (total score, 32-42)	3.91 ± 3.33
Total score of the UPDRS	35.40 ± 13.53

	Median	IR	Mean	SD	Range
1. Bradykinesia	1	1 – 2	1.36	0.60	0 – 3
2. Tremor	1	0 – 1	0.66	0.66	0 – 3
3. Gait	3	3 – 4	2.79	1.34	0 – 5
4. Balance/Postural stability	0	0 – 4	2.06	2.17	0 – 6
5. Freezing	0	0 – 4	2.01	2.40	0 – 6
6. Nocturnal akinesia	1	1 – 2	1.29	0.92	0 – 3
I. Motor symptoms	10	6 – 15	10.19	5.40	1 – 23
7. Fatigue	1	1 – 2	1.51	0.85	0 – 4
8. Urinary	1	1 – 2	1.33	1.10	0 – 5
9. Cognitive impairment	0	0 – 4	1.51	2.04	0 – 6
10. Depression/Anxiety	1	0 – 2	1.07	0.98	0 – 3
11. Symptomatic OH	0	0 – 0	0.46	1.28	0 – 4
12. Hallucin./Thoughtdisord.	0	0 – 4	1.81	2.21	0 – 6
II. Non-motor symptoms	7	4 – 11	7.70	5.18	0 – 21

13. Dyskinesia	1	0 – 2	1.33	1.45	0 – 5
14. Dystonia	0	0 – 0	0.41	0.81	0 – 2
15. On/Off fluctuations	3	0 – 3	1.73	1.67	0 – 5
16. DDS	0	0 – 3	0.87	1.39	0 – 4
III. Treatment complications	5	2 – 6	4.34	3.26	0 – 13
Motor disorder (I + II)	14	9 – 20	14.53	7.06	2 – 31
PDCS Total Score	22	12 – 28	22.23	10.54	3 – 51

I risultati della validazione della scala PDCS mostrano un marginale floor effect per la parte 3 che riguarda le Complicazioni motorie e non motorie indotte dal trattamento farmacologico (18,6%). Questo risultato è dovuto alla mancanza di tali effetti collaterali nella popolazione studiata. La distribuzione dei punteggi nei vari domini appare accettabile. Due items (2. Tremore e 16. DDS) non hanno mostrato una associazione ($r < 0.20$) con i punteggi totali dei loro domini. Il coefficiente alfa di Cronbach (coefficiente di correlazione interclasse) è al di sotto del minimo valore standard ($\alpha = 0.70$) in tutti i domini analizzati. L'indice di omogeneità risulta > 0.15 in tutti i domini, vista la composizione dei domini di tale indice può essere considerato accettabile (soprattutto per le sezioni sintomi non motori e complicazioni dovute alla terapia farmacologica). La validità interna è accettabile nell'associazione tra le sezioni 1 e 2 (sintomi motori e sintomi non motori) e leggermente sotto la soglia minima per le altre sezioni (complicazioni dovute alla terapia e livello di disabilità).

La versione attuale della scala somministrata ad una popolazione di pazienti parkinsoniani in fase lieve-moderata di malattia si è dimostrata essere accettabile e avere validità di costruito e di contenuto.

La scala ha evidenziato problemi di coerenza interna, probabilmente dovuti all'inclusione, nello stesso dominio, di items relativi a sintomi aventi e non un andamento progressivo nel tempo

La struttura della scala può essere mantenuta nella versione attuale. Durante il successivo studio di validazione, che verrà effettuato su un vasto numero di pazienti, si deciderà se i differenti items potranno essere suddivisi in sub-domini, come inizialmente proposto.

Esposizioni occupazionali e rischio di malattia 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 da 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. 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. Nell'ambito di questo scenario, un ruolo importante è svolto dalle esposizioni a potenziali tossici nell'attività professionale, cui vengono dedicate numerose ore della quotidianità. Presso l'IRCCS San Raffaele Pisana, dal 2012 al 2014 sono stati raccolti 994 questionari somministrati a malati di Parkinson e controlli con lo scopo di individuare, per mezzo di uno studio osservazionale caso-controllo, potenziali fattori di rischio "ambientali" associati ad un maggior rischio di MdP. Una sezione del questionario riguardava la storia professionale ed eventuali esposizioni lavorative.

Dal confronto delle distribuzioni di frequenza nell'analisi univariata del campione, si è osservato come alcune categorie professionali siano risultate distribuite in maniera notevolmente asimmetrica tra casi e controlli, tra queste i medici/professioni sanitarie (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 risultate 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 altre categorie (personale aeroportuale, militari ecc).

Per valutare la tipologia di esposizione presente nelle suddette occupazioni, vista la mancanza di Job Exposure Matrixes già esistenti per tali professioni, relative ai rischi occupazionali per MdP, si è deciso di procedere con un Exposure Assessment dedicato. Tale attività è stata coordinata dal Prof. Ivo Iavicoli, Professore Associato di Medicina Occupazionale Università Federico II Napoli. Il Prof. Iavicoli ha elaborato dei questionari integrativi mansione-specifici da somministrare mediante intervista telefonica a 112 soggetti appartenenti ai gruppi professionali distribuiti in maniera asimmetrica tra casi e controlli (tipografi, falegnami, operai settore calzaturiero, lavoratori settore aeroportuale/piloti, militari, lavoratori professioni sanitarie). I questionari sono stati elaborati con lo scopo di analizzare la mansione specifica, il tempo di esposizione lavorativa e l'eventuale lavoro notturno o su turni, l'esposizione a sostanze chimiche e la durata dell'esposizione, i rischi percepiti dal lavoratore, la tipologia di azienda o di datore di lavoro e la sede geografica del luogo di lavoro, il periodo di svolgimento di tale mansione. Il primo anno dello studio è stato dedicato alla somministrazione dei questionari e alla codifica degli stessi su supporto informatico. Dei 112 casi e controlli individuati dal medico del lavoro (14 tipografi, 8 falegnami, 5 operai settore calzaturiero, 15 lavoratori settore aeroportuale/piloti, 34 militari, 36 lavoratori professioni sanitarie), si è riusciti a raccogliere 76 questionari (3 soggetti hanno risposto a due diversi questionari in quanto avevano effettuato 2 differenti professioni a rischio nell'ambito della loro vita lavorativa). Sono stati riscontrati 8 decessi, 7 persone hanno rifiutato di rispondere alle domande e in 24 casi non è stato possibile contattare l'interessato per mancata risposta al telefono o numero telefonico errato/non attivo. Tutti i dati sono stati caricati su file Excel e sono in corso di elaborazione.

Nel caso di analisi dei dati con risultati significativi, i medici del lavoro contattano gli interessati e li convocano per uno studio ancora più dettagliato delle esposizioni mansione-specifiche, al fine di valutare il ruolo dei vari tossici presenti nell'ambiente lavorativo di ogni categoria professionale nel determinare un aumento del rischio di malattia. Ad oggi ancora non sono state individuate terapie in grado di modificare il decorso della MdP.

E' quindi di estrema importanza lavorare in un'ottica di prevenzione.

I risultati di questo studio hanno, pertanto, delle enormi potenzialità, in quanto riguardano professioni

ed esposizioni ancora scarsamente indagate dalla letteratura sulla MdP, con la possibilità di importanti conseguenze di ordine sanitario e socio-economico.

Studio pilota per la valutazione dell'effetto del tape neuromuscolare nei pazienti Parkinsoniani

La malattia di Parkinson (MdP) è un disturbo motorio progressivo e degenerativo di tipo neurologico caratterizzata da una triade sintomatologica che consiste in: tremore, rigidità e bradicinesia. A questi sintomi si aggiunge spesso un'alterazione posturale che può distinguersi in due atteggiamenti differenti, quali la camptocormia e la sindrome di Pisa. Progredendo nella sua evoluzione, la MdP diventa sempre più disabilitante, rendendo difficili o persino impossibili attività quotidiane come lavarsi o vestirsi. Il paziente con MdP, per migliorare la qualità della vita, è costretto a continue cure farmacologiche e a trattamenti riabilitativi per contrastare la progressione del sintomo e la degenerazione anatomopatologica. A differenza dei classici sintomi, l'alterazione posturale sembra non essere soggetta all'effetto della Levo-dopa; per questo motivo risulta fondamentale l'ambito riabilitativo. Si vuole valutare se l'applicazione di una stimolazione con Taping Neuromuscolare possa determinare benefici effetti nei pazienti affetti da MdP soprattutto sulle componenti postura, rigidità e deambulazione. La postura anomala, con alterazione degli arti, del collo e del tronco, è una caratteristica ricorrente nella MdP, con una frequenza di circa 30%. Tra il 2% e 12.3% sono presenti anomalie più gravi come la camptocormia, la sindrome di Pisa e l'anterocollo. Alcuni studi sottolineano l'importanza dell'integrazione di strumenti riabilitativi per il trattamento multifunzionale (farmacologico e riabilitativo) della MdP. Diversi studi inseriscono il Taping Neuromuscolare tra gli strumenti riabilitativi nelle sindromi neurologiche degenerative.

D'altro canto, nessuno studio sul Taping Neuromuscolare ha valutato il miglioramento della stabilità posturale e del range di movimento in soggetti affetti da MdP. Il Taping Neuromuscolare è un nuovo trattamento che induce micro movimenti che stimolano i recettori della cute. È comunemente usato nella traumatologia dello sport e ultimamente proposto per i pazienti affetti da Sclerosi Multipla. L'applicazione di un nastro elastico sulla pelle induce un effetto terapeutico locale ma allo stesso tempo distante per riflesso. L'applicazione del Taping Neuromuscolare con una tecnica decompressiva ed eccentrica dilata gli spazi interstiziali e quindi migliora la circolazione e l'assorbimento dei liquidi riducendo la pressione sotto cutanea favorendo il rilasciamento muscolare. Il Taping Neuromuscolare fornisce un allungamento passivo attraverso l'applicazione di un nastro elastico con stimoli favorendo la flessibilità e la coordinazione e migliorando il movimento in pazienti che soffrono di eccessiva contrazione muscolare a causa delle diverse condizioni cliniche.

È stato ipotizzato che l'applicazione del Taping Neuromuscolare sia in grado di stimolare i meccano-recettori cutanei. Questi recettori si attivano quando carichi meccanici (tatto, pressione, vibrazione) creano deformazioni della cute. La loro attivazione tramite uno stimolo adeguato provoca depolarizzazione locale, che innesca l'impulso nervoso che viaggia lungo le fibre afferenti verso il sistema nervoso centrale.

Lo studio mira a quantificare l'efficacia del Taping Neuromuscolare come metodo di trattamento per migliorare la rigidità articolare, la postura, la deambulazione e l'autonomia nelle attività di vita quotidiana.

Lo scopo dello studio è quello di verificare gli effetti del Taping Neuromuscolare in 45 pazienti affetti da MdP e deficit della postura e della deambulazione. In particolare sono messi a confronto due protocolli terapeutici:

- Protocollo A (Terapia farmacologica);
- Protocollo B (Terapia farmacologica e Taping Neuromuscolare)

Entrambi i protocolli sono mirati alla valutazione degli effetti sulle modificazioni morfologiche posturali (asimmetria del tronco) e sull'equilibrio statico e dinamico dei pazienti esaminati a breve e a lungo termine.

È previsto l'arruolamento di 45 soggetti con MdP che afferiscono al Clinical Trial Centre dell'IRCCS

eccentrici favorendo la flessibilità e la coordinazione e migliorando il movimento in pazienti che soffrono di eccessiva contrazione muscolare a causa delle diverse condizioni cliniche.

È stato ipotizzato che l'applicazione del Taping Neuromuscolare sia in grado di stimolare i meccano-recettori cutanei. Questi recettori si attivano quando carichi meccanici (tatto, pressione, vibrazione) creano deformazioni della cute. La loro attivazione tramite uno stimolo adeguato provoca depolarizzazione locale, che innesca l'impulso nervoso che viaggia lungo le fibre afferenti verso il sistema nervoso centrale.

Lo studio mira a quantificare l'efficacia del Taping Neuromuscolare come metodo di trattamento per migliorare la rigidità articolare, la postura, la deambulazione e l'autonomia nelle attività di vita quotidiana.

Lo scopo dello studio è quello di verificare gli effetti del Taping Neuromuscolare in 45 pazienti affetti da MdP e deficit della postura e della deambulazione. In particolare sono messi a confronto due protocolli terapeutici:

- Protocollo A (Terapia farmacologica);
- Protocollo B (Terapia farmacologica e Taping Neuromuscolare)

Entrambi i protocolli sono mirati alla valutazione degli effetti sulle modificazioni morfologiche posturali (asimmetria del tronco) e sull'equilibrio statico e dinamico dei pazienti esaminati a breve e a lungo termine.

È previsto l'arruolamento di 45 soggetti con MdP che afferiscono al Clinical Trial Centre dell'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma con anomalie posturali e deficit della deambulazione. Il progetto prevede che i pazienti vengano sottoposti a:

- Visita di screening per verificare l'eleggibilità allo studio;
- Valutazione pre-trattamento (T0);
- Valutazione a 4 settimane post-trattamento (T1);
- Valutazione di follow-up a 4 settimane dall'ultima valutazione (T2);
- Valutazione di follow-up a 12 settimane dalla valutazione T1 (T3);
- Somministrazione (ai tempi T0-T1-T2-T3) di analisi Video-optocinematica del cammino e della postura (GAIT ANALYSIS);
- Somministrazione di scale specifiche cliniche (ai tempi T0-T1-T2-T3).

Il Trattamento con Taping Neuromuscolare viene effettuato per 4 settimane a cadenza bisettimanale (T0-T1). Le Valutazioni successive (T2-T3) vengono effettuate per quantificare gli effetti del Taping Neuromuscolare a lungo termine. La Gait Analysis (GA) è il metodo di valutazione computerizzata quantitativa multifattoriale e tridimensionale del cammino che permette di misurare in modo obiettivo e quantitativo le variazioni posturali. Viene effettuata una correlazione tra parametri biomeccanici e punteggi delle scale cliniche, al fine di valutare le correlazioni statistiche che vengono calcolate tenendo conto delle variazioni nei parametri biomeccanici e le modifiche corrispondenti nelle scale cliniche (MDS-UPDRS, TINETTI, EQ-5D, PDQ-8). Il coefficiente di Pearson viene utilizzato per i dati parametrici e il coefficiente di Spearman per i dati non-parametrici.

Il protocollo A prevede la sola somministrazione farmacologica di terapia anti-parkinsoniana.

Il protocollo B prevede l'associazione di somministrazione farmacologica e l'applicazione del Taping Neuromuscolare nei seguenti distretti:

- MM Trapezio superiore
- MM Romboide
- MM Pettorale
- MM Addominali
- MM Ileo-costale dei Lombi
- MM Gastrocnemio
- MM Tibiale anteriore

In questo primo anno sono stati arruolati complessivamente 30 pazienti di cui 26 rientravano nei criteri di inclusione. Il campione dello studio era composto da 26 pazienti, 13 pazienti che hanno effettuato il protocollo B (casi) e 13 pazienti il protocollo A (controlli). Il gruppo dei casi era composto da 6 uomini e 4 femmine, con un'età media di 75,75 (\pm 9.25), 8,25 (\pm 9,75) anni di malattia, 643,75

mg ($\pm 756,25$) LEDD al giorno e di stadiazione H&Y: 1=0 pazienti; 2=5 pazienti; 3=8 pazienti; 4=0 pazienti e 5=0 pazienti. Il gruppo di controllo era composto da 8 uomini e 5 femmine, con un'età media di 71,25 ($\pm 6,75$), 7,75 ($\pm 8,25$) anni di malattia, 624,25 mg ($\pm 695,75$) LEDD al giorno e di stadiazione H&Y: 1=0 pazienti; 2=6 pazienti; 3=7 pazienti; 4=0 pazienti e 5=0 pazienti.

Le valutazioni effettuate con Gait Analysis e con scale di valutazione, miravano a quantificare gli effetti dei due protocolli e la loro persistenza nel tempo. I pazienti al termine del trattamento hanno presentato risultati differenti, con variazioni significative principalmente nel gruppo dei casi, che è stato sottoposto quindi al trattamento con Taping Neuromuscolare e terapia farmacologica. Le misurazioni effettuate con Gait Analysis miravano a determinare se ci fossero state, nel corso del trattamento, modificazioni significative per quanto riguarda:

- Angolo tronco sul piano sagittale in dinamica e in stabilometria;
- Angolo tronco sul piano frontale in dinamica e stabilometria;
- Angolo spalle sul piano orizzontale in dinamica e stabilometria.

E quanto queste modificazioni persistessero nel tempo, infatti venivano confrontati i dati ottenuti ai tempi T1 – T2 – T3, con la condizione iniziale dei pazienti al tempo T0, in entrambi i gruppi.

I risultati preliminari mostrano una diminuzione dell'angolo del tronco sul piano sagittale nei pazienti che hanno effettuato il protocollo B, che persiste per tutta la durata del trattamento, infatti a T1 si ha una modificazione pari al 45% del valore ottenuto a T0, a T2 pari al 24% e a T3 pari al 5%. Le variazioni ottenute tendono a diminuire quindi a lungo termine. Per quanto riguarda il gruppo dei controlli, non vi è una modificazione significativa nei diversi tempi, infatti, da T0 a T1 si misura un cambiamento pari al 2 %, mentre a T2 e a T3 non risulta alcun effetto positivo in quanto le percentuali sono pari allo 0%.

Dai risultati ottenuti si nota che nel gruppo dei casi che ha effettuato il protocollo con Taping Neuromuscolare e terapia farmacologica, rispetto al gruppo di controllo, un trend positivo nelle scale MDS UPDRS parte III ($p=0.43$), FOG ($p=0.25$) e Tinetti sezione andatura ($p=0.31$), quindi un miglioramento motorio nel paziente parkinsoniano. Inoltre, si nota un trend positivo nella scala dei sintomi non motori ($p=0.25$). L'aspetto interessante che da evidenziare riguarda il miglioramento che si evince dalle scale di valutazione sulla qualità della vita dei pazienti (PDQ8 $p=0.31$; EQ5D $p=0.25$).

LABORATORIO DI NEUROBIOLOGIA MOLECOLARE E CELLULARE

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

Il progetto vede il coinvolgimento di: CNR, ISS, Dept Chemical and Materials Engineering, Arizona State University Tempe USA

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. Nella prima fase del progetto, abbiamo analizzato in vivo gli effetti sinaptoprotettivi degli anticorpi intracellulari anti-A β O diretti verso il compartimento post-sinaptico (PostSyn-ScFvA β 1-42). I risultati ottenuti 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 associati all'accumulo di A β O in un modello murino di AD, in termini di ripristino dei livelli proteici di alcuni marcatori sinaptici.

Nella seconda fase del progetto sono stati effettuati gli esperimenti di elettrofisiologia per analizzare i fenomeni di plasticità neuronale, correlato elettrofisiologico dei processi di apprendimento e memoria, in un modello murino di AD sottoposti ad iniezione intracerebroventricolare (icv) utilizzando anticorpi PostSyn-ScFvA β 1-42 subclonati in vettori rAAV al fine di analizzare l'effetto sinaptoprotettivo di tali anticorpi.

I topi (n=3 AD iniettati con rAAV esprimente GFP, n=3 AD sovra esprimenti anticorpi PostSyn-ScFvA β 1-42, n=3 animali di controllo iniettati con rAAV esprimente GFP e n=3 animali di controllo sovra esprimenti anticorpi PostSyn-ScFvA β 1-42) a 6 mesi di età sono stati anestetizzati con alotano, decapitati ed il cervello rimosso rapidamente e dissecato l'ippocampo mediante un vibratomo. Le fettine trasferite in una camera di plexiglass, mantenute in vita a 33°C e continuamente perfuse con un medium simile al liquor. Mediante registrazioni extracellulari sono state studiate le risposte di gruppi neuronali alla stimolazione elettrica singola o di tipo tetanico. Registrazioni della popolazione dei potenziali postsinaptici eccitatori (pEPSP) sono state effettuate nello strato radiato della regione CA1. La stimolazione delle vie afferenti in condizioni di controllo induce la comparsa di pEPSP. La stimolazione tetanica (1s, 100Hz) delle collaterali di Schaffer induce un potenziamento posttetanico (PTP), un fenomeno presinaptico, della durata di alcuni minuti, seguito da un potenziamento persistente (LTP) della durata di alcune ore. Nel protocollo sperimentale, dopo aver registrato potenziali stabili per 20-30 min, sono state analizzate le eventuali variazioni della risposta a stimolazione tetanica in topi di controllo ed in topi AD.

I risultati ottenuti indicano che la trasmissione sinaptica di base non risulta variata nei 4 gruppi sperimentali di topi. Quando viene applicata una stimolazione tetanica il potenziamento a lungo termine sembra risultare aumentato nei topi AD sovra esprimenti anticorpi PostSyn-ScFvA β 1-42 rispetto ai topi AD esprimenti rAAV di controllo pur non raggiungendo i valori normali di LTP ottenuti nei topi di controllo (ugualmente iniettati con i vettori rAAV). Ulteriori esperimenti, ampliando il numero di topi

utilizzati, sono necessari per confermare questo dato preliminare.

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

Il progetto vede il coinvolgimento di: CNR e Istituto Superiore di Sanità

L'analisi delle regioni corticali ed ippocampali di pazienti affetti dalla malattia di Alzheimer (AD) ha mostrato come i processi di ribogenesi e di sintesi proteica siano profondamente alterati. Tali alterazioni sono associate alla progressione della patologia e a una riduzione dei livelli di espressione di diverse proteine incluse la nucleolina e la nucleofosmina, componenti essenziali della funzionalità nucleolare e del macchinario di sintesi proteica. La presenza di queste alterazioni nelle subregioni ippocampali coinvolte nei processi di apprendimento e memoria (e.g. CA1 e DG) di pazienti AD ed antecedenti la morte neuronale, suggerisce come la disfunzione nucleolare possa essere un fattore importante nella patogenesi dell'AD.

In questo secondo anno di progetto si è iniziato ad analizzare il ruolo delle forme oligomeriche del peptide A β 1-42 (A β O) nelle alterazioni morfologiche-funzionali del nucleolo osservate nei pazienti AD. A tal fine sono state utilizzate colture primarie di neuroni corticali di ratto (DIV 7-9) esposte a trattamento con una dose subletale di A β O (10 μ M) per diversi tempi (4,8 e 24h). Al termine del trattamento le cellule sono state fissate e sottoposte ad immunofluorescenza indiretta utilizzando anticorpi specifici contro la nucleolina e la nucleofosmina. L'analisi mediante microscopia confocale ha mostrato come l'A β O è in grado di indurre un'alterazione della morfologia nucleolare.

In particolare, utilizzando anticorpi anti-nucleofosmina abbiamo osservato una riduzione pari a circa il 30-40% delle dimensioni medie delle strutture nucleolari (cellule analizzate per campione: n=90-120; campioni analizzati per condizione sperimentale: n=2), associata ad una loro frammentazione. Inoltre, l'analisi dei livelli d'intensità di fluorescenza mediante software specifico ha mostrato una progressiva riduzione dei livelli proteici di nucleofosmina (fino al 40% di riduzione dopo 24h di trattamento). Simili livelli di riduzione sono stati osservati per la proteina nucleolina, soprattutto dopo 4-8 ore di trattamento.

Questi risultati mostrano come A β O sia in grado di causare un'alterazione marcata della morfologia nucleolare in assenza di morte neuronale, associata ad una riduzione dei livelli proteici di almeno due componenti principali del nucleolo, la nucleofosmina e la nucleolina.

Ci si attende di poter ottenere:

1. Caratterizzazione delle alterazioni funzionali del nucleolo in colture primarie di neuroni corticali di ratto a seguito del trattamento con A β 1-42 oligomerica.
2. Determinazione del 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.
3. Identificazione della nucleolina come fattore protettivo nel processo di morte neuronale indotta da A β O.
4. Determinazione in vitro ed in vivo del ruolo della nucleolina nei processi di disfunzione sinaptica associati al trattamento con A β O.

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

Il progetto vede il coinvolgimento di: strutture di lungodegenza e le RSA del gruppo San Raffaele

Il complesso della proteina chinasi DNA-dipendente (DNA-PK), costituito da una subunità catalitica (DNA-PKcs) ad attività serina/treonina chinasi e da una subunità eterodimerica (Ku), composta da due polipeptidi di 70 (Ku70) e 86 (Ku86) kDa, è essenziale per il riparo delle rotture a doppio filamento del DNA (DSBs). Numerosi studi evidenziano una significativa diminuzione dei livelli proteici della DNA-PK, che si correla con una ridotta attività di riparo del DNA nella corteccia mediofrontale di pazienti Alzheimer (AD) (Shackelford D., *Neurobiol Aging* 2006; 27:596-605).

Risultati preliminari del laboratorio, sostengono un ruolo delle proteine del complesso della DNA-PK come potenziali marcatori diagnostici periferici di AD. Sono stati precedentemente analizzati i livelli di espressione delle proteine Ku 70, Ku 86 e DNA-PKcs su cellule PBMC derivanti dal sangue periferico di pazienti AD di grado moderato-severo (n=12). I risultati derivanti da queste analisi hanno mostrato una riduzione significativa dei livelli proteici nucleari dell'eterodimero Ku nel 40-50 % dei pazienti AD rispetto agli individui di controllo. L'analisi delle frazioni citosoliche non ha mostrato una modulazione significativa di queste proteine mentre i livelli di mRNA e di proteina della DNA-PKcs hanno mostrato una elevata variabilità sia nei controlli che nei pazienti AD. In questo anno di progetto è stato pertanto ampliato il numero dei campioni su cui analizzare i livelli di RNA messaggero (mRNA) e proteici del complesso della DNA-PK nelle cellule PBMC purificate dal sangue di pazienti AD (n=10) e relativo gruppo di controllo (n=10).

Lo studio ha evidenziato come, nonostante l'ampliamento del numero di campioni analizzati rispetto alla prima fase del progetto, i livelli di mRNA e i livelli proteici della DNA-PKcs presentano una elevata variabilità sia per quanto riguarda il gruppo di pazienti AD che il gruppo di controllo. Tale variabilità, osservata sia nella frazione nucleare che in quella citoplasmatica, non consente di stabilire una differenza significativa dei livelli di tale proteina tra i due gruppi sperimentali. Poiché è noto che la DNA-PKcs, in seguito alla presenza di danno al DNA, è in grado di modificare la localizzazione subcellulare, aumentando i livelli nucleari, si è valutata la possibilità di una modificazione della compartimentalizzazione cellulare della proteina nei pazienti AD rispetto ai soggetti di controllo. Il confronto dei livelli proteici della DNA-PKcs nei due compartimenti (nucleare e citoplasmatico) non ha mostrato differenze significative della sua localizzazione subcellulare nelle cellule PBMC provenienti dai pazienti AD. Al contrario l'analisi dei livelli di mRNA e dei livelli proteici delle subunità regolatorie del complesso della DNA-PK, ha confermato una significativa riduzione dei livelli di Ku70/Ku86 nei pazienti AD. In particolare, mediante analisi densitometrica ed opportuna normalizzazione rispetto alla proteina actina, è stata confermata una riduzione dei livelli nucleari dell'eterodimero in circa il 40% dei casi studiati.

Questi risultati indicano che le proteine Ku70/Ku86 potrebbero effettivamente rappresentare dei nuovi marcatori periferici della malattia di Alzheimer e suggerire che la compromissione del sistema di riparazione dei DSBs in AD potrebbe riguardare non solo il sistema nervoso centrale ma anche i sistemi periferici come il sangue.

Ci si attende di poter effettuare:

1. Identificazione del complesso della DNA-PK come potenziali biomarcatori periferici dell'AD.
2. Identificazione della disfunzione del sistema di riparazione dei DSBs, dipendente dalla DNA-PK, come nuovo meccanismo molecolare alla base della patogenesi dell'AD.
3. Identificazione delle proteine coinvolte nella riparazione dei DSBs, dipendente dalla DNA-PK, come potenziali bersagli terapeutici dell'AD e più in generale delle malattie neurodegenerative.

LABORATORIO DI ELETTROFISIOLOGIA

Studio della trasmissione GABAergica nelle malformazioni pediatriche dello sviluppo cerebrale

La displasia corticale focale (FCD) e la Tuberous sclerosis complex (TSC) sono due delle più frequenti malformazioni corticali che si riscontrano in pazienti pediatrici sottoposti a chirurgia dell'epilessia. Poiché studi precedenti suggeriscono che l'alterata eccitabilità neuronale presente in questi pazienti possa essere in parte dovuta alla presenza di caratteristiche tipiche di un cervello immaturo, lo scopo di questo progetto è quello di capire cosa determini la presenza di crisi epilettiche nelle malformazioni corticali e se un'alterata omeostasi del cloro possa influire o meno nell'insorgere dell'epilessia in questi pazienti. Grazie alla tecnica del microtrapianto di membrane in oociti di *Xenopus*, è stato precedentemente studiato il potenziale di inversione del GABAA (EGABA) in tessuti di pazienti in età prenatale e postnatale (da 15 settimane di gestazione ai 15 anni di età) e osservato che durante lo sviluppo cerebrale vi è un progressivo spostamento dell'EGABA da valori più depolarizzati a quelli più iperpolarizzati. L'obiettivo era quello di caratterizzare i tessuti di controllo a diverse età dello sviluppo al fine di trovare caratteristiche simili nei tessuti di pazienti FCD e TSC che possano spiegare almeno in parte la loro elevata eccitabilità neuronale. È stato visto che questi pazienti presentano un EGABA con valori più depolarizzati e che non vi è una correlazione di questi valori con il progredire dell'età. Inoltre, è stato individuato un alterato rapporto nell'espressione dei due trasportatori del cloro NKCC1/KCC2 che determina uno squilibrio della concentrazione di questo ione all'interno della cellula e la rende più facilmente eccitabile. Infine, esperimenti elettrofisiologici insieme ad una analisi quantitativa di Real-time PCR hanno inoltre rivelato un'alterazione delle subunità dei recettori GABA e AMPA e uno squilibrio del rapporto delle correnti glutammatergiche/GABAergiche che confermano ancora una volta la presenza nei tessuti FCD e TSC di caratteristiche tipiche di un cervello immaturo. Queste osservazioni supportano il potenziale contributo dell'alterata funzionalità recettoriale in tessuti TSC ed FCD e avvalorano la nuova ipotesi che differenti patologie dello sviluppo cerebrale possano condividere caratteristiche di immaturità che determinano l'insorgere delle crisi epilettiche.

La displasia corticale focale (FCD) e la sclerosi tuberosa (TSC) sono due delle più frequenti malformazioni corticali che si riscontrano in pazienti pediatrici sottoposti a chirurgia dell'epilessia, spesso associate a disordini dello sviluppo intellettuale, quali deficit cognitivi ed autismo.

Studi precedenti hanno mostrato un'alterazione nella trasmissione GABAergica e glutammatergica nel cervello di questi pazienti, rivelando così uno squilibrio tra inibizione ed eccitazione che può spiegare almeno in parte l'alta incidenza di crisi epilettiche.

I recettori GABAA sono canali anionici formati dall'associazione di 5 subunità, per lo più permeabili al cloro. È noto come il cloro rivesta un ruolo chiave nella trasmissione inibitoria: nei neuroni maturi infatti, la concentrazione intracellulare di questo ione è bassa. In seguito 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.

Questa sottile regolazione delle concentrazioni interna ed esterna del cloro è mediata da due trasportatori NKCC1 e KCC2; il primo introduce cloro all'interno della cellula, mentre il secondo lo estrude. Un'alterazione del rapporto di questi trasportatori può quindi interferire con la concentrazione interna di cloro della cellula nonché renderla più facilmente eccitabile. Sebbene la variazione del rapporto di

di espressione dei due trasportatori durante le varie fasi dello sviluppo sia già stata investigata in modelli animali, lo studio su tessuti umani è spesso di difficile attuazione data la scarsa disponibilità di materiale e la difficile reperibilità.

Poiché studi precedenti suggeriscono che l'alterata eccitabilità neuronale presente in questi pazienti possa essere in parte dovuta alla presenza di caratteristiche tipiche di un cervello immaturo, lo scopo del progetto è stato quello di indagare se tessuti di pazienti TSC e FCD potessero mantenere recettori GABA e AMPA con caratteristiche simili a quelle riscontrabili in un cervello umano ai primi stadi di sviluppo così da spiegare uno dei possibili meccanismi che possono contribuire all'insorgere delle crisi epilettiche in questi pazienti.

In particolare, lo scopo è stato indagare:

- il potenziale di inversione della corrente GABA (EGABA) in tessuti TSC e FCD e confrontarli con i valori ottenuti in pazienti pediatrici di controllo di età paragonabile. L'intenzione era quella di capire se anche tessuti TSC e FCD avessero EGABA con valori più depolarizzati che rendono la cellula più facilmente eccitabile

- l'espressione dei trasportatori del cloro NKCC1 e KCC2 nei tessuti di pazienti FCD e TSC in quanto la loro alterata funzionalità in questi tessuti potrebbe aprire la strada a cure farmacologiche che prevedano la modulazione dei due trasportatori NKCC1 e KCC2 alle loro condizioni fisiologiche.

- l'analisi del rapporto delle correnti GABA/AMPA e delle subunità GluA1/GluA2 in modo da individuare altre caratteristiche simili a tessuti pediatrici di controllo ai primi stadi di sviluppo cerebrale.

I tessuti di pazienti pediatrici da autopsie a diverse stadi di sviluppo sono stati forniti dalla Dr.ssa Eleonora Aronica del Dip. di Neuropatologia dell'Università di Amsterdam. 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 (0,6-1 μg) 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.

Grazie a questo progetto sono stati ottenuti ottimi risultati che hanno portato ad una pubblicazione su una rivista scientifica di impatto internazionale (Ruffolo et al., *Neurobiology of Disease* 2016). Grazie alla tecnica del microtrapianto di membrane umane in oociti di *Xenopus*, è stato possibile analizzare tessuto umano di pazienti con TSC e FCD e sono stati ottenuti i seguenti risultati:

- i valori del potenziale di inversione del GABA in tessuti di pazienti TSC e FCD risultano simili a quelli ottenuti in tessuti di controllo in età prenatale e primo periodo di vita post-natale. Inoltre, a differenza dei tessuti di controllo, non è stata trovata nessuna correlazione tra valori di EGABA ed età dei pazienti, sintomo che in tessuti TSC ed FCD permangono caratteristiche di uno sviluppo cerebrale immaturo.

- sono stati analizzati i livelli di espressione dei trasportatori del cloro NKCC1 e KCC2 nei tessuti FCD e TSC al fine di individuare un loro contributo nel mantenere i valori di EGABA alterati ed è stato individuato un forte squilibrio del rapporto tra NKCC1/KCC2 in tessuti TSC che può spiegare l'alterata eccitabilità neuronale in questi pazienti.

– esperimenti elettrofisiologici insieme ad una analisi quantitativa di Real-time PCR hanno inoltre rivelato un’alterazione delle subunità dei recettori GABA e AMPA e uno squilibrio del rapporto delle correnti glutammatergiche/GABAergiche che confermano ancora una volta la presenza nei tessuti FCD e TSC di caratteristiche simili ad età precoci dello sviluppo cerebrale dove è più presente un’ aumentata eccitabilità neuronale.

Laboratorio di Biochimica dell’Invecchiamento

Identificazione di determinanti cellulari e molecolari 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 tipo2 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-1 alpha, 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-1 alpha 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 progetto di ricerca si propone di raggiungere sono:

1) Validare l'efficienza dei processi osservati nel PD. Si studia l'asse ROS/ATGL/PGC-1alpha in modelli murini di PD. In particolare, si valuta 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 valuta 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 valuta 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 determinano gli effetti di regimi nutrizionali (digiuno intermittente, dieta ad alto contenuto di grassi) in cellule neuronali, muscolari e adipociti allo scopo di identificare fattori cellula specifici che possano favorire l'espressione di ATGL e PGC-1alpha.

Materiali e Metodi:

– Sono utilizzate cellule dopaminergiche di neuroblastoma umano SH-SY5Y, preadipociti (3T3-L1) e mioblasti murini (C2C12). Le cellule sono trattate con tossine mitocondriali ampiamente impiegate nei modelli sperimentali di PD (rotenone, MPTP, 6-OHDA). Per mimare il regime di restrizione calorica, viene 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 sono trattate con una miscela di acidi grassi (es. acido oleico e linolenico). Per modulare la concentrazione di glutatione viene 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 ottenuti sono suddivisi in base agli obiettivi che il progetto si proponeva di raggiungere:

1. Validazione dell'efficienza dei processi osservati nel PD. Si studia l'asse ROS/ATGL/PGC-1alpha in modelli murini di PD.

In questi dati preliminari non ancora pubblicati dimostrano un significativo calo dell'espressione di ATGL e PGC-1alpha sia in alcune aree del cervello che nel tessuto muscolare scheletrico di topi trattati con rotenone (tossina ampiamente utilizzata nei modelli sperimentali di PD). Questi risultati hanno indirizzato a studiare gli effetti della carenza di ATGL nel tessuto muscolare scheletrico e ad individuare un calo fisiologico della proteina con l'invecchiamento (Aquilano et al. Oncotarget 2016).

In questo studio è stato dimostrato che il calo di ATGL si associa ad un aumento dello stress ossidativo a carico delle proteine come causa di una difettiva risposta antiossidante mediata proprio dall'asse ATGL-PPARalpha-PGC-1alpha.

2. Determinare il ruolo del glutatione nella modulazione di tale asse di segnalazione e/o nelle eventuali alterazioni osservate nel punto 1.

In precedenza è stato dimostrato che diminuiti livelli di GSH fanno aumentare la concentrazione di ROS/NO che a loro volta funzionano da secondi messaggeri nel potenziare la risposta adattativa a condizioni di stress (come quelle riscontrate nel PD). In questo contesto è stato approfondito il ruolo del fattore di trascrizione p53 la cui attività trascrizionale è stata ampiamente correlata sia al mantenimento dell'omeostasi muscolare sia alla sarcopenia durante l'invecchiamento. E' stato dimostrato che durante l'invecchiamento la percentuale di p53 nitrosilato diminuisce a livello nucleare con conseguente alterazione della funzionalità delle proteine muscolari. Tale processo è dovuto ad un minore reclutamento dell'enzima ossido nitrico sintasi neuronale a livello nucleare (Baldellil e Ciriolo, Aging 2016). Questi processi sono analizzati in modelli murini PD.

3. Sugerire approcci nutrizionali e farmacologici innovativi per la prevenzione ed il trattamento del PD. E' stato valutato tramite un lavoro di metanalisi se vari regimi di restrizione calorica (tra cui il digiuno intermittente) aumentano marcatori di longevità correlati alla funzione del tessuto adiposo. In particolare, è stato dimostrato che la restrizione calorica determina una diminuzione nella produzione di adipochine correlate allo stato infiammatorio del tessuto adiposo quali il TNF-alpha ed un aumento di adipochine con effetti antidiabetici quali l'adiponectina. Parallelamente, questo regime di digiuno determina una perdita di massa grassa ed un miglioramento del quadro metabolico sistemico quali una diminuzione dell'insulinemia e di IGF-1 (Lettieri Barbato et al. Aging 2016).

I risultati attesi per il 2017 sono suddivisi di seguito in base agli obiettivi che il progetto si propone di raggiungere:

1) Validare l'efficienza dei processi osservati nel PD. Si studia l'asse ROS/ATGL/PGC-1alpha in modelli murini di PD. Si intende approfondire gli studi ottenuti per poter validare se le variazioni osservate potranno essere utilizzate come marcatori predittivi o come fattori di rischio del PD.

2) 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.

3) Sugerire 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 BRAIN CONNECTIVITY

Analisi di connettività cerebrale per predire la conversione in Alzheimer di soggetti con Mild Cognitive Impairment (MCI)

Diversi studi hanno mostrato che i pazienti Alzheimer (AD) presentano un legame funzionale anomalo dei ritmi elettroencefalografici (EEG) tra le diverse regioni corticali rispetto ai soggetti sani, se resi omogenei per età.

Essendo l'AD una malattia neurodegenerativa che si manifesta come forma di disconnessione cerebrale, molti sforzi si stanno concentrando sullo studio di un modello di funzionamento del cervello come un ampio intrigo di circuiti – che si collegano e scollegano dinamicamente tra di loro - attraverso tecniche basate sulla Teoria dei Grafi. Queste teorie permettono di valutare le modulazioni spazio-temporali (patologiche o fisiologiche) dei network attraverso indici rappresentativi dei processi di integrazione e segregazione cerebrale.

Molti risultati dimostrano che i soggetti con un declino cognitivo lieve (MCI) possono essere considerati come intermedi tra lo stato di invecchiamento fisiologico (anziani sani) e patologico (pazienti AD). Tale variazione si presenta anche nei principali parametri EEG. Di questi soggetti MCI solo una percentuale (circa la metà) convertono verso una demenza conclamata come l'AD. Conoscere anche solo un anno prima quali saranno gli MCI destinati a convertire (o anche solo a peggiorare in maniera considerevole il loro stato clinico) potrebbe essere di enorme importanza non solo per il Sistema Sanitario Nazionale che ritarderebbe la loro ospedalizzazione, ma soprattutto per i pazienti ed i loro cari che avrebbero a disposizione un periodo più lungo per organizzarsi.

L'obiettivo del progetto di ricerca è quello di individuare markers EEG in grado di caratterizzare i pazienti neurologici, correlando questi dati con la variazione della loro condizione clinica ad un follow-up di circa un anno. Il maggior numero possibile di soggetti MCI ed AD valutato in un periodo di baseline e dopo un anno con accurate verifiche neurologiche e neuropsicologiche. Si cerca di verificare l'ipotesi che lo studio delle sorgenti e della connettività funzionale cortico-corticale alla base dei ritmi EEG cerebrali a riposo, combinate con informazioni neuropsicologiche e di marcatori biologici della demenza, fornisca importanti informazioni predittive sul possibile declino cognitivo di soggetti in uno stadio preclinico di declino cognitivo lieve (MCI), e come i ritmi cerebrali possano dare delle indicazioni in uno studio longitudinale di soggetti con AD.

Sono eseguite diverse analisi statistiche per il raggiungimento dei seguenti obiettivi:

- identificare le variabili EEG in grado di discriminare più chiaramente tra i soggetti MCI quelli che risulteranno stabili al follow-up, da quelli che varieranno tale valore (aumentandolo o diminuendolo);
- usare le variabili discriminative per valutare i ritmi EEG in condizioni di riposo ad occhi chiusi che possano fornire informazioni neurofisiologiche attendibili sulla transizione da MCI ad AD, in linea con "l'ipotesi di transizione" sulla continuità strutturale e funzionale del cervello fra MCI e AD come sindrome da disconnessione cerebrale.

L'età dei soggetti è stata pareggiata tra i gruppi e comunque compresa tra 55 e 85 anni. La diagnosi dei soggetti è stata effettuata secondo le linee guida internazionali NINCDS-ADRDA e DSM IV. Scale psicometriche cliniche hanno testato la memoria, l'attenzione, il ragionamento astratto, la funzione visuo-spaziale, la fluidità e la pratica verbale.

La raccolta multi-modale dei dati include inoltre anche dati EEG in condizioni di riposo ad occhi chiusi e ad occhi aperti.

La raccolta dei dati clinici, neurofisiologici, strumentali e di laboratorio è stata effettuata in un periodo di attività basale (baseline).

Le registrazioni EEG saranno fatte su almeno 19 canali (in registrazioni cliniche) con preferenza alle registrazioni con 64 (in registrazioni su soggetti sani volontari) posizionati secondo sistema internazionale 10-20 aumentato con frequenza di campionamento di almeno 256 Hz.

Di seguito sono riportate le principali tecniche di analisi applicate.

L'analisi spettrale con FFT (tecnica di Welch, finestra di Hanning) per il calcolo dello spettro di densità di potenza dei ritmi EEG con risoluzione di 0.5 Hz. Sono prese in esame sei bande fisse: 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), e beta 2 (20-30 Hz). Il software sLORETA è utilizzato per l'analisi delle sorgenti corticali EEG. sLORETA calcola soluzioni lineari 3-D per il problema inverso dell'EEG attraverso un modello di testa sferico a tre strati includenti lo scalpo, il cranio e i compartimenti del cervello, suddividendo il cervello in oltre 6000 voxels (risoluzione 5 mm), con ciascun voxel equivalente ad un dipolo di corrente.

La connettività funzionale cortico-corticale alla base dei ritmi cerebrali EEG è calcolata sulle sorgenti cerebrali nella condizione di resting EEG mediante la funzione di Lagged Linear Connectivity implementata in eLORETA sulle regioni cerebrali di interesse (ROI).

Per ogni soggetto è costruito un grafo pesato e non direzionato dove le ROI erano i nodi ed i valori di connettività i pesi da attribuire alle connessioni tra i nodi presenti nel modello di network implementato con la teoria dei grafi.

Sono dunque calcolati per ogni rete cerebrale: il coefficiente di Clustering che fornisce una misura locale di segregazione cerebrale, il Characteristic Path Length, che rappresenta una misura globale di integrazione cerebrale e il coefficiente di Small-World, parametro di bilanciamento tra i due suddetti processi.

Le attività legate al presente progetto di ricerca sono state:

- i) il reclutamento dei soggetti sperimentali attraverso la collaborazione con il centro reclutante -il Policlinico A. Gemelli di Roma- che provvede a fornire i dati clinici a baseline e al follow-up;
- ii) la registrazione dei dati EEG;
- iii) le analisi dei risultati comportamentali al compito;
- iv) le analisi dei dati EEG;
- v) le analisi statistiche per il raggiungimento degli obiettivi proposti;
- vi) la stesura di manoscritti per riviste internazionali per la migliore divulgazione dei risultati ottenuti.

Ci si prefigge di identificare le variabili EEG in grado di discriminare più chiaramente tra i soggetti MCI quelli che risulteranno stabili, ovvero non varieranno il loro valore di MMSE al follow-up, da quelli che varieranno tale valore (aumentandolo o diminuendolo) in modo da fornire un modello statistico che enfatizzi la più efficace combinazione delle variabili EEG raccolte in grado di prevedere il decorso clinico in un anno.

Si prevede che i ritmi EEG in condizioni di riposo ad occhi chiusi possano fornire informazioni neurofisiologiche attendibili sulla connettività cerebrale e come questa rappresenti patterns di transizione da MCI ad AD, in linea con "l'ipotesi di transizione" sulla continuità strutturale e funzionale del cervello fra le condizioni di MCI ed AD come sindrome da disconnessione cerebrale.

Analisi di connettività cerebrale per la valutazione del recupero clinico di soggetti con stroke

L'ictus è la terza causa di mortalità e la prima di disabilità cronica in tutto il mondo. La stragrande maggioranza dei pazienti sperimenta un certo grado di recupero funzionale nei primi mesi o nelle prime settimane. Tuttavia, marcatori precoci capaci di prognosticare il grado di recupero in pazienti con simile quadro clinico non sono ancora disponibili, così come non sono ancora noti i meccanismi alla base della differenziazione dei processi di diverso recupero.

L'obiettivo del progetto di ricerca è quello di individuare markers EEG in grado di caratterizzare i pazienti con ictus, correlando questi dati con la variazione della loro condizione clinica. Si è voluta verificare l'ipotesi che lo studio delle sorgenti e della connettività funzionale cortico-corticale alla base dei ritmi EEG cerebrali a riposo, combinate con informazioni neuropsicologiche e di marcatori biologici fornisca importanti informazioni predittive sul possibile recupero dopo ictus.

Vengono eseguite diverse analisi statistiche per il raggiungimento dei seguenti obiettivi:

- i. identificare le variabili EEG in grado di discriminare più chiaramente tra i soggetti sani rispetto ai soggetti che hanno subito un ictus e fornire un modello statistico che enfatizzi la più efficace combinazione delle variabili EEG raccolte in grado di prevedere il decorso clinico;
- ii. usare le variabili discriminative per valutare il recupero clinico sulla base dei dati raccolti nella fase iniziale dello studio.

L'età dei soggetti è pareggiata tra i gruppi e comunque compresa tra 55 e 85 anni. Scale psicometriche cliniche testano la memoria, l'attenzione, il ragionamento astratto, la funzione visuo-spaziale, la fluidità e la pratica verbale. La raccolta multi-modale dei dati include inoltre anche dati EEG in condizioni di riposo ad occhi chiusi e ad occhi aperti. La raccolta dei dati clinici, neurofisiologici, strumentali e di laboratorio è effettuata in un periodo di attività basale (baseline). Le registrazioni EEG saranno fatte su almeno 19 canali (in registrazioni cliniche) con preferenza alle registrazioni con 64 (in registrazioni su soggetti sani volontari) posizionati secondo sistema internazionale 10-20 aumentato con frequenza di campionamento di almeno 256 Hz.

Di seguito sono riportate le principali tecniche di analisi applicate.

L'analisi spettrale con FFT (tecnica di Welch, finestra di Hanning) per il calcolo dello spettro di densità di potenza dei ritmi EEG con risoluzione di 0.5 Hz. Sono prese in esame sei bande fisse: 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), e beta 2 (20-30 Hz). Il software sLORETA è utilizzato per l'analisi delle sorgenti corticali EEG. sLORETA calcola soluzioni lineari 3-D per il problema inverso dell'EEG attraverso un modello di testa sferico a tre strati includenti lo scalpo, il cranio e i compartimenti del cervello, suddividendo il cervello in oltre 6000 voxels (risoluzione 5 mm), con ciascun voxel equivalente ad un dipolo di corrente.

La connettività funzionale cortico-corticale alla base dei ritmi cerebrali EEG è calcolata sulle sorgenti cerebrali nella condizione di resting EEG mediante la funzione di Lagged Linear Connectivity implementata in eLORETA sulle regioni cerebrali di interesse (ROI).

Per ogni soggetto è costruito un grafo pesato e non direzionato dove le ROI sono i nodi ed i valori di connettività i pesi da attribuire alle connessioni tra i nodi presenti nel modello di network implementato con la teoria dei grafi.

Sono dunque calcolati per ogni rete cerebrale: il coefficiente di Clustering che fornisce una misura locale di segregazione cerebrale, il Characteristic Path Length, che rappresenta una misura globale di integrazione cerebrale e il coefficiente di Small-World, parametro di bilanciamento tra i due suddetti processi.

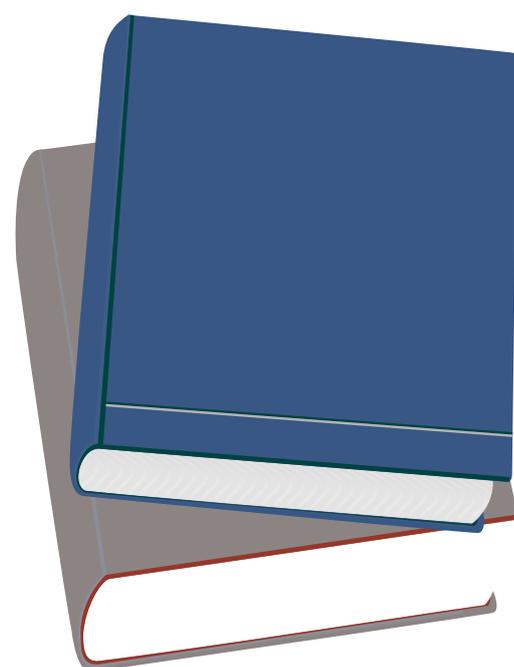
Le attività legate al presente progetto di ricerca sono:

- i) il reclutamento dei soggetti sperimentali attraverso la collaborazione con il centro reclutante -il Policlinico A. Gemelli di Roma- che provvederà a fornire i dati clinici a baseline e al follow-up;
- ii) la registrazione dei dati EEG;
- iii) le analisi dei risultati comportamentali al compito;
- iv) le analisi dei dati EEG come descritto nella sezione dei metodi;

v) le analisi statistiche per il raggiungimento degli obiettivi proposti;
vi) la stesura di manoscritti per riviste internazionali per la migliore divulgazione dei risultati ottenuti.

Il progetto ha un notevole impatto potenziale sia per la conoscenza scientifica che per la pratica clinica. I risultati possono fornire una caratterizzazione del recupero funzionale dopo ictus in risposta alla riabilitazione e la sua eventuale valorizzazione tramite metodi che utilizzano indici quantitativi di eccitabilità/connettività corticale ottenuta tramite teoria dei grafi applicata a dati EEG. Comprendere l'interazione tra l'eccitabilità, la connettività e la complessità della rete conseguente ai danni causati da ictus nella sua fase acuta e il recupero durante il follow-up serve a far luce sui meccanismi fisiologici corticali della perdita di funzionalità e del suo recupero.

Ci si prefigge di identificare le variabili EEG in grado di discriminare più chiaramente tra i soggetti di controllo e i pazienti con ictus.



PUBBLICAZIONI

Area Riabilitazione Neuromotoria

Franceschini M, Massimiani MP, Paravati S, Agosti M.

Return to Work: A cut-off of FIM gain with Montebello Rehabilitation Factor Score in order to identify predictive factors in subjects with acquired brain injury.

PLoS One. 2016 Oct 25;11(10):e0165165. eCollection 2016.

Return to work (RTW) for people with acquired brain injury (ABI) represents a main objective of rehabilitation: this work presents a strong correlation between personal well-being and quality of life. The aim of this study is to investigate the prognostic factors that can predict RTW after ABI (traumatic or non-traumatic aetiology) in patients without disorders of consciousness (e.g. coma, vegetative or minimally conscious state) at the beginning of their admission to rehabilitation. At the end of a 6-month follow-up after discharge, data were successfully collected in 69 patients. The rehabilitation effectiveness (functional Recovery) between admission and discharge was assessed by Functional Independent Measure (FIM) gain, through the Montebello Rehabilitation Factor Score (MRFS), which was obtained as follows: $(\text{discharge FIM} - \text{admission FIM}) / (\text{Maximum possible FIM} - \text{Admission FIM}) \times 100$. The cut-off value (criterion) deriving from MRFS, which helped identify RTW patients, resulted in .659 (sn 88.9%; sp 52.4%). Considering the Mini Mental State Examination (MMSE) and the MRFS data, the multivariable binary logistic regression analysis presented 62.96% of correct RTW classification cases, 80.95% of non-RTW leading to an overall satisfactory predictability of 73.91%. The results of the present study suggest that occupational therapy intervention could modify cut-off in patients with an MFRS close to target at the end of an in-hospital rehabilitative program thus developing their capabilities and consequently surpassing cut-off itself.

Area Parkinson e Disturbi del Movimento

Camerota F, Celletti C, Suppa A, Galli M, Cimolin V, Filippi GM, La Torre G, Albertini G, Stocchi F, De Pandis MF.

Focal muscle vibration improves gait in parkinson's disease: A pilot randomized, controlled trial.

Movement Disorders Clinical Practice. Volume 3, Issue 6, Version of Record online: 11 FEB 2016

In Parkinson's disease (PD), gait disorders lead to increased risk of falls and patients' reduced participation and independence. Several observations suggest that a single session of focal muscle vibration (fMV) applied to trunk or lower limb muscles during gait may improve several gait variables in patients with PD. The possible long-term beneficial effects of repetitive sessions of fMV (r-fMV) on gait of patients with PD have been investigated. A randomized, controlled trial study has been conducted in an outpatient rehabilitation department. Twenty patients with PD diagnosis have been randomized in two groups: "real" or "sham" r-fMV application to quadriceps and paraspinal muscles in patients with PD. Gait was evaluated with objective gait analysis, and a number of variables, including velocity, step length, stride length, percentage of stance, double support duration, cadence, swing velocity, and step width, have been measured. Gait analysis was performed before and 24 hours and 1 and 3 weeks after r-fMV. After real, but not sham, r-fMV, patients with PD had significant gait improvement as a result of increased walking velocity and stride length. The r-fMV-induced beneficial after effects lasted at least 1 week after the end of stimulation. Data emerging from our pilot randomized, controlled trial study suggest that r-fMV may improve gait disorders in patients with PD. r-fMV might be a feasible, safe approach for possibly improving gait disorders in patients with PD and might enhance the impact of specific rehabilitation programs in PD.

Galli M, Cimolin V, De Pandis MF, Le Pera D, Sova I, Albertini G, Stocchi F, Franceschini M.

Robot-assisted gait training versus treadmill training in patients with Parkinson's disease: a kinematic evaluation with gait profile score.

Funct Neurol. 2016 Jul-Sep;31(3):163-170.

The purpose of this study was to quantitatively compare the effects, on walking performance, of end-effector robotic rehabilitation locomotor training versus intensive training with a treadmill in Parkinson's disease (PD). Fifty patients with PD were randomly divided into two groups: 25 were assigned to the robot-assisted therapy group (RG) and 25 to the intensive treadmill therapy group (IG). They were evaluated with clinical examination and 3D quantitative gait analysis [gait profile score (GPS) and its constituent gait variable scores (GVSs) were calculated from gait analysis data] at the beginning (T0) and at the end (T1) of the treatment. In the RG no differences were found in the GPS, but there were significant improvements in some GVSs (Pelvic Obl and Hip Ab-Add). The IG showed no statistically significant changes in either GPS or GVSs. The end-effector robotic rehabilitation locomotor training improved gait kinematics and seems to be effective for rehabilitation in patients with mild PD.

Ray Chaudhuri K, Rojo JM, Schapira AH, Brooks DJ, Stocchi F, Odin P, Antonini A, Brown RG, Martinez-Martin P. Correction of one of the authors' name (Brown):

A Proposal for a Comprehensive Grading of Parkinson's Disease Severity Combining Motor and Non-Motor Assessments: Meeting an Unmet Need.

PLoS One. 2016 Feb 19;11(2):e0150130.

Non-motor symptoms are present in Parkinson's disease (PD) and a key determinant of quality of life. The Non-motor Symptoms Scale (NMSS) is a validated scale that allows quantifying frequency and severity (burden) of NMS. We report a proposal for using NMSS scores to determine levels of NMS burden (NMSB) and to complete PD patient classification. This was an observational, cross-sectional international study of 935 consecutive patients. Using a distribution of NMSS scores by quartiles, a classification based on levels from 0 (no NMSB at all) to 4 (very severe NMSB) was obtained and its relation with Hoehn and Yahr (HY) staging, motor and health-related quality of life scales was analyzed. Concordance between NMSB levels and grouping based on clinician's global impression of severity, using categorical regression, was determined. Disability and HRQoL predictors were identified by multiple regression models. The distribution of motor and QoL scales scores by HY and NMSB levels was significantly discriminative. The difference in the classification of cases for both methods, HY and NMSB, was significant ($\gamma=0.45$; $ASE=0.032$). Concordance between NMSB and global severity-based levels from categorical regression was 91.8%, ($kappa=0.97$). NMS score was predictor of disability and QoL. Current clinical practice does not address a need for inclusion of non-motor scores in routine assessment of PD in spite of the overwhelming influence of NMS on disability and quality of life. Our data overcome the problems of "pure motor assessment" and we propose a combined approach with addition of NMSB levels to standard motor assessments.

LeWitt PA, Hauser RA, Grosset DG, Stocchi F, Saint-Hilaire MH, Ellenbogen A, Leinonen M, Hampson NB, DeFeo-Fraulini T, Freed MI, Kieburtz KD.

A randomized trial of inhaled levodopa (CVT-301) for motor fluctuations in Parkinson's disease.

Mov Disord. 2016 Sep;31(9):1356-1365.

Although levodopa is the most effective oral PD therapy, many patients experience motor fluctuations, including sudden loss of dose effect and delayed benefit. CVT-301 is a levodopa inhalation powder with the potential for rapid onset of action. The objective of this study was to evaluate CVT-301 self-administered by PD patients to relieve OFF episodes. PD patients with ≥ 2 hours per day of OFF time despite oral levodopa ≥ 4 times per day were randomized to CVT-301 or placebo for 4 weeks, to be used up to 3 times per day for OFF episodes. After 2 weeks, the study-drug dose was escalated from 35 to 50 mg. The primary end point was mean change in UPDRS Part III score from a predose OFF state to the average of postdose scores obtained at

10, 20, 30, and 60 minutes, as assessed in-clinic at the end of week 4. Home diaries were recorded. Eighty-six patients used the study drug at an average frequency of 2.1 times per day for CVT-301 and for placebo. At 4 weeks, least-squares mean change in UPDRS Part III score favored CVT-301 by 7.0 points ($P < 0.001$). A treatment effect was evident at 10 minutes. At 4 weeks, least-squares mean OFF-time change from baseline favored CVT-301 by 0.9 hours per day ($P = 0.045$). The most frequently reported adverse events in the CVT-301 group were dizziness, cough, and nausea, each in 7% (3 of 43 patients).

CVT-301 self-administered during OFF episodes provided rapid improvement of motor function, and daily OFF time was significantly reduced at the higher dose. CVT-301 was generally safe and well-tolerated. © 2016 The Authors. *Movement Disorders* published by Wiley Periodicals, Inc. on behalf of International Parkinson and Movement Disorder Society.

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;April 1;26(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.

Stirpe P, Hoffman M, Badiali D, Colosimo C.

Constipation: an emerging risk factor for Parkinson's disease?

Eur J Neurol. 2016 Nov;23(11):1606-1613.

Constipation is the most prominent and disabling manifestation of lower gastrointestinal (GI) dysfunction in Parkinson's disease (PD). The prevalence of constipation in PD patients ranges from 24.6% to 63%; this variability is due to the different criteria used to define constipation and to the type of population enrolled in the studies. In addition, constipation may play an active role in the pathophysiological changes that underlie motor fluctuations in advanced PD through its negative effects on absorption of levodopa. Several clinical studies now consistently suggest that constipation may precede the first occurrence of classical motor features in PD. Studies in vivo, using biopsies of the GI tract and more recently functional imaging investigations, showed the presence of α -synuclein (α -SYN) aggregates and neurotransmitter alterations in enteric tissues. All these findings support the Braak proposed model for the pathophysiology of α -SYN aggregates in PD, with early pathological involvement of the enteric nervous system and dorsal motor nucleus of the vagus. Therefore, constipation could have the potential sensitivity to be used as a clinical biomarker of the prodromal phase of the disease. The use of colonic biopsies to look at α -SYN pathology, once confirmed by larger prospective studies, might eventually represent a feasible, albeit partially invasive, new diagnostic biomarker for PD.

Stocchi F, Torti M.

Adjuvant therapies for Parkinson's disease: critical evaluation of safinamide.

Drug Des Devel Ther. 2016 Feb 5;10:609-118.

Safinamide (SAF) is a new drug developed for the treatment of Parkinson's disease (PD). It is a benzylamino derivative with multiple mechanisms of action and antiparkinsonian, anticonvulsant, and neuroprotective properties. SAF inhibits monoamine oxidase B and dopamine reuptake and glutamate release, blocks voltage-dependent sodium channels, and modulates calcium channels. Although the antiparkinsonian effect can be ascribed in part to the inhibition of the monoamine oxidase B, which is complete at 50 mg, the enhanced benefit seen at the 100 mg dose is probably due to nondopaminergic mechanisms. SAF will represent an important option for patients with both early and advanced PD. In early PD patients, the addition of SAF to dopamine agonists may be an effective treatment strategy to improve motor function, prolong the use of dopamine agonists, and/or delay the introduction of levodopa. In advanced parkinsonian patients, SAF has been demonstrated to significantly increase on time with no, or nontroublesome dyskinesias. All studies performed have demonstrated its efficacy in benefiting both short-term and long-term quality-of-life outcomes in both early and advanced PD patients. SAF has been investigated in long-term (24 months), double-blind, placebo-controlled studies, where it showed a very good safety profile. SAF has not been studied in de novo PD patients, and its potential positive effect on dyskinesia deserves further dedicated studies.

Trenkwalder C, Berg D, Rascol O, Eggert K, Ceballos-Baumann A, Corvol JC, Storch A, Zhang L, Azulay JP, Broussolle E, Defebvre L, Geny C, Gostkowski M, Stocchi F, Tranchant C, Derkinderen P, Durif F, Espay AJ, Feigin A, Houeto JL, Schwarz J, Di Paolo T, Feuerbach D, Hockey HU, Jaeger J, Jakab A, Johns D, Linazasoro G, Maruff P, Rozenberg I, Sovago J, Weiss M, Gomez-Mancilla B.

A Placebo-Controlled Trial of AQW051 in Patients With Moderate to Severe Levodopa-Induced Dyskinesia.

Mov Disord. 2016 Jul;31(7):1049-1054.

This phase 2 randomized, double-blind, placebo-controlled study evaluated the efficacy and safety of the nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ agonist AQW051 in patients with Parkinson's disease and levodopa-induced dyskinesia.

Patients with idiopathic Parkinson's disease and moderate to severe levodopa-induced dyskinesia were randomized to AQW051 10 mg (n = 24), AQW051 50 mg (n = 24), or placebo (n = 23) once daily for 28 days. Coprimary end points were change in Modified Abnormal Involuntary Movement Scale and Unified Parkinson's Disease Rating Scale part III scores. Secondary outcomes included pharmacokinetics.

In total, 67 patients completed the study. AQW051-treated patients experienced no significant improvements in Modified Abnormal Involuntary Movement Scale or Unified Parkinson's Disease Rating Scale part III scores by day 28. AQW051 was well tolerated; the most common adverse events were dyskinesia, fatigue, nausea, and falls.

AQW051 did not significantly reduce dyskinesia or parkinsonian severity. © 2016 International Parkinson and Movement Disorder Society.

Trenkwalder C, Stocchi F, Poewe W, Dronamraju N, Kenney C, Shah A, von Raison F, Graf A.

Mavoglurant in Parkinson's patients with I-Dopa-Induced dyskinesias: two randomized phase 2 studies.

Mov Disord. 2016 Jul;31(7):1054-1058.

Two phase 2 randomized, double-blind studies were designed to evaluate efficacy and safety of immediate-release (study 1) and modified-release (study 2) mavoglurant formulations in PD I-dopa-induced dyskinesia.

Patients were randomized to mavoglurant 100-mg or placebo (4:3) groups (study 1) and mavoglu

mavoglurant 200-mg, mavoglurant 150-mg, or placebo (2:1:1) groups (study 2). Primary outcome was antidyskinetic efficacy, as measured by change from baseline to week 12 in modified Abnormal Involuntary Movement Scale total score.

Differences in least-squares mean (standard error) change in modified Abnormal Involuntary Movement Scale total score in week 12 did not reach statistical significance in either study (study 1: mavoglurant 100 mg twice a day versus placebo, 1.7 [1.31]; study 2: mavoglurant 150 mg twice a day (-1.3 [1.16]) and 200 mg twice a day (-0.2 [1.03]) versus placebo). Adverse events incidence was higher with mavoglurant than with placebo.

Both studies failed to meet the primary objective of demonstrating improvement of dyskinesia with mavoglurant treatment.

Area Cefalee e Dolore Neuropatico

Ambrosini A, Kisialiou A, Coppola G, Finos L, Magis D, Pierelli F, Schoenen J.

Visual and auditory cortical evoked potentials in interictal episodic migraine: An audit on 624 patients from three centres.

Cephalalgia. 2016 Aug 31. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27582121.

Many studies report a habituation deficit of visual evoked potentials (VEP) and/or increased intensity dependence of auditory evoked cortical potentials (IDAP) in episodic migraine patients between attacks. These findings have a pathophysiological interest, but their diagnostic utility is not known. To perform an audit on a large database of interictal VEP and IDAP recordings in episodic migraine patients and evaluate their diagnostic accuracy.

We pooled data for VEP habituation and IDAP measured in 624 episodic migraineurs (EM) and 360 healthy volunteers (HV) from three centers. Thresholds were calculated by Receiver Operating Curve analysis and used to calculate sensitivity, specificity, positive and negative likelihood ratios (LR+ and LR-) and the accuracy of each test, using ICHD diagnostic criteria as the gold standard.

In EM, VEP habituation was significantly lower than in HV, and IDAP slopes were significantly steeper. VEP (five blocks of 50 responses), VEP (six blocks of 100 responses) and IDAP had respectively 61.0%, 61.4% and 45.7% sensitivity, and 77.9%, 77.9% and 87.2% specificity. Their positive (LR+) and negative (LR-) likelihood ratios were respectively 2.760, 2.778, 3.570 and 0.500, 0.495, 0.623, with diagnostic accuracies of 65.3%, 69.0% and 54.3%. In combined VEP + IDAP recordings, an abnormality of at least one test had 83.4% sensitivity, 66.7% specificity, 2.504 LR+, 0.249 LR- and 81.1% accuracy.

In this large database, VEP habituation is significantly reduced and IDAP increased in episodic migraine patients between attacks. Taken alone, neither VEP nor IDAP has sufficient diagnostic accuracy. However, when both tests are performed in the same patient, an abnormality of at least one of them is highly predictive of interictal episodic migraine.

Ambrosini A, Kisialiou A, Schoenen J.

Visual and auditory cortical evoked potentials in interictal episodic migraine: An audit on 624 patients from three centres. Response to the letter by Omland et al.

Cephalalgia. 2016 Nov 21. pii: 0333102416680616. [Epub ahead of print]

Barbanti P, Aurilia C, Dall'Armi V, Egeo G, Fofi L, Bonassi S.

The phenotype of migraine with unilateral cranial autonomic symptoms documents increased peripheral and central trigeminal sensitization. A case series of 757 patients.

Cephalalgia. 2016 Dec;36(14):1334-1340.

Migraine with unilateral cranial autonomic symptoms (UAS) is a putative migraine endophenotype with convincing response to trigeminal-targeted treatments that still needs a thorough characterization.

The objective of this article is to carefully investigate the clinical phenotype of migraine with UAS in

in a large group of patients for more accurate migraine diagnoses, improved clinical management, and better outcome prediction.

We studied 757 consecutive episodic and chronic migraineurs in a tertiary headache clinic with face-to-face interviews, detailing in depth their lifestyle, sociodemographic and headache characteristics.

Migraineurs with UAS (37.4%) differed from the general migraine population with respect to longer attack duration (OR=2.47, $p < 0.02$, having >72-hour long attacks), more strictly unilateral (OR=3.18, $p < 0.001$) and severe headache (OR=1.72, $p = 0.011$), more frequent allodynia (OR=3.03, $p < 0.001$) and photophobia (OR=1.87, $p = 0.019$).

Migraine patients with UAS are characterized not only by symptoms due to intense peripheral trigeminal activation but also to central sensitization. Our study broadens the knowledge on the clinical and phenotypic characteristics of migraine with UAS, suggests pathophysiological implications, and supports the need for future prospective clinical studies.

Gasparini M, Aurilia C, Lubian D, Testa M.

Herbal remedies and the self-treatment of stress: An Italian survey.

European Journal of Integrative Medicine 8 (2016) 465-470

Increasingly, people with stress-related disorders seek alternative self-treatment remedies from pharmacies. The aim of the study was to survey the habits of Italians visiting pharmacies to obtain natural cures for stress, and investigate their short-term benefits in reducing perceived stress.

The study was conducted in 54 Italian pharmacies in 3 major cities. Participants older than 18 years, seeking remedies for stress manifestations were recruited and pharmacists recorded the herbal remedies participants chose. To assess whether the remedies effectively reduced perceived stress participants completed the Perceived Stress Scale-10 (PSS-10) at baseline and 15 days later (T1). A 10-point Likert self-assessment scale was used to measure the benefit experienced after treatment for 15 days.

Of the 374 subjects who completed the study, 235 chose two herbal remedies: valeriana and hops and passiflora or melissa. Another group heterogeneously used other remedies. At T1, t-test for paired samples showed a significant reduction in PSS scores, and one-way ANOVA confirmed the reduction between all groups ($p = 0.001$). Self-reported benefits differed significantly between the three groups ($p < 0.0001$). A greater reduction in PSS scores and a significantly higher self-experienced benefit in participants who used valerian + hops was identified compared to the other groups ($p = 0.002$). The chosen herbal remedies appeared to reduce perceived stress to a greater extent in women than in men.

The short-term use of herbal remedies seems effective in reducing perceived stress. Valeriana and hops combined seem more helpful than other herbal remedies. These findings obtained in Italian city pharmacies merit confirmation in population studies.

Grazzi L, Egeo G, Calhoun AH, McClure CK, Liebler E, Barbanti P.

Non-invasive Vagus Nerve Stimulation (nVNS) as mini-prophylaxis for menstrual/menstrually related migraine: an open-label study.

J Headache Pain. 2016 Dec;17(1):91. Epub 2016 Oct 3.

Menstrual migraine and menstrually related migraine attacks are typically longer, more disabling, and less responsive to medications than non-menstrual attacks. The aim of this study was to evaluate the efficacy, safety, and tolerability of non-invasive vagus nerve stimulation for the prophylactic treatment of menstrual migraine/menstrually related migraine.

Fifty-six enrolled subjects (menstrual migraine, 9 %; menstrually related migraine, 91 %), 33 (59 %) of whom were receiving other prophylactic therapies, entered a 12-week baseline period. Fifty-one subjects subsequently entered a 12-week treatment period to receive open-label prophylactic non-invasive vagus nerve stimulation adjunctively (31/51; 61 %) or as monotherapy (20/51; 39 %) on

day -3 before estimated onset of menses through day +3 after the end of menses. The number of menstrual migraine/menstrually related migraine days per month was significantly reduced from baseline (mean \pm standard error, 7.2 ± 0.7 days) to the end of treatment (mean \pm standard error, 4.7 ± 0.5 days; $P < 0.001$) (primary end point). Of all subjects, 39 % (95 % confidence interval: 26 %, 54 %) (20/51) had a ≥ 50 % reduction (secondary end point). For the other secondary end points, clinically meaningful reductions in analgesic use (mean change \pm standard error, -3.3 ± 0.6 times per month; $P < 0.001$), 6-item Headache Impact Test score (mean change \pm standard error, -3.1 ± 0.7 ; $P < 0.001$), and Migraine Disability Assessment score (mean change \pm standard error, -11.9 ± 3.4 ; $P < 0.001$) were observed, along with a modest reduction in pain intensity (mean change \pm standard error, -0.5 ± 0.2 ; $P = 0.002$). There were no safety/tolerability concerns.

These findings suggest that non-invasive vagus nerve stimulation is an effective treatment that reduces the number of menstrual migraine/menstrually related migraine days and analgesic use without safety/tolerability concerns in subjects with menstrual migraine/menstrually related migraine. Randomised controlled studies are warranted.

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 2016 May;17(5):924-930.

Objective: Pain prevalence data for patients at various stages after stroke. It's a repeated cross-sectional, observational epidemiological study. It's an hospital-based multicenter study. 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.

Laboratorio di Neurobiologia Cellulare e Molecolare

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. Epub 2016 Jan 14 Pubmed PMID: 26885401.

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.

De Chiara G, Racaniello M, Mollinari C, Marcocci ME, Aversa G, Cardinale A, Giovanetti A, Garaci E, Palamara AT, Merlo D.

Herpes simplex virus-type1 (HSV-1) impairs DNA repair in cortical neurons.

Frontiers in Aging Neuroscience. 2016;8:242. eCollection 2016.

Several findings suggest that Herpes simplex virus-1 (HSV-1) infection plays a role in the neurodegenerative processes that characterize Alzheimer's disease (AD), but the underlying mechanisms have yet to be fully elucidated. Here we show that HSV-1 productive infection in cortical neurons causes the accumulation of DNA lesions that include both single (SSBs) and double strand breaks (DSBs), which are reported to be implicated in the neuronal loss observed in neurodegenerative diseases. We demonstrate that HSV-1 downregulates the expression level of Ku80, one of the main components of non-homologous end joining (NHEJ), a major pathway for the repair of DSBs. We also provide data suggesting that HSV-1 drives Ku80 for proteasomal degradation and impairs NHEJ activity, leading to DSB accumulation. Since HSV-1 usually causes life-long recurrent infections, it is possible to speculate that cumulating damages, including those occurring on DNA, may contribute to virus induced neurotoxicity and neurodegeneration, further suggesting HSV-1 as a risk factor for neurodegenerative conditions.

Merlo D, Mollinari C, Racaniello M, Garaci E, Cardinale A.

DNA double strand breaks: a common theme in neurodegenerative diseases.

Curr Alzheimer Res. 2016;13(11):1208-1218.

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.

Merlo D, Mollinari C, Racaniello M, Garaci E, Cardinale A.

DNA double strand breaks: a common theme in neurodegenerative diseases.

Curr Alzheimer Res. 2016;13(11):1208-1218.

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 neurode-

generative diseases.

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 Plast. 2016;2016:3619274. Epub 2016 Jan 31.

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.

Laboratorio di Elettrofisiologia

Gambardella A, Labate A, Cifelli P, Ruffolo G, Mumoli L, Aronica E, Palma E.

Pharmacological modulation in mesial temporal lobe epilepsy: Current status and future perspectives.

Pharmacol Res. 2016 Nov;113(Pt A):421-425. Epub 2016 Sep 19.

Mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) is frequently associated with hippocampal sclerosis (Hs), possibly caused by a primary brain injury that occurs a long time before the appearance of neurological symptoms. MTLE-Hs is, however, a heterogeneous condition that evolves with time, involving both environmental and genetic components. Recent experimental studies emphasize that drugs or drug combinations that target modulation and circuitry reorganization of the epileptogenic networks favorably modify the complex molecular and cellular alterations underlying MTLE. In particular, the link between neuroinflammation, GABAAR and epilepsy has been extensively studied mainly because of the relevant therapeutic implications that the pharmacological modulation of these phenomena would have in the clinical practice. In this review, we briefly summarize the studies that could pave the road to develop new disease-modifying therapeutic strategies for pharmacoresistant MTLE patients. Both clinical observations in human MTLE and experimental findings will be discussed, highlighting the potential modulatory crosstalk between the deregulation of the inhibitory (GABAergic) transmission and the sustained activation of the innate immune response.

Palma E, Reyes-Ruiz JM, Lopercolo D, Roseti C, Bertollini C, Ruffolo G, Cifelli P, Onesti E, Limatola C, Miledi R, Inghilleri M.

Acetylcholine receptors from human muscle as pharmacological targets for ALS therapy.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Mar 15;113(11):3060-3065.

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease affecting motor neurons that leads to progressive paralysis of skeletal muscle. Studies of ALS have revealed defects in expression of acetylcholine receptors (AChRs) in skeletal muscle that occur even in the absence of motor neuron anomalies. The endocannabinoid palmitoylethanolamide (PEA) modified the clinical conditions in one ALS patient, improving muscle force and respiratory efficacy. By microtransplanting muscle membranes from selected ALS patients into *Xenopus* oocytes, we show that PEA reduces the desensitization of acetylcholine-evoked currents after repetitive neurotransmitter application (i.e., rundown). The same effect was observed using muscle samples from denervated (non-ALS) control patients. The expression of human recombinant $\alpha 1\beta 1\gamma\delta$ (γ -AChRs) and $\alpha 1\beta 1\epsilon\delta$ AChRs (ϵ -AChRs) in *Xenopus* oocytes revealed that PEA selectively affected the rundown of ACh currents in ϵ -AChRs. A clear up

-regulation of the $\alpha 1$ subunit in muscle from ALS patients compared with that from non-ALS patients was found by quantitative PCR, but no differential expression was found for other subunits. Clinically, ALS patients treated with PEA showed a lower decrease in their forced vital capacity (FVC) over time as compared with untreated ALS patients, suggesting that PEA can enhance pulmonary function in ALS. In the present work, data were collected from a cohort of 76 ALS patients and 17 denervated patients. Our results strengthen the evidence for the role of skeletal muscle in ALS pathogenesis and pave the way for the development of new drugs to hamper the clinical effects of the disease.

Ruffolo G, Iyer A, Cifelli P, Roseti C, Mühlebner A, van Scheppingen J, Scholl T, Hainfellner JA, Feucht M, Krsek P, Zamecnik J, Jansen JF, Spliet WGM, Limatola C, Aronica E, Palma E.

Functional aspects of early brain development are preserved in tuberous sclerosis complex (TSC) epileptogenic lesions.

Neurobiology of Disease 2016;96:93-101

Tuberous sclerosis complex (TSC) is a rare multi-system genetic disease characterized by several neurological disorders, the most common of which is the refractory epilepsy caused by highly epileptogenic cortical lesions. Previous studies suggest an alteration of GABAergic and glutamatergic transmission in TSC brain indicating an unbalance of excitation/inhibition that can explain, at least in part, the high incidence of epilepsy in these patients. Here we investigate whether TSC cortical tissues could retain GABAA and AMPA receptors at early stages of human brain development thus contributing to the generation and recurrence of seizures. Given the limited availability of pediatric human brain specimens, we used the microtransplantation method of injecting *Xenopus* oocytes with membranes from TSC cortical tubers and control brain tissues. Moreover, qPCR was performed to investigate the expression of GABAA and AMPA receptor subunits (GABAA $\alpha 1-5$, $\beta 3$, $\gamma 2$, δ ; GluA1, GluA2) and cation chloride co-transporters NKCC1 and KCC2. The evaluation of nine human cortical brain samples, from 15 gestation weeks to 15 years old, showed a progressive shift towards more hyperpolarized GABAA reversal potential (EGABA). This shift was associated with a differential expression of the chloride cotransporters NKCC1 and KCC2. Furthermore, the GluA1/GluA2 mRNA ratio of expression paralleled the development process. On the contrary, in oocytes micro-transplanted with epileptic TSC tuber tissue from seven patients, neither the GABAA reversal potential nor the GluA1/GluA2 expression showed similar developmental changes. Our data indicate for the first time, that in the same cohort of TSC patients, the pattern of both GABAAR and GluA1/GluA2 functions retains features that are typical of an immature brain. These observations support the potential contribution of altered receptor function to the epileptic disorder of TSC and may suggest novel therapeutic approaches. Furthermore, our findings strengthen the novel hypothesis that other developmental brain diseases can share the same hallmarks of immaturity leading to intractable seizures.

Laboratorio Biochimica dell'Invecchiamento

Aquilano K, Baldelli S, La Barbera L, Lettieri Barbato D, Tatulli G, Ciriolo MR.

Adipose triglycerides lipase decrement affects skeletal muscle homeostasis during aging through FAs-PPAR α -PGC-1 α antioxidant response.

Oncotarget. 2016 Apr 26;7(17):23019-23032.

During aging skeletal muscle shows an accumulation of oxidative damage as well as intramyocellular lipid droplets (IMLDs). However, although the impact of these modifications on muscle tissue physiology is well established, the direct effectors critical for their occurrence are poorly understood. Here we show that during aging the main lipase of triacylglycerols, ATGL, significantly declines in gastrocnemius and its downregulation in C2C12 myoblast leads to the accumulation of lipid droplets. Indeed, we observed an increase of oxidative damage to proteins in terms of carbonylation, S-nitrosylation and ubiquitination that is dependent on a defective antioxidant cell response mediated by ATGL-PPAR α -PGC-1 α . Overall our findings describe a pivotal role for

ATGL in the antioxidant/anti-inflammatory response of muscle cells highlighting this lipase as a therapeutic target for fighting the progressive decline in skeletal muscle mass and strength.

Lettieri Barbato D, Aquilano K.

Feast and famine: Adipose tissue adaptations for healthy aging.

Ageing Res Rev. 2016 Jul;28:85-93. Epub 2016 May 17.

Proper adipose tissue function controls energy balance with favourable effects on metabolic health and longevity. The molecular and metabolic asset of adipose tissue quickly and dynamically readapts in response to nutrient fluctuations. Once delivered into cells, nutrients are managed by mitochondria that represent a key bioenergetics node. A persistent nutrient overload generates mitochondrial exhaustion and uncontrolled reactive oxygen species ((mt)ROS) production. In adipocytes, metabolic/molecular reorganization is triggered culminating in the acquirement of a hypertrophic and hypersecretory phenotype that accelerates aging. Conversely, dietary regimens such as caloric restriction or time-controlled fasting endorse mitochondrial functionality and (mt)ROS-mediated signalling, thus promoting geroprotection. In this perspective view, we argued some important molecular and metabolic aspects related to adipocyte response to nutrient stress. Finally we delineated hypothetical routes by which molecularly and metabolically readapted adipose tissue promotes healthy aging.

Vegliante R, Desideri E, Di Leo L, Ciriolo MR.

Dehydroepiandrosterone triggers autophagic cell death in human hepatoma cell line HepG2 via JNK-mediated p62/SQSTM1 expression.

Carcinogenesis. 2016 Mar;37(3):233-244. Epub 2016 Jan 13.

Autophagy is a catabolic process that cancer cells usually exploit during stress conditions to provide energy by recycling organelles and proteins. Beyond its prosurvival role, it is well accepted that occurrence of autophagy is often associated with a particular type of programmed cell death known as autophagic cell death (ACD). Dehydroepiandrosterone (DHEA) is an endogenous hormone showing anticancer properties even if the underlying mechanisms are not fully clear yet. Here, we provide evidence that DHEA induces ACD in human hepatoma cell line, HepG2. Indeed, autophagy inhibitors (i.e. 3-methyladenine or Atg5 siRNA) significantly reduced the percentage of dead cells. DHEA induces p62-dependent autophagy, which turns detrimental and brings about death. DHEA stimulates reactive oxygen species-independent jun N-terminal kinase (JNK) phosphoactivation and the treatment with JNK inhibitor reduces p62 mRNA levels, as well as DHEA-induced ACD. The transcription factor nuclear factor (erythroid-derived-2)-like-2 (Nrf2) constitutes the link between JNK and p62 since its migration to the nucleus is suppressed by JNK inhibitor and its inhibition through a dominant negative Nrf2 plasmid transfection decreases p62 protein levels. Overall, our data indicate that DHEA induces ACD in HepG2 via a JNK-Nrf2-p62 axis. Thus, DHEA could represent a new appealing drug for eliminating tumor cells through autophagy particularly in apoptosis-resistant cases.

Laboratori di Neurofisiologia e di Brain Connectivity

Altamura C, Scrascia F, Quattrocchi CC, Errante Y, Gangemi E, Curcio G, Ursini F, Silvestrini M, Maggio P, Beomonte Zobel B, Rossini PM, Pasqualetti P, Falsetti L, Vernieri F.

Regional MRI diffusion, white-matter hyperintensities, and cognitive function in Alzheimer's Disease and vascular dementia.

J Clin Neurol. 2016 Apr;12(2):201-208.

An increase in brain water diffusivity as measured using magnetic resonance imaging (MRI) has been recently reported in normal-appearing white matter (NAWM) in patients affected by cognitive impairment. However, it remains to be clarified if this reflects an overt neuronal tissue disruption that leads to degenerative or microvascular lesions. This question was addressed by comparing the regional

regional MRI apparent diffusion coefficients (ADCs) of NAWM in patients affected by Alzheimer's disease (AD) or vascular dementia (VaD). The relationships of ADCs with the white-matter hyperintensity (WMH) burden, carotid atherosclerosis, and cognitive performance were also investigated. Forty-nine AD and 31 VaD patients underwent brain MRI to assess the WMH volume and regional NAWM ADCs, neuropsychological evaluations, and carotid ultrasound to assess the plaque severity and intima-media thickness (IMT).

Regional ADCs in NAWM did not differ between VaD and AD patients, while the WMH volume was greater in VaD than in AD patients. The ADC in the anterior corpus callosum was related to the WMH volume, while a greater carotid IMT was positively correlated with the temporal ADC and WMH volume. The memory performance was worse in patients with higher temporal ADCs. Constructional praxis scores were related to ADCs in the frontal, and occipital lobes, in the anterior and posterior corpus callosum as well as to the WMH volume. Abstract reasoning was related to frontal, parietal, and temporal ADCs.

Our data show that higher regional ADCs in NAWM are associated with microcirculatory impairment, as depicted by the WMH volume. Moreover, regional ADCs in NAWM are differently associated with the neuropsychological performances in memory, constructional praxis, and abstract reasoning domains.

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.

Clin Neurophysiol. 2016 Jan;127(1):581-590. Epub 2015 Jun 8.

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.

Clin Neurophysiol. 2016 Jan;127(1):641-654.

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, Marzano N, Soricelli A, Cordone S, Millán-Calenti JC, Del Percio C, Buján A. **Cortical Neural Synchronization Underlies Primary Visual Consciousness of Qualia: Evidence from Event-Related Potentials.**

Front Hum Neurosci. 2016 Jun 30;10:310. eCollection 2016.

This article reviews three experiments on event-related potentials (ERPs) testing the hypothesis that primary visual consciousness (stimulus self-report) is related to enhanced cortical neural synchronization as a function of stimulus features. ERP peak latency and sources were compared between “seen” trials and “not seen” trials, respectively related and unrelated to the primary visual consciousness. Three salient features of visual stimuli were considered (visuospatial, emotional face expression, and written words). Results showed the typical visual ERP components in both “seen” and “not seen” trials. There was no statistical difference in the ERP peak latencies between the “seen” and “not seen” trials, suggesting a similar timing of the cortical neural synchronization regardless the primary visual consciousness. In contrast, ERP sources showed differences between “seen” and “not seen” trials. For the visuospatial stimuli, the primary consciousness was related to higher activity in dorsal occipital and parietal sources at about 400 ms post-stimulus. For the emotional face expressions, there was greater activity in parietal and frontal sources at about 180 ms post-stimulus. For the written letters, there was higher activity in occipital, parietal and temporal sources at about 230 ms post-stimulus. These results hint that primary visual consciousness is associated with an enhanced cortical neural synchronization having entirely different spatiotemporal characteristics as a function of the features of the visual stimuli and possibly, the relative qualia (i.e., visuospatial, face expression, and words). In this framework, the dorsal visual stream may be synchronized in association with the primary consciousness of visuospatial and emotional face contents. Analogously, both dorsal and ventral visual streams may be synchronized in association with the primary consciousness of linguistic contents. In this line of reasoning, the ensemble of the cortical neural networks underpinning the single visual features would constitute a sort of multi-dimensional palette of colors, shapes, regions of the visual field, movements, emotional face expressions, and words. The synchronization of one or more of these cortical neural networks, each with its peculiar timing, would produce the primary consciousness of one or more of the visual features of the scene.

Babiloni C, Pennica A, Capotosto P, Onorati P, Muratori C, Ferracuti S, Roma P, Correr V, Piccinni E, Noce G, Del Percio C, Cordone S, Limatola C, Soricelli A, Di Campi F, Gianserra L, Ciullini L, Aceti A, Viscione M, Teti E, Sarmati L, Andreoni M.

Brain and cognitive functions in two groups of naïve HIV patients selected for a different plan of antiretroviral therapy: A qEEG study.

Clin Neurophysiol. 2016 Sep 9;127(11):3455-3469.

Cortical sources of electroencephalographic (EEG) rhythms were investigated in two sub-populations of naïve HIV subjects, grouped based on clinical criteria to receive different combination anti-retroviral therapies (cARTs). These EEG sources were hypothesized to reflect beneficial effects of both regimes.

Eyes-closed resting state EEG data were collected in 19 (Group A) and 39 (Group B) naïve HIV subjects at baseline (i.e. pre-treatment; T0) and after 5 months of cART (T5). Compared with the Group A, the Group B was characterized by slightly worse serological parameters and higher cardiovascular risk. At T0, mean viral load (VL) and CD4 count were 87,694 copies/ml and 435 cells/ μ l in the Group A and 187,370 copies/ml and 331 cells/ μ l in the Group B. The EEG data were also collected in 50 matched control HIV-negative subjects. Cortical EEG sources were assessed by LORETA software.

Compared to the Control Group, the HIV Groups showed lower alpha (8-12 Hz) source activity at T0 while the Group B also exhibited higher delta source activity. The treatment partially normalized alpha and delta source activity in the Group A and B, respectively, in association with improved VL, CD4, and cognitive functions.

Different cART regimens induced diverse beneficial effects in delta or alpha source activity in the two naïve HIV Groups.

These sources might unveil different neurophysiological effects of diverse cART on brain function in naïve HIV Groups as a function of clinical status and/or therapeutic compounds.

Babiloni C, Pennica A, Del Percio C, Noce G, Cordone S, Lopez S, Berry K, Muratori C, Ferracuti S, Roma P, Correr V, Di Campi F, Gianserra L, Ciullini L, Aceti A, Soricelli A, Teti E, Viscione M, Limatola C, Onorati P, Capotosto P, Andreoni M.

Antiretroviral therapy affects the z-score index of deviant cortical EEG rhythms in naïve HIV individuals.

Neuroimage Clin. 2016 Jun 8;12:144-156.

Here we tested the effect of combined antiretroviral therapy (cART) on deviant electroencephalographic (EEG) source activity in treatment-naïve HIV individuals.

Resting state eyes-closed EEG data were recorded before and after 5 months of cART in 48 male HIV subjects, who were naïve at the study start. The EEG data were also recorded in 59 age- and sex-matched healthy subjects as a control group. Frequency bands of interest included delta, theta, alpha1, alpha2 and alpha3, based on alpha frequency peak specific to each individual. They also included beta1 (13-20 Hz) and beta2 (20-30 Hz). Low-resolution brain electromagnetic tomography (LORETA) estimated EEG cortical source activity in frontal, central, temporal, parietal, and occipital regions.

Before the therapy, the HIV group showed greater parietal delta source activity and lower spatially diffuse alpha source activity compared to the control group. Thus, the ratio of parietal delta and alpha3 source activity served as an EEG marker. The z-score showed a statistically deviant EEG marker (EEG +) in 50% of the HIV individuals before therapy ($p < 0.05$). After 5 months of cART, delta source activity decreased, and alpha3 source activity increased in the HIV subjects with EEG + (about 50% of them showed a normalized EEG marker).

This procedure detected a deviant EEG marker before therapy and its post-therapy normalization in naïve HIV single individuals.

The parietal delta/alpha3 EEG marker may be used to monitor cART effects on brain function in such individuals.

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 2016;127:1803-1812.

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.

Babiloni C, Triggiani AI, Lizio R, Cordone S, Tattoli G, Bevilacqua V, Soricelli A, Ferri R, Nobili F, Gesualdo L, Millán-Calenti JC, Buján A, Tortelli R, Cardinali V, Barulli MR, Giannini A, Spagnolo P, Armenise S, Buenza G, Scianatico G, Logroscino G, Frisoni GB, Del Percio C.

Classification of Single Normal and Alzheimer's Disease Individuals from Cortical Sources of Resting State EEG Rhythms.

Frontiers in Neuroscience. 2016 Feb 23;10:47. eCollection 2016.

Previous studies have shown abnormal power and functional connectivity of resting state electroencephalographic (EEG) rhythms in groups of Alzheimer's disease (AD) compared to healthy elderly (Nold) subjects. Here we tested the best classification rate of 120 AD patients and 100 matched Nold subjects using EEG markers based on cortical sources of power and functional connectivity of these rhythms. EEG data were recorded during resting state eyes-closed condition. Exact low-resolution brain electromagnetic tomography (eLORETA) estimated the power and functional connectivity of cortical sources in frontal, central, parietal, occipital, temporal, and limbic regions. 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) were the frequency bands of interest. The classification rates of interest were those with an area under the receiver operating characteristic curve (AUROC) higher than 0.7 as a threshold for a moderate classification rate (i.e., 70%). Results showed that the following EEG markers overcame this threshold: (i) central, parietal, occipital, temporal, and limbic delta/alpha 1 current density; (ii) central, parietal, occipital temporal, and limbic delta/alpha 2 current density; (iii) frontal theta/alpha 1 current density; (iv) occipital delta/alpha 1 inter-hemispherical connectivity; (v) occipital-temporal theta/alpha 1 right and left intra-hemispherical connectivity; and (vi) parietal-limbic alpha 1 right intra-hemispherical connectivity. Occipital delta/alpha 1 current density showed the best classification rate (sensitivity of 73.3%, specificity of 78%, accuracy of 75.5%, and AUROC of 82%). These results suggest that EEG source markers can classify Nold and AD individuals with a moderate classification rate higher than 80%.

Bocchetta M, Mega A, Bernardi L, Di Maria E, Benussi L, Binetti G, Borroni B, Colao R, Di Fede G, Fostinelli S, Galimberti D, Gennarelli M, Ghidoni R, Piaceri I, Pievani M, Porteri C, Redaelli V, Rossi G, Suardi S, Babiloni C, Scarpini E, Tagliavini F, Padovani A, Nacmias B, Sorbi S, Frisoni GB, Bruni AC; SINDem.

Genetic counseling and testing for Alzheimer's Disease and frontotemporal lobar degene-

Alzheimers Dis. 2016;51(1):277-291.

Genetic testing of familial Alzheimer's disease (AD) and frontotemporal lobar degeneration (FTLD) is attracting interest thanks to innovative primary prevention clinical trials and increased request for information by at-risk individuals. However, ethical, social, and psychological implications are paramount and genetic testing must be supported by structured genetic counseling. In Italy, practice parameters and guidelines for genetic counseling in dementia are not available.

To develop a nationally harmonized protocol for genetic counseling and testing of familial AD and FTLD.

Activities were carried out in the context of the Italian Dominantly Inherited Alzheimer's and Frontotemporal Network (IT-DIAfN) project, a national network of centers of excellence with expertise in managing patients with familial AD and FTLD. A survey of the literature on genetic counseling protocols and guidelines was conducted. Local protocols for genetic counseling were surveyed. Differences and commonalities among protocols were identified and discussed among project partners. Consensus was reached following implicit aggregation methods.

Consensus was reached on a protocol for patients with clinically diagnosed familial AD or FTLD and a distinct protocol for their at-risk relatives. Genetic counseling should be provided by a multidisciplinary team including a geneticist, a neurologist/geriatrician, and a psychologist/psychiatrist, according to the following schedule: (i) initial consultation with tailored information on the genetics of the dementias; (ii) clinical, psychological, and cognitive assessment; if deemed appropriate (iii) genetic testing following a structured decision tree for gene mutation search; (iv) genetic testing result disclosure; (v) psychological support follow-up.

This genetic counseling protocol provides Italian centers with a line of shared practice for dealing with the requests for genetic testing for familial AD and FTLD from patients and at-risk relatives, who may also be eligible participants for novel prevention clinical trials.

Blinowska KJ, Rakowski F, Kaminski M, De Vico Fallani F, Del Percio C, Lizio R, Babiloni C.

Functional and effective brain connectivity for discrimination between Alzheimer's patients and healthy individuals: A study on resting state EEG rhythms.

Clin Neurophysiol. 2016 Oct 22. pii: S1388 2457(16)30549-30551. [Epub ahead of print]

This exploratory study provided a proof of concept of a new procedure using multivariate electroencephalographic (EEG) topographic markers of cortical connectivity to discriminate normal elderly (Nold) and Alzheimer's disease (AD) individuals.

The new procedure was tested on an existing database formed by resting state eyes-closed EEG data (19 exploring electrodes of 10-20 system referenced to linked-ear reference electrodes) recorded in 42 AD patients with dementia (age: 65.9years±8.5 standard deviation, SD) and 42 Nold non-consanguineous caregivers (age: 70.6years±8.5 SD). In this procedure, spectral EEG coherence estimated reciprocal functional connectivity while non-normalized directed transfer function (NDTF) estimated effective connectivity. Principal component analysis and computation of Mahalanobis distance integrated and combined these EEG topographic markers of cortical connectivity. The area under receiver operating curve (AUC) indexed the classification accuracy.

A good classification of Nold and AD individuals was obtained by combining the EEG markers derived from NDTF and coherence (AUC=86%, sensitivity=0.85, specificity=0.70).

These encouraging results motivate a cross-validation study of the new procedure in age- and education-matched Nold, stable and progressing mild cognitive impairment individuals, and de novo AD patients with dementia.

If cross-validated, the new procedure will provide cheap, broadly available, repeatable over time, and entirely non-invasive EEG topographic markers reflecting abnormal cortical connectivity in AD patients diagnosed by direct or indirect measurement of cerebral amyloid β and hyperphosphorylated tau peptides.

Caliandro P, Reale G, Tartaglione T, Rossini PM.

The challenge of basilar artery occlusion wake-up stroke: too late for intravenous thrombolysis?

Neurol Sci. 2016 Jul;37(7):1137-1140. PubMed PMID: 26960980.

We describe the case of a patient carried to our emergency department, with the wake-up finding of dysarthria, right hemiplegia and worsening consciousness impairment (NIHSS 12). After performing a CT angiography, which showed complete basilar occlusion, we determined the MR DWI-FLAIR mismatch to estimate the stroke onset time. Because of the favorable mismatch (DWI hyperintensity in the left pons, no FLAIR hyperintensity in the same region), the patient underwent thrombolysis with sudden neurological improvement. In addition, the DWI hyperintensity first observed in the left pons totally regressed after thrombolysis. Wake-up stroke constitutes about 14 % of all strokes, while the percentage of basilar artery occlusion wake-up strokes is still unknown. Although thrombolysis in patients with unknown-onset time is still an off-label therapy, basilar artery occlusion is a potentially fatal event. In our case we used RM DWI-FLAIR mismatch to rapidly estimate the stroke onset time and to treat the patient with an off-label but potentially effective and safe therapy.

D'Atri A, De Simoni E, Gorgoni M, Ferrara M, Ferlazzo F, Rossini PM, De Gennaro L.

Electrical stimulation of the frontal cortex enhances slow-frequency EEG activity and sleepiness.

Neuroscience. 2016 Jun 2;324:119-130.

Our aim was to enhance the spontaneous slow-frequency EEG activity during the resting state using oscillating transcranial direct currents (tDCS) with a stimulation frequency that resembles the spontaneous oscillations of sleep onset. Accordingly, in this preliminary study, we assessed EEG after-effects of a frontal oscillatory tDCS with different frequency (0.8 vs. 5 Hz) and polarity (anodal, cathodal, and sham). Two single-blind experiments compared the after effects on the resting EEG of oscillatory tDCS [Exp. 1=0.8 Hz, 10 subjects (26.2 ± 2.5 years); Exp. 2=5 Hz, 10 subjects (27.4 ± 2.4 years)] by manipulating its polarity. EEG signals recorded (28 scalp derivations) before and after stimulation [slow oscillations (0.5-1 Hz), delta (1-4 Hz), theta (5-7 Hz), alpha (8-12 Hz), beta 1 (13-15 Hz) and beta 2 (16-24 Hz)] were compared between conditions as a function of polarity (anodal vs. cathodal vs. sham) and frequency of stimulation (0.8 vs. 5 Hz). We found a significant relative enhancement of the delta activity after the anodal tDCS at 5 Hz compared to that at 0.8 Hz. This increase, even though not reaching the statistical significance compared to sham, is concomitant to a significant increase of subjective sleepiness, as assessed by a visual analog scale. These two phenomena are linearly related with a regional specificity, correlations being restricted to cortical areas perifocal to the stimulation site. We have shown that a frontal oscillating anodal tDCS at 5 Hz results in an effective change of both subjective sleepiness and spontaneous slow-frequency EEG activity. These changes are critically associated to both stimulation polarity (anodal) and frequency (5 Hz). However, evidence of frequency-dependence seems more unequivocal than evidence of polarity-dependence.

Del Percio C, Drinkenburg W, Lopez S, Infarinato F, Bastlund JF, Laursen B, Pedersen JT, Christensen DZ, Forloni G, Frasca A, Noè FM, Bentivoglio M, Fabene PF, Bertini G, Colavito V, Kelley J, Dix S, Richardson JC, Babiloni C; PharmaCog Consortium.

On-going electroencephalographic rhythms related to cortical arousal in wild-type mice: the effect of aging.

Neurobiol Aging. 2016 Sep 15;49:20-30. [Epub 2016 Sep 15]

Resting state electroencephalographic (EEG) rhythms reflect the fluctuation of cortical arousal and vigilance in a typical clinical setting, namely the EEG recording for few minutes with eyes closed (i.e., passive condition) and eyes open (i.e., active condition). Can this procedure be back-translated to C57 (wild type) mice for aging studies? On-going EEG rhythms were recorded from a frontoparietal

bipolar channel in 85 (19 females) C57 mice. Male mice were subdivided into 3 groups: 25 young (4.5-6 months), 18 middle-aged (12-15 months), and 23 old (20-24 months) mice to test the effect of aging. EEG power density was compared between short periods (about 5 minutes) of awake quiet behavior (passive) and dynamic exploration of the cage (active). Compared with the passive condition, the active condition induced decreased EEG power at 1-2 Hz and increased EEG power at 6-10 Hz in the group of 85 mice. Concerning the aging effects, the passive condition showed higher EEG power at 1-2 Hz in the old group than that in the others. Furthermore, the active condition exhibited a maximum EEG power at 6-8 Hz in the former group and 8-10 Hz in the latter. In the present conditions, delta and theta EEG rhythms reflected changes in cortical arousal and vigilance in freely behaving C57 mice across aging. These changes resemble the so-called slowing of resting state EEG rhythms observed in humans across physiological and pathological aging. The present EEG procedures may be used to enhance preclinical phases of drug discovery in mice for understanding the neurophysiological effects of new compounds against brain aging.

Ferreri F, Vecchio F, Vollero L, Guerra A, Petrichella S, Ponzo D, Määttä S, Mervaala E, Könönen M, Ursini F, Pasqualetti P, Iannello G, Rossini PM, Di Lazzaro V.

Sensorimotor cortex excitability and connectivity in Alzheimer's disease: A TMS-EEG Co-registration study.

Hum Brain Mapp. 2016 Jun;37(6):2083-2096.

Several studies have shown that, in spite of the fact that motor symptoms manifest late in the course of Alzheimer's disease (AD), neuropathological progression in the motor cortex parallels that in other brain areas generally considered more specific targets of the neurodegenerative process. It has been suggested that motor cortex excitability is enhanced in AD from the early stages, and that this is related to disease's severity and progression. To investigate the neurophysiological hallmarks of motor cortex functionality in early AD we combined transcranial magnetic stimulation (TMS) with electroencephalography (EEG). We demonstrated that in mild AD the sensorimotor system is hyperexcitable, despite the lack of clinically evident motor manifestations. This phenomenon causes a stronger response to stimulation in a specific time window, possibly due to locally acting reinforcing circuits, while network activity and connectivity is reduced. These changes could be interpreted as a compensatory mechanism allowing for the preservation of sensorimotor programming and execution over a long period of time, regardless of the disease's progression.

Galluzzi S, Marizzoni M, Babiloni C, Albani D, Antelmi L, Bagnoli C, Bartres-Faz D, Cordone S, Didic M, Farotti L, Fiedler U, Forloni G, Girtler N, Hensch T, Jovicich J, Leeuwis A, Marra C, Molinuevo JL, Nobili F, Pariente J, Parnetti L, Payoux P, Del Percio C, Ranjeva JP, Rolandi E, Rossini PM, Schönknecht P, Soricelli A, Tsolaki M, Visser PJ, Wiltfang J, Richardson JC, Bordet R, Blin O, Frisoni GB; PharmaCog Consortium.

Clinical and biomarker profiling of prodromal Alzheimer's disease in workpackage 5 of the Innovative Medicines Initiative PharmaCog project: a 'European ADNI study'.

J Intern Med. 2016 Jun;279(6):576-591.

In the field of Alzheimer's disease (AD), the validation of biomarkers for early AD diagnosis and for use as a surrogate outcome in AD clinical trials is of considerable research interest.

To characterize the clinical profile and genetic, neuroimaging and neurophysiological biomarkers of prodromal AD in amnesic mild cognitive impairment (aMCI) patients enrolled in the IMI WP5 PharmaCog (also referred to as the European ADNI study).

A total of 147 aMCI patients were enrolled in 13 European memory clinics. Patients underwent clinical and neuropsychological evaluation, magnetic resonance imaging (MRI), electroencephalography (EEG) and lumbar puncture to assess the levels of amyloid β peptide 1-42 (A β 42), tau and p-tau, and blood samples were collected. Genetic (APOE), neuroimaging (3T morphometry and diffusion MRI) and EEG (with resting-state and auditory oddball event-related potential (AO-ERP) paradigm)

biomarkers were evaluated.

Prodromal AD was found in 55 aMCI patients defined by low A β 42 in the cerebrospinal fluid (A β positive). Compared to the aMCI group with high A β 42 levels (A β negative), A β positive patients showed poorer visual ($P = 0.001$), spatial recognition ($P < 0.0005$) and working ($P = 0.024$) memory, as well as a higher frequency of APOE4 ($P < 0.0005$), lower hippocampal volume ($P = 0.04$), reduced thickness of the parietal cortex ($P < 0.009$) and structural connectivity of the corpus callosum ($P < 0.05$), higher amplitude of delta rhythms at rest ($P = 0.03$) and lower amplitude of posterior cingulate sources of AO-ERP ($P = 0.03$).

These results suggest that, in aMCI patients, prodromal AD is characterized by a distinctive cognitive profile and genetic, neuroimaging and neurophysiological biomarkers. Longitudinal assessment will help to identify the role of these biomarkers in AD progression.

Gorgoni M, Lauri G, Truglia I, Cordone S, Sarasso S, Scarpelli S, Mangiaruga A, D'Atri A, Tempesta D, Ferrara M, Marra C, Rossini PM, De Gennaro L.

Parietal Fast Sleep Spindle Density Decrease in Alzheimer's Disease and Amnesic Mild Cognitive Impairment.

Neural Plast. 2016;2016:8376108. Epub 2016 Mar 15.

Several studies have identified two types of sleep spindles: fast (13-15Hz) centroparietal and slow (11-13Hz) frontal spindles. Alterations in spindle activity have been observed in Alzheimer's disease (AD) and Mild Cognitive Impairment (MCI). Only few studies have separately assessed fast and slow spindles in these patients showing a reduction of fast spindle count, but the possible local specificity of this phenomenon and its relation to cognitive decline severity are not clear. Moreover, fast and slow spindle density have never been assessed in AD/MCI. We have assessed fast and slow spindles in 15 AD patients, 15 amnesic MCI patients, and 15 healthy elderly controls (HC). Participants underwent baseline polysomnographic recording (19 cortical derivations). Spindles during nonrapid eye movements sleep were automatically detected, and spindle densities of the three groups were compared in the derivations where fast and slow spindles exhibited their maximum expression (parietal and frontal, resp.). AD and MCI patients showed a significant parietal fast spindle density decrease, positively correlated with Minimal State Examination scores. Our results suggest that AD-related changes in spindle density are specific for frequency and location, are related to cognitive decline severity, and may have an early onset in the pathology development.

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. 2015 Jul 24:1-6. [Epub ahead of print]

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.

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 Sep 28. [Epub ahead of print].

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, Fabrizi GM, Bisogni G, Romano A, Taioli F, Ferrarini M, Bernardo D, Rossini PM, Sabatelli M.

Charcot-Marie-Tooth type 2 and distal hereditary motor neuropathy: Clinical, neurophysiological and genetic findings from a single-centre experience.

Clin Neurol Neurosurg. 2016 May;144:67-71.

CMT is a group of heterogeneous motor and sensory neuropathies divided into demyelinating (CMT1) and axonal forms (CMT2). Distal Hereditary Motor Neuropathy (dHMN) is a motor neuropathy/neuronopathy which resembles CMT. Final genetic diagnosis is poor in CMT2 and in dHMN when compared with CMT1. Our aim is to report clinical, neurophysiological and genetic findings in a cohort of patients with axonal inherited neuropathies.

We report clinical, neurophysiological and genetic findings from 45 patients with CMT2 or dHMN, coming from 39 unrelated families, observed in our Institute of Neurology over a 20-year period.

Clinical and electrophysiological examinations showed that 38 patients had CMT2 and 7 patients presented dHMN. Extensive genetic evaluation showed 6 mutations in MFN2, 4 mutations in HSPB1, 2 mutations in BSCL2, 3 mutations in GJB1, 1 mutation in MPZ.

Since next-generation sequencing will not be easily accessible, epidemiological data and clinical "phenotyping" remain the best strategy for clinicians to reach a correct genetic diagnosis in CMT2 and dHMN patients.

Marchitelli R, Minati L, Marizzoni M, Bosch B, Bartrés-Faz D, Müller BW, Wiltfang 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,

Drevelgas A, Rossini PM, Marra C, Schönknecht P, Hensch T, Hoffmann KT, Kuijter JP, Visser PJ, Barkhof F, Frisoni GB, Jovicich J.

Test-retest reliability of the default mode network in a multi-centric fMRI study of healthy elderly: Effects of data-driven physiological noise correction techniques.

Hum Brain Mapp. 2016 Jun;37(6):2114-2132.

Understanding how to reduce the influence of physiological noise in resting state fMRI data is important for the interpretation of functional brain connectivity. Limited data is currently available to assess the performance of physiological noise correction techniques, in particular when evaluating longitudinal changes in the default mode network (DMN) of healthy elderly participants. In this 3T harmonized multisite fMRI study, we investigated how different retrospective physiological noise correction (rPNC) methods influence the within-site test-retest reliability and the across-site reproducibility consistency of DMN-derived measurements across 13 MRI sites. Elderly participants were scanned twice at least a week apart (five participants per site). The rPNC methods were: none (NPC), Tissue-based regression, PESTICA and FSL-FIX. The DMN at the single subject level was robustly identified using ICA methods in all rPNC conditions. The methods significantly affected the mean z-scores and, albeit less markedly, the cluster-size in the DMN; in particular, FSL-FIX tended to increase the DMN z-scores compared to others. Within-site test-retest reliability was consistent across sites, with no differences across rPNC methods. The absolute percent errors were in the range of 5-11% for DMN z-scores and cluster-size reliability. DMN pattern overlap was in the range 60-65%. In particular, no rPNC method showed a significant reliability improvement relative to NPC. However, FSL-FIX and Tissue-based physiological correction methods showed both similar and significant improvements of reproducibility consistency across the consortium (ICC=0.67) for the DMN z-scores relative to NPC. Overall these findings support the use of rPNC methods like tissue-based or FSL-FIX to characterize multisite longitudinal changes of intrinsic functional connectivity.

Migliore S, Ghazaryan A, Simonelli I, Pasqualetti P, Landi D, Palmieri MG, Moffa F, Rinaldi P, Vernieri F, Filippi MM.

Validity of the minimal assessment of cognitive function in multiple sclerosis (MACFIMS) in the Italian population.

Neurol Sci. 2016 Aug;37(8):1261-1270.

Cognitive dysfunction involves 40-65 % of multiple sclerosis (MS) patients. It can be detected in all MS phenotypes from the early stages of the disease, and it tends to progress over time. Minimal Assessment of Cognitive Function in MS (MACFIMS) has been proved to be the most sensitive and comprehensive battery available for MS cognitive assessment in the English population. In Italy, MACFIMS applicability is limited in everyday clinical practice since the overall validity of this battery in the Italian MS population has never been demonstrated. The aim of this study was to translate/cross-culturally adapt and validate an Italian version of the MACFIMS. A total of 130 MS patients and 60 healthy controls (HCs) were enrolled and evaluated with an Italian version of the MACFIMS. All tests discriminated MS patients from HCs; according to the literature, approximately more than half of MS patients (70.8 %) exhibit cognitive impairment. Principal component analysis showed four distinct components: visual-spatial memory/processing speed, working memory, executive functions and verbal memory. Our study is the first to validate an Italian version of the MACFIMS. Several aspects of validity have been demonstrated: criterion and, partially, construct. Future work will investigate the longitudinal course of neuropsychological dysfunction in Italian MS patients using these measures.

Miraglia F, Vecchio F, Rossini PM.

Searching for signs of aging and dementia in EEG through network analysis. Review.

Behavioural Brain Research, Epub 2016 Sep 28.

Graph theory applications had spread widely in understanding how human cognitive functions are

linked to dynamics of neuronal network structure, providing a conceptual frame that can reduce the analytical brain complexity. This review summarizes methodological advances in this field. Electroencephalographic functional network studies in pathophysiological aging will be presented, focusing on neurodegenerative disease -such Alzheimer's disease-aiming to discuss whether network science is changing the traditional concept of brain disease and how network topology knowledge could help in modeling resilience and vulnerability of diseases. Aim of this work is to open discussion on how network model could better describe brain architecture.

Mori F, Nisticò R, Nicoletti CG, Zagaglia S, Mandolesi G, Piccinin S, Martino G, Finardi A, Rossini PM, Marfia GA, Furlan R, Centonze D.

RANTES correlates with inflammatory activity and synaptic excitability in multiple sclerosis.
Mult Scler. 2016 Oct;22(11):1405-1412.

Alterations of synaptic transmission induced by inflammatory activity have been linked to the pathogenic mechanisms of multiple sclerosis (MS). Regulated upon activation, normal T-cell expressed, and secreted (RANTES) is a pro-inflammatory chemokine involved in MS pathophysiology, potentially able to regulate glutamate release and plasticity in MS brains, with relevant consequences on the clinical manifestations of the disease.

To assess the role of RANTES in the regulation of cortical excitability.

We explored the association of RANTES levels in the cerebrospinal fluid (CSF) of newly diagnosed MS patients with magnetic resonance imaging (MRI) and laboratory measures of inflammatory activity, as well its role in the control of cortical excitability and plasticity explored by means of transcranial magnetic stimulation (TMS), and in hippocampal mouse slices in vitro.

CSF levels of RANTES were remarkably high only in active MS patients and were correlated with the concentrations of interleukin-1 β . RANTES levels were associated with TMS measures of cortical synaptic excitability, but not with long-term potentiation (LTP)-like plasticity. Similar findings were obtained in mouse hippocampal slices in vitro, where we observed that RANTES enhanced basal excitatory synaptic transmission with no effect on LTP.

RANTES correlates with inflammation and synaptic excitability in MS brains.

Oddo CM, Raspopovic S, Artoni F, Mazzoni A, Spigler G, Petrini F, Giambattistelli F, Vecchio F, Miraglia F, Zollo L, Di Pino G, Camboni D, Carrozza MC, Guglielmelli E, Rossini PM, Faraguna U, Micera S.

Intraneural stimulation elicits discrimination of textural features by artificial fingertip in intact and amputee humans.

Elife. 2016 Mar 8;5:e09148.

Restoration of touch after hand amputation is a desirable feature of ideal prostheses. Here, we show that texture discrimination can be artificially provided in human subjects by implementing a neuromorphic real-time mechano-neuro-transduction (MNT), which emulates to some extent the firing dynamics of SA1 cutaneous afferents. The MNT process was used to modulate the temporal pattern of electrical spikes delivered to the human median nerve via percutaneous microstimulation in four intact subjects and via implanted intrafascicular stimulation in one transradial amputee. Both approaches allowed the subjects to reliably discriminate spatial coarseness of surfaces as confirmed also by a hybrid neural model of the median nerve. Moreover, MNT-evoked EEG activity showed physiologically plausible responses that were superimposable in time and topography to the ones elicited by a natural mechanical tactile stimulation. These findings can open up novel opportunities for sensory restoration in the next generation of neuro-prosthetic hands.

Padua L, Coraci D, Erra C, Doneddu PE, Granata G, Rossini PM.

Prolonged phone-call posture causes changes of ulnar motor nerve conduction across elbow.

Postures and work-hobby activities may play a role in the origin and progression of ulnar neuropathy at the elbow (UNE), whose occurrence appears to be increasing. The time spent on mobile-phone has increased in the last decades leading to an increased time spent with flexed elbow (prolonged-phone-posture, PPP). We aimed to assess the effect of PPP both in patients with symptoms of UNE and in symptom-free subjects.

Patients with pure sensory symptoms of UNE and negative neurophysiological tests (MIN-UNE) and symptom-free subjects were enrolled. We evaluated ulnar motor nerve conduction velocity across elbow at baseline and after 6, 9, 12, 15, and 18min of PPP in both groups. Fifty-six symptom-free subjects and fifty-eight patients were enrolled. Globally 186 ulnar nerves from 114 subjects were studied.

Conduction velocity of ulnar nerve across the elbow significantly changed over PPP time in patients with MIN-UNE, showing a different evolution between the two groups.

PPP causes a modification of ulnar nerve functionality in patients with MIN-UNE.

Parazzini M, Fiocchi S, Cancelli A, Cottone C, Liorni I, Ravazzani P, Tecchio F.

A Computational Model of the Electric Field Distribution due to Regional Personalized or Non-Personalized Electrodes to Select Transcranial Electric Stimulation Target.

IEEE Trans Biomed Eng. 2016 . Epub 2016 Apr 12.

A procedure to personalize the electrode to stimulate specific cortical regions by transcranial electric stimulations has been recently proposed. This study aims to assess the distribution of the electric field (E) induced by tES via the personalized (RePE) and the nonpersonalized (ReNPE) electrode.

We used two anatomical models on which we shaped and placed the RePE, based on brain anatomy, and the ReNPE to target the bilateral primary motor (M1) or somatosensory cortex (S1) with the reference on the occipital area in both cases. The effect of shifts of the ReNPE position has been also evaluated.

The RePE induced higher E peak and median values than the ReNPE along the bilateral primary motor sensory cortices, up to their lateral regions, on a great percentage of volume of these cortices along all their extent. The shift of the ReNPE electrode toward theinion still induced higher E peak and median values than the ReNPE not shifted, but less than the RePE, mainly in the central region and, in a lower percentage of volume, in the lateral regions of these cortices.

The E distributions induced for both targets (M1 and S1) by the RePE are different from the ones due to the ReNPE, along the whole extent of the bilateral primary sensorimotor cortices. The shift in the ReNPE positioning can modify the E distributions mainly in the more central region of these cortices. These results strengthen the suitability of personalized electrodes in targeting extended cortical regions.

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.

Rossini C, Luigetti M, Romanello R, Gnoni V, Viridis D, Cordaro M, Rossini PM.

Somatosensory Evoked Potentials of Inferior Alveolar Nerve: confirmation of a possible non-invasive neurophysiological approach.

Clin Ter. 2016 Mar-Apr;167(2):25-28.

The use of inferior alveolar nerve (IAN) somatosensory evoked potentials (SEPs) may represent a non-invasive method to evaluate the sensory nerve function in the maxillofacial region. The aim of this work is to confirm the feasibility of a technique, previously reported in the literature, and the data previously obtained.

SEPs were obtained following electrical stimulation (square wave pulses 0.2 millisecond [ms] in duration, 4 to 6.5 mA, 0.7/second repetition rate, 200 averages) of the gum at the mental foramen level, in the IAN region, via a new designed type of intraoral surface electrodes and recorded from the contralateral central scalp sites.

We recognized waveforms of sufficient quality and consistently recorded a "W"-shaped response. Peak latencies of waves were at 14, 20, 27, 34 and 43 ms respectively. One side of the lower lip can be compared with the contralateral side.

IAN SEPs, obtained with the present technique, may represent an objective, non-invasive, and reliable way of testing sensory nerve function in the maxillofacial region.

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 fibroblasts cultures reveal TDP-43 abnormalities in amyotrophic lateral sclerosis patients with and without SOD1 mutations.

Neurobiol Aging 2015 [Epub ahead of print]

TAR DNA-binding protein 43 (TDP-43) is a major component of the pathologic inclusions observed in the motor neurons of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patients. We examined TDP-43 expression in primary fibroblasts cultures from 22 ALS patients, including cases with SOD1 ($n = 4$), TARDBP ($n = 4$), FUS ($n = 2$), and C9ORF72 ($n = 3$) mutations and 9 patients without genetic defect. By using a phosphorylation-independent antibody, 15 patients showed notable alterations of TDP-43 level in the nuclear or cytoplasmic compartments. In particular, a marked accumulation of TDP-43 was observed in the cytoplasm of all cases with C9ORF72 and TARDBP mutations, 1 patient with FUS mutation and 3 patients without genetic defect. Patients with SOD1 mutations revealed a significant reduction of TDP-43 in the nuclei without cytoplasmic mislocalization. These changes were associated with the presence of truncated and phosphorylated TDP-43 species. Our results show that fibroblasts recapitulate some of hallmark TDP-43 abnormalities observed in neuronal cells. The reduction of full-length TDP-43 level in mutant SOD1 cells indicates that at least some SOD1 mutations alter TDP-43 metabolism.

Smits FM, Porcaro C, Cottone C, Cancelli A, Rossini PM, Tecchio F.

Electroencephalographic fractal dimension in healthy ageing and Alzheimer's Disease.

PLoS One. 2016 Feb 12;11(2):e0149587. eCollection 2016.

Brain activity is complex; a reflection of its structural and functional organization. Among other measures of complexity, the fractal dimension is emerging as being sensitive to neuronal damage secondary to neurological and psychiatric diseases. Here, we calculated Higuchi's fractal dimension (HFD) in resting-state eyes-closed electroencephalography (EEG) recordings from 41 healthy controls (age: 20-89 years) and 67 Alzheimer's Disease (AD) patients (age: 50-88 years), to investigate whether HFD is sensitive to brain activity changes typical in healthy aging and in AD. Additionally, we consi-

considered whether AD-accelerating effects of the copper fraction not bound to ceruloplasmin (also called "free" copper) are reflected in HFD fluctuations. The HFD measure showed an inverted U-shaped relationship with age in healthy people ($R^2 = .575$, $p < .001$). Onset of HFD decline appeared around the age of 60, and was most evident in central-parietal regions. In this region, HFD decreased with aging stronger in the right than in the left hemisphere ($p = .006$). AD patients demonstrated reduced HFD compared to age- and education-matched healthy controls, especially in temporal-occipital regions. This was associated with decreasing cognitive status as assessed by mini-mental state examination, and with higher levels of non-ceruloplasmin copper. Taken together, our findings show that resting-state EEG complexity increases from youth to maturity and declines in healthy, aging individuals. In AD, brain activity complexity is further reduced in correlation with cognitive impairment. In addition, elevated levels of non-ceruloplasmin copper appear to accelerate the reduction of neural activity complexity. Overall, HFD appears to be a proper indicator for monitoring EEG-derived brain activity complexity in healthy and pathological aging.

Teipel S, Babiloni C, Hoey J, Kaye J, Kirste T, Burmeister OK.

Information and communication technology solutions for outdoor navigation in dementia. *Alzheimers Dement.* 2016 Jun;12(6):695-707.

Information and communication technology (ICT) is potentially mature enough to empower outdoor and social activities in dementia. However, actual ICT-based devices have limited functionality and impact, mainly limited to safety. What is an ideal operational framework to enhance this field to support outdoor and social activities?

Review of literature and cross-disciplinary expert discussion.

A situation-aware ICT requires a flexible fine-tuning by stakeholders of system usability and complexity of function, and of user safety and autonomy. It should operate by artificial intelligence/machine learning and should reflect harmonized stakeholder values, social context, and user residual cognitive functions. ICT services should be proposed at the prodromal stage of dementia and should be carefully validated within the life space of users in terms of quality of life, social activities, and costs. The operational framework has the potential to produce ICT and services with high clinical impact but requires substantial investment.

Teipel S, Grothe MJ, Zhou J, Sepulcre J, Dyrba M, Sorg C, Babiloni C.

Measuring Cortical Connectivity in Alzheimer's Disease as a Brain Neural Network Pathology: Toward Clinical Applications.

J Int Neuropsychol Soc. 2016 Feb;22(2):138-163.

The objective was to review the literature on diffusion tensor imaging as well as resting-state functional magnetic resonance imaging and electroencephalography (EEG) to unveil neuroanatomical and neurophysiological substrates of Alzheimer's disease (AD) as a brain neural network pathology affecting structural and functional cortical connectivity underlying human cognition.

We reviewed papers registered in PubMed and other scientific repositories on the use of these techniques in amnesic mild cognitive impairment (MCI) and clinically mild AD dementia patients compared to cognitively intact elderly individuals (Controls).

Hundreds of peer-reviewed (cross-sectional and longitudinal) papers have shown in patients with MCI and mild AD compared to Controls (1) impairment of callosal (splenium), thalamic, and anterior-posterior white matter bundles; (2) reduced correlation of resting state blood oxygen level-dependent activity across several intrinsic brain circuits including default mode and attention-related networks; and (3) abnormal power and functional coupling of resting state cortical EEG rhythms. Clinical applications of these measures are still limited.

Structural and functional (in vivo) cortical connectivity measures represent a reliable marker of cerebral reserve capacity and should be used to predict and monitor the evolution of AD and its relative impact on cognitive domains in pre-clinical, prodromal, and dementia stages of AD.

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. 2016 May;103:79-87.

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, Piludu F, Granata G, Romanello R, Caulo M, Onofrij V, Bramanti P, Colosimo C, Rossini PM.

"Small World" architecture in brain connectivity and hippocampal volume in Alzheimer's disease: a study via graph theory from EEG data.

Brain Imaging Behav. 2016 Mar 9. [Epub ahead of print].

Brain imaging plays an important role in the study of Alzheimer's disease (AD), where atrophy has been found to occur in the hippocampal formation during the very early disease stages and to progress in parallel with the disease's evolution. The aim of the present study was to evaluate a possible correlation between "Small World" characteristics of the brain connectivity architecture-as extracted from EEG recordings-and hippocampal volume in AD patients. A dataset of 144 subjects, including 110 AD (MMSE 21.3) and 34 healthy Nold (MMSE 29.8) individuals, was evaluated. Weighted and undirected networks were built by the eLORETA solutions of the cortical sources' activities moving from EEG recordings. The evaluation of the hippocampal volume was carried out on a subgroup of 60 AD patients who received a high-resolution T1-weighted sequence and underwent processing for surface-based cortex reconstruction and volumetric segmentation using the Freesurfer image analysis software. Results showed that, quantitatively, more correlation was observed in the right hemisphere, but the same trend was seen in both hemispheres. Alpha band connectivity was negatively correlated, while slow (delta) and fast-frequency (beta, gamma) bands positively correlated with hippocampal volume. Namely, the larger the hippocampal volume, the lower the alpha and the higher the delta, beta, and gamma Small World characteristics of connectivity. Accordingly, the Small World connectivity pattern could represent a functional counterpart of structural hippocampal atrophy and related-network disconnection.

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. 2016 Mar 1;316:143-150.

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, Romano A, Bramanti P, Rossini PM.

Small world brain network characteristics during EEG Holter recording of a stroke event.

Clin Neurophysiol. 2016 Nov 3;128(1):1-3.

Vecchio F, Miraglia F, Vollono C, Fuggetta F, Bramanti P, Cioni B, Rossini PM.

Pre-seizure architecture of the local connections of the epileptic focus examined via graph-theory.

Clin Neurophysiol 2016 Aug 2;127(10):3252-3258.

Epilepsy is characterized by unpredictable and sudden paroxysmal neuronal firing occurrences and sometimes evolving in clinically evident seizure. To predict seizure event, small-world characteristic in nine minutes before seizure, divided in three 3-min periods (T0, T1, T2) were investigated. Intracerebral recordings were obtained from 10 patients with drug resistant focal epilepsy examined by means of stereotactically implanted electrodes; analysis was focused in a period of low spiking (Baseline) and during two seizures. Networks' architecture is undirected and weighted. Electrodes' contacts close to epileptic focus are the vertices, edges are weighted by mscohere (=magnitude squared coherence).

Differences were observed between Baseline and T1 and between Baseline and T2 in theta band; and between Baseline and T1, Baseline and T2, and near-significant difference between T0 and T2 in Alpha 2 band. Moreover, an intra-band index was computed for small worldness as difference between Theta and Alpha 2. It was found a growing index trend from Baseline to T2.

Cortical network features a specific pre-seizure architecture which could predict the incoming epileptic seizure.

Through this study future researches could investigate brain connectivity modifications approximating a clinical seizure also in order to address a preventive therapy.

Vecchio F, Pellicciari MC, Miraglia F, Brignani D, Miniussi C, Rossini PM.

Effects of transcranial direct current stimulation on the functional coupling of the sensorimotor cortical network.

Neuroimage. 2016 Oct 15;140:50-56.

Transcranial direct current stimulation (tDCS) is well established-among the non-invasive brain stimulation techniques-as a method to modulate brain excitability. Polarity-dependent modulations of membrane potentials are detected after the application of anodal and cathodal stimulation, leading to changes in the electrical activity of the neurons. The main aim of the present study was to test the hypothesis that tDCS can affect-in a polarity-specific manner-the functional coupling of the sensori-

sensorimotor areas during the eyes-open resting condition as revealed by total EEG coherence (i.e., coherence across the average of all combinations of the electrode pairs placed around the stimulation electrode). The changes in the total EEG coherence were evaluated pre-, during, and post-anodal and cathodal tDCS. While no differences were observed in the connectivity characteristics of the two pre-stimulation periods, a connectivity increase was observed in the alpha 2 band in the post-anodal tDCS with respect to pre-anodal and post-cathodal tDCS. The present study suggests that a specific approach based on the analyses of the functional coupling of EEG rhythms might enhance understanding of tDCS-induced effects on cortical connectivity. Moreover, this result suggests that anodal tDCS could possibly modify cortical connectivity more effectively with respect to cathodal tDCS.

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. 2016 May;103:110-117.

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.

LINEA 2

**STUDIO DEI MECCANISMI DI RECUPERO
FUNZIONALE NELLE PATOLOGIE
CRONICHE, DISABILITANTI DELL'APPARATO
CARDIOVASCOLARE E RESPIRATORIO**

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 condotto dall'Area di ricerca, effettuato sui maratoneti 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 riparativo-protettivo ed anti-infiammatorio 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 permette 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 nella fase di reclutamento del numero di pazienti previsti (n=20).

Sono stati arruolati 20 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 messo a punto dall'Area 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.

È stato inoltre eseguito un test del cammino di 6 minuti (condizioni basali e dopo 3, 6, 9 e 12 settimane di allenamento o controllo).

Studio della variazione di espressione e attività delle sirtuine

Tempi dei prelievi:

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.

L'arruolamento dei pazienti si è concluso il 31/12/2016 e le ultime due visite di follow up si svolgeranno entro febbraio 2017.

Utilizzo della variabilità della frequenza cardiaca durante esercizio fisico nel paziente con insufficienza cardiaca: nuovo protocollo e nuove prospettive nella valutazione del trattamento riabilitativo

L'aumento dell'età media della popolazione, la prevalenza di malattie a decorso cronico, e i relativi conseguenti aumenti dei costi hanno portato la società ad affrontare nuove sfide nella medicina clinica e riabilitativa. Un approccio particolarmente promettente è quello di investire su metodi innovativi e tecnologicamente all'avanguardia che personalizzino la gestione terapeutica dei pazienti, con un conseguente decisivo risparmio di risorse umane ed economiche. A tal riguardo, concetti e metodi avanzati propri dei campi della medicina, dell'ingegneria e della matematica sono sinergicamente ed interattivamente utilizzati nel presente progetto al fine di fornire nuove prospettive cliniche per una medicina personalizzata e nuove proposte tecnologiche nel management e nel trattamento di pazienti con patologie croniche invalidanti quali l'insufficienza cardiaca cronica (Chronic Heart Failure - CHF). Ricerca di tipo interdisciplinare, sviluppo ed innovazione tecnologica sono alla base di questo progetto che si pone in maniera coordinata l'obiettivo di valorizzare i propri risultati attraverso pubblicazioni scientifiche e un nuovo brevetto (il "cycle medical personal trainer").

La logica di intervento tende ad essere mirata, dettagliata, ed al contempo efficacemente basata sulle evidenze cliniche e scientifiche. Le valutazioni conclusive si basano su analisi ex-post che coinvolgeranno indicatori scientifici, tecnologici, di innovazione e fattibilità così come anche un'attenta revisione delle letterature scientifiche alla luce dei nuovi risultati ottenuti. Ciascuna unità coinvolta dispone di laboratori attrezzati e strumentazione ampiamente operativa e idonea alle attività di ricerca proposte e ai tests previsti.

L'obiettivo finale è la realizzazione dell'innovativo "cycle medical personal trainer".

In particolare, quest'ultimo, al contrario dei ciclo-ergometri tradizionali, è in grado di "somministrare

la dose ottimale” ed in piena sicurezza di esercizio aerobico in maniera individualizzata, concorrendo al miglioramento di “outcomes” prognostici, quali la modulazione autonoma cardiaca ed altri parametri clinici, quali la capacità funzionale. Per far ciò non vengono utilizzati metodi invasivi e costosi o indiretti e complessi quali metodi di analisi del lattato o metodi di misurazione dei gas di scambio ma l’analisi della HRV (variabilità della frequenza cardiaca) durante le singole sessioni di allenamento. In questo contesto non è richiesta la conoscenza a priori delle caratteristiche del paziente che effettua il test al ciclo-ergometro, eccetto che per il grado di severità del quadro clinico - dati questi utilizzati per generare i riferimenti di HR sulla base della HRV misurata.

Nuovi contributi scientifici del progetto includono lo sviluppo di un nuovo algoritmo di identificazione non-parametrico per l’analisi in frequenza della variabilità della frequenza cardiaca (Heart Rate Variability - HRV) che è utilizzato per individuare in modo preciso durante la singola sessione di allenamento i cambiamenti delle diverse componenti dello spettro di frequenza della HRV e stimare accuratamente la densità spettrale (potenza) delle sue componenti. Ulteriori punti di forza del presente progetto riguardano la possibilità di individuare nuovi parametri “dinamici” (sulla base della resistenza di carico del ciclo-ergometro e della frequenza cardiaca registrate durante le sessioni di allenamento) che possano essere utilizzati come: a) conferma a posteriori di classificazione a livello della specifica patologia e di sotto-classificazione a livello del grado di severità clinica della malattia; b) marcatori di efficacia del training fisico e dei miglioramenti a lungo termine da esso indotti.

Infine potenziali ricadute del progetto includono l’utilizzo della metodologia proposta per valutare l’efficacia addizionale di specifiche terapie farmacologiche.

La HRV valutata in condizioni di riposo (clinostatismo-ortostatismo) rappresenta un indice clinico della modulazione simpato-vagale esercitata dal sistema nervoso autonomo sull’attività del nodo seno-atriale. Il training fisico di tipo aerobico si è mostrato in grado di migliorare la HRV nei pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica, rivestendo un ruolo prognostico positivo. Tuttavia una questione chiave ancora sussiste riguardo la “dose ottimale” di attività fisica da “prescrivere” al singolo paziente, al fine di ottenere i massimi miglioramenti della HRV e di altri importanti indicatori prognostici (VO₂ max, VE/VCO₂ slope etc.). La possibilità di monitorare la HRV “on line” durante lo svolgimento dell’attività fisica può rappresentare un utile e decisivo strumento a tale scopo.

Nessuno studio ha affrontato la possibilità di definire programmi di allenamento in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica sulla base della HRV monitorata “on line” nel corso dell’ esercizio fisico stesso, durante il quale si verificano variazioni della HRV dovute alla modulazione sia di origine neurovegetativa che meccanica dell’attività del nodo seno-atriale.

Il presente progetto si propone di implementare sostanzialmente la metodologia dell’allenamento personalizzato guidato automaticamente dalla HRV in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica, per i quali l’esercizio fisico è considerato un elemento fondamentale delle strategie terapeutiche. Nel presente progetto, differenti discipline, quali ingegneria biomedica e dei controlli automatici, matematica e cardiologia si integrano al fine di realizzare un ciclo-ergometro tecnologicamente all’avanguardia, definibile come “cycle medical personal trainer”, avente lo scopo di realizzare una metodologia di allenamento personalizzata basata sulla HRV.

Il proposito innovativo e tecnologicamente all’avanguardia del presente progetto consiste nel passaggio, per pazienti con CHF, dal classico esercizio al ciclo-ergometro programmato in base alla frequenza cardiaca (basato su indicazioni generali stabilite a priori) ad un esercizio completamente automatizzato e personalizzato eseguito sulla base della HRV e delle sue modificazioni, all’interno di ogni singola sessione di allenamento e con il progredire dell’allenamento stesso. L’aspetto innovativo è la realizzazione del “cycle medical personal trainer” ed il conseguente perfezionamento di un nuovo, tecnologicamente avanzato, protocollo riabilitativo di allenamento fisico personalizzato capace di somministrare la “dose ottimale” di esercizio per ciascun individuo. Il fine è quello di favorire la divulgazione delle più avanzate tecnologie di allenamento nell’ambito della terapia riabilitativa in patologie croniche che possono ottenere benefici dall’attività fisica regolare.

Si intende validare il metodo del “cycle medical personal trainer”, basato sulla rilevazione, e conseguente analisi spettrale della variabilità della FC, sul segnale di FC acquisito mediante cardiografo con il metodo standard basato sul segnale di FC (QRS) acquisito direttamente mediante una derivazione elettrocardiografica.

Si intende confrontare gli effetti del metodo di allenamento basato sul “cycle medical personal trainer” con metodi standard basati sulla FC sui principali “outcomes” di malattia in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica in fase di stabilità clinica.

Ci si attende di poter verificare se i risultati ottenuti da programmi di training fisico basati sulle modificazioni della HRV valutata durante le sessioni di allenamento siano superiori o parimenti efficaci nel migliorare parametri che rappresentano indicatori di “outcome” (positivi/negativi) in pazienti affetti da insufficienza cardiaca in fase di stabilità clinica.

Lo spin-off potrebbe risultare nella brevettazione del metodo del “cycle medical personal trainer” nell’ambito della riabilitazione cardiologica e di altre patologie croniche che beneficiano di un’attività fisica regolare nonché nell’ambito più vasto della prevenzione primaria delle patologie cardiovascolari e del fitness.

Sono stati perfezionati algoritmi specifici per l’analisi on-line durante esercizio della HRV che sono stati testati in soggetti sani, secondo quanto previsto nel protocollo, durante test al cicloergometro con confronto del “cycle medical personal trainer”, che utilizza un programma di valutazione on-line della HRV, basato sui dati di frequenza cardiaca ottenuti mediante cardiografo con quelli ottenuti dalla contemporanea misurazione del segnale ECG, ottenuto tramite derivazione elettrocardiografica diretta.

In riferimento al metodo del “cycle medical personal trainer” è stata inoltrata la domanda di brevetto italiano n. 102016000083609 (9 agosto 2016), in collaborazione con il Dipartimento di Ingegneria Elettronica dell’Università di Roma Tor Vergata.

In seguito si è deciso di procedere con il deposito di una domanda internazionale per chiedere l’estensione della registrazione del brevetto italiano agli Stati Uniti d’America.

Controllo a lungo termine degli effetti del carico di allenamento attraverso il metodo delle session-RPE in soggetti con scompenso

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., VO_2 , 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.

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 centro supervisione, la sesta settimana è stata svolta autonomamente presso il centro e le ultime 4 settimane fuori dalla 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 al termine della fase ospedaliera di riabilitazione; tuttavia, dopo il periodo di allenamento autonomo fuori dalla struttura, 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 auto-gestita extra-ospedaliera dell'allenamento nel paziente con scompenso cardiaco per migliorare e/o mantenere la propria capacità funzionale.

AREA DI RICERCA DI RIABILITAZIONE CARDIOVASCOLARE , TELEMEDICINA E E-HEALTH

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 condotto dall'Area di ricerca, effettuato sui maratoneti 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 riparativo-protettivo ed anti-infiammatorio 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 permette 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 nella fase di reclutamento del numero di pazienti previsti (n=20).

Sono stati arruolati 20 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 messo a punto dall'Area 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.

È stato inoltre eseguito un test del cammino di 6 minuti (condizioni basali e dopo 3, 6, 9 e 12 settimane di allenamento o controllo).

Studio della variazione di espressione e attività delle sirtuine

Tempi dei prelievi:

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.

L'arruolamento dei pazienti si è concluso il 31/12/2016 e le ultime due visite di follow up si svolgeranno entro febbraio 2017.

Utilizzo della variabilità della frequenza cardiaca durante esercizio fisico nel paziente con insufficienza cardiaca: nuovo protocollo e nuove prospettive nella valutazione del trattamento riabilitativo

L'aumento dell'età media della popolazione, la prevalenza di malattie a decorso cronico, e i relativi conseguenti aumenti dei costi hanno portato la società ad affrontare nuove sfide nella medicina clinica e riabilitativa. Un approccio particolarmente promettente è quello di investire su metodi innovativi e tecnologicamente all'avanguardia che personalizzino la gestione terapeutica dei pazienti, con un conseguente decisivo risparmio di risorse umane ed economiche. A tal riguardo, concetti e metodi avanzati propri dei campi della medicina, dell'ingegneria e della matematica sono sinergicamente ed interattivamente utilizzati nel presente progetto al fine di fornire nuove prospettive cliniche per una medicina personalizzata e nuove proposte tecnologiche nel management e nel trattamento di pazienti con patologie croniche invalidanti quali l'insufficienza cardiaca cronica (Chronic Heart Failure

- CHF). Ricerca di tipo interdisciplinare, sviluppo ed innovazione tecnologica sono alla base di questo progetto che si pone in maniera coordinata l'obiettivo di valorizzare i propri risultati attraverso pubblicazioni scientifiche e un nuovo brevetto (il "cycle medical personal trainer").

La logica di intervento tende ad essere mirata, dettagliata, ed al contempo efficacemente basata sulle evidenze cliniche e scientifiche. Le valutazioni conclusive si basano su analisi ex-post che coinvolgeranno indicatori scientifici, tecnologici, di innovazione e fattibilità così come anche un'attenta revisione della letteratura scientifica alla luce dei nuovi risultati ottenuti. Ciascuna unità coinvolta dispone di laboratori attrezzati e strumentazione ampiamente operativa e idonea alle attività di ricerca proposte e ai tests previsti.

L'obiettivo finale è la realizzazione dell'innovativo "cycle medical personal trainer".

In particolare, quest'ultimo, al contrario dei ciclo-ergometri tradizionali, è in grado di "somministrare la dose ottimale" ed in piena sicurezza di esercizio aerobico in maniera individualizzata, concorrendo al miglioramento di "outcomes" prognostici, quali la modulazione autonoma cardiaca ed altri parametri clinici, quali la capacità funzionale. Per far ciò non vengono utilizzati metodi invasivi e costosi o indiretti e complessi quali metodi di analisi del lattato o metodi di misurazione dei gas di scambio ma l'analisi della HRV (variabilità della frequenza cardiaca) durante le singole sessioni di allenamento. In questo contesto non è richiesta la conoscenza a priori delle caratteristiche del paziente che effettua il test al ciclo-ergometro, eccetto che per il grado di severità del quadro clinico - dati questi utilizzati per generare i riferimenti di HR sulla base della HRV misurata.

Nuovi contributi scientifici del progetto includono lo sviluppo di un nuovo algoritmo di identificazione non-parametrico per l'analisi in frequenza della variabilità della frequenza cardiaca (Heart Rate Variability - HRV) che è utilizzato per individuare in modo preciso durante la singola sessione di allenamento i cambiamenti delle diverse componenti dello spettro di frequenza della HRV e stimare accuratamente la densità spettrale (potenza) delle sue componenti. Ulteriori punti di forza del presente progetto riguardano la possibilità di individuare nuovi parametri "dinamici" (sulla base della resistenza di carico del ciclo-ergometro e della frequenza cardiaca registrate durante le sessioni di allenamento) che possano essere utilizzati come: a) conferma a posteriori di classificazione a livello della specifica patologia e di sotto-classificazione a livello del grado di severità clinica della malattia; b) marcatori di efficacia del training fisico e dei miglioramenti a lungo termine da esso indotti.

Infine potenziali ricadute del progetto includono l'utilizzo della metodologia proposta per valutare l'efficacia addizionale di specifiche terapie farmacologiche.

La HRV valutata in condizioni di riposo (clinostatismo-ortostatismo) rappresenta un indice clinico della modulazione simpato-vagale esercitata dal sistema nervoso autonomo sull'attività del nodo seno-atriale. Il training fisico di tipo aerobico si è mostrato in grado di migliorare la HRV nei pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica, rivestendo un ruolo prognostico positivo. Tuttavia una questione chiave ancora sussiste riguardo la "dose ottimale" di attività fisica da "prescrivere" al singolo paziente, al fine di ottenere i massimi miglioramenti della HRV e di altri importanti indicatori prognostici (VO₂ max, VE/VCO₂ slope etc.). La possibilità di monitorare la HRV "on line" durante lo svolgimento dell'attività fisica può rappresentare un utile e decisivo strumento a tale scopo.

Nessuno studio ha affrontato la possibilità di definire programmi di allenamento in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica sulla base della HRV monitorata "on line" nel corso dell'esercizio fisico stesso, durante il quale si verificano variazioni della HRV dovute alla modulazione sia di origine neurovegetativa che meccanica dell'attività del nodo seno-atriale.

Il presente progetto si propone di implementare sostanzialmente la metodologia dell'allenamento personalizzato guidato automaticamente dalla HRV in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica, per i quali l'esercizio fisico è considerato un elemento fondamentale delle strategie terapeutiche. Nel presente progetto, differenti discipline, quali ingegneria biomedica e dei controlli automatici, matematica e cardiologia si integrano al fine di realizzare un ciclo-ergometro tecnologicamente all'avanguardia, definibile come "cycle medical personal trainer", avente lo scopo di realizzare una metodologia di allenamento personalizzata basata sulla HRV. Il proposito innovativo e tecnologicamente all'avanguardia del presente progetto consiste nel passaggio, per pazienti con CHF, dal classico

esercizio al ciclo-ergometro programmato in base alla frequenza cardiaca (basato su indicazioni generali stabilite a priori) ad un esercizio completamente automatizzato e personalizzato eseguito sulla base della HRV e delle sue modificazioni, all'interno di ogni singola sessione di allenamento e con il progredire dell'allenamento stesso. L'aspetto innovativo è la realizzazione del "cycle medical personal trainer" ed il conseguente perfezionamento di un nuovo, tecnologicamente avanzato, protocollo riabilitativo di allenamento fisico personalizzato capace di somministrare la "dose ottimale" di esercizio per ciascun individuo. Il fine è quello di favorire la divulgazione delle più avanzate tecnologie di allenamento nell'ambito della terapia riabilitativa in patologie croniche che possono ottenere benefici dall'attività fisica regolare.

Si intende validare il metodo del "cycle medical personal trainer", basato sulla rilevazione, e conseguente analisi spettrale della variabilità della FC, sul segnale di FC acquisito mediante cardiotaografo con il metodo standard basato sul segnale di FC (QRS) acquisito direttamente mediante una derivazione elettrocardiografica. Si intende confrontare gli effetti del metodo di allenamento basato sul "cycle medical personal trainer" con metodi standard basati sulla FC sui principali "outcomes" di malattia in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica in fase di stabilità clinica.

Ci si attende di poter verificare se i risultati ottenuti da programmi di training fisico basati sulle modificazioni della HRV valutata durante le sessioni di allenamento siano superiori o parimenti efficaci nel migliorare parametri che rappresentano indicatori di "outcome" (positivi/negativi) in pazienti affetti da insufficienza cardiaca in fase di stabilità clinica.

Lo spin-off potrebbe risultare nella brevettazione del metodo del "cycle medical personal trainer" nell'ambito della riabilitazione cardiologica e di altre patologie croniche che beneficiano di un'attività fisica regolare nonché nell'ambito più vasto della prevenzione primaria delle patologie cardiovascolari e del fitness.

Sono stati perfezionati algoritmi specifici per l'analisi on-line durante esercizio della HRV che sono stati testati in soggetti sani, secondo quanto previsto nel protocollo, durante test al cicloergometro con confronto del "cycle medical personal trainer", che utilizza un programma di valutazione on-line della HRV, basato sui dati di frequenza cardiaca ottenuti mediante cardiotaografo con quelli ottenuti dalla contemporanea misurazione del segnale ECG, ottenuto tramite derivazione elettrocardiografica diretta.

In riferimento al metodo del "cycle medical personal trainer" è stata inoltrata la domanda di brevetto italiano n. 102016000083609 (9 agosto 2016), in collaborazione con il Dipartimento di Ingegneria Elettronica dell'Università di Roma Tor Vergata.

In seguito si è deciso di procedere con il deposito di una domanda internazionale per chiedere l'estensione della registrazione del brevetto italiano agli Stati Uniti d'America.

Controllo a lungo termine degli effetti del carico di allenamento attraverso il metodo delle session-RPE in soggetti con scompenso cardiaco

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'ambi-

dell'ambito strettamente clinico, in pazienti cardiopatici.

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 centro supervisione, la sesta settimana è stata svolta autonomamente presso il centro e le ultime 4 settimane fuori dalla 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 al termine della fase ospedaliera di riabilitazione; tuttavia, dopo il periodo di allenamento autonomo fuori dalla struttura, 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 auto-gestita extra-ospedaliera dell'allenamento nel paziente con scompenso cardiaco per migliorare e/o mantenere la propria capacità funzionale.

Applicazione di nuove tecnologie di Biomarker discovery per l'identificazione di determinanti di outcome clinico delle malattie croniche disabilitanti

La scoperta di nuovi biomarcatori (biomarker discovery) è 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 del trattamento riabilitativo o farmacologico nelle patologie croniche disabilitanti.

Obiettivo principale di questo progetto di ricerca corrente è consistito nell'identificazione di marcatori biomolecolari, tradizionali o innovativi, che consentano di prevedere l'outcome in patologie croniche disabilitanti. Il valore prognostico/predittivo di queste molecole è stato 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 socio-demografiche.

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. Ad ogni campione biologico sono associati i dati del donatore che comprendono: la cartella clinica, l'anamnesi familiare e patologica 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.

Nel corso del 2016 è stata completata una serie di studi disegnati allo scopo di valutare l'impatto di alcuni biomarcatori tradizionali nell'outcome clinico di pazienti affetti da patologie croniche dismetaboliche. In particolare, è stato analizzato il valore prognostico dell'insulino-resistenza nei confronti della sopravvivenza libera da malattia di pazienti portatori di neoplasie diabete-associate (colo-rettali e mammarie), al fine verificare la fondatezza di interventi ipo-glicemizzanti di tipo alimentare e/o farmacologico nel trattamento adiuvante di questi pazienti. Tali analisi sono state condotte mediante metodiche biostatistiche tradizionali o l'applicazione di modelli di intelligenza artificiale, quali machine learning/random optimization ed applicazione di algoritmi diagnostici in un contesto di medicina di precisione.

Per quanto riguarda gli studi su potenziali biomarcatori diagnostici e prognostici della responsività alle terapie farmacologiche nei tumori solidi è proseguita la collaborazione scientifica con il Laboratory of Tumor Immunology and Biology del National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, incentrata sull'analisi di espressione di alcune componenti specifiche della risposta immunitaria associata alla progressione tumorale, al fine di identificare nuovi potenziali target molecolari da inserire in protocolli di immunoterapia. In particolare, è stata portata a completamento la valutazione della biodistribuzione di Brachyury (target molecolare per il quale è stato costruito un vaccino anticancro presso il National Cancer Institute, NIH, Bethesda, MD, USA, e per il quale sono già in corso studi su modelli animali) in pazienti con carcinoma della mammella triplo-negativi (TNBC), un particolare sottogruppo di tumori caratterizzato da prognosi sfavorevole. Ulteriori studi sono tuttora in corso per la caratterizzazione dell'associazione funzionale tra target potenziali di vaccinoterapia e target immunologici. Tali studi nascono dall'ipotesi sperimentale che la somministrazione di vaccini anti-cancro non possa prescindere dalla conoscenza dell'assetto immunitario del paziente oncologico, in particolare da una corretta valutazione delle molecole del checkpoint immunitario. A tal riguardo, sempre in collaborazione con il National Cancer Institute, è stato effettuato uno studio sull'espressione del checkpoint immunologico PD-1/PD-L1 da parte di linfociti T CD3+ e cellule tumorali isolati da versamenti di natura neoplastica ottenuti da pazienti con mesotelioma e sulla suscettibilità delle cellule tumorali isolate da tali versamenti di andare incontro a citotossicità anticorpo-dipendente (ADCC) utilizzando l'anticorpo monoclonale anti-PD-L1 Avelumab.

Tutti questi studi non possono prescindere dalle caratteristiche qualitative dei campioni biologici utilizzati nelle ricerche. Per tale motivo, una parte dell'attività di ricerca è stata incentrata, in collaborazione con la Biobanca del Lussemburgo (IBBL) ed il Biospecimen Science Working Group dell'ISBER, sullo sviluppo di opportuni programmi di qualità (Proficiency Testing) specifici per le biobanche ed il loro accreditamento.

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 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, mentre un ruolo fondamentale nello sviluppo dell'aterosclerosi sarebbe svolto da fattori genetici. Per tale motivo, un'analisi dei fattori genetici associata ad una valutazione dei fattori di rischio può portare ad una migliore conoscenza del processo di invecchiamento vascolare e permettere un intervento precoce di prevenzione in pazienti a rischio. Obiettivo principale del progetto è stato quello di identificare nuovi pathways molecolari coinvolti nelle patologie metaboliche e vascolari, in particolare quelli collegati con i meccanismi di senescenza d'organo. Le molecole identificate sono state successivamente analizzate nelle loro varianti geniche per valutarne l'impatto sulle patologie in studio, specialmente in popolazioni a rischio come i pazienti diabetici. Grazie al database messo a disposizione dalla University of Miami, è stata eseguita una validazione di questi marcatori in popolazioni con diversa etnia, al fine di caratterizzarne il potenziale predittivo sul rischio di progressione dell'aterosclerosi e sugli outcome clinici della malattia cardiovascolare. I campioni biologici di pazienti con fattori di rischio vascolari e patologie cardiovascolari (es. pazienti con diabete di tipo 2 - DT2) sono stati ottenuti dalla BioBIM dell'IRCCS San Raffaele Pisana, o raccolti presso il Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata. L'analisi delle varianti genetiche sono state effettuate 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 è stata effettuata presso il Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata.

Gli studi molecolari riguardanti i profili di espressione proteica, l'utilizzo di modelli murini per malattie metaboliche e culture cellulari dove indagare i pathways sopracitati sono stati effettuati presso i laboratori l'IRCCS San Raffaele Pisana, Roma e dell'Università di Tor Vergata, Roma. 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 è stato pianificato in una coorte di pazienti con età superiore ai 60 anni. I risultati ottenuti da questo progetto sono stati il frutto di una attiva collaborazione di ricerca con il Dipartimento di Medicina dei Sistemi dell'Università di Roma Tor Vergata e con il Department of Neurology, Miller School of Medicine, University of Miami, Miami, FL, USA. Nel corso del progetto sono stati condotti studi di laboratorio, clinici e genetici. I nostri risultati hanno dimostrato come i classici fattori di rischio vascolari incidano marginalmente nello sviluppo dell'aterosclerosi carotidea e come, quindi, vi sia una forte componente genetica nello sviluppo di tale malattia e di conseguenza nelle malattie cardiovascolari. E' stato dimostrato specialmente come specifiche varianti genetiche di geni implicati nei processi di infiammazione e stress ossidativo (sirtuine e 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. Studi su fattori di rischio importanti per malattia aterosclerotica, come l'impatto sulla morfologia delle placche carotidea e quindi sul rischio cardiovascolare del fumo di sigaretta, sono stati ulteriormente condotti. Nel corso del progetto, sono stati trovati nuovi marcatori genetici che predispongono individui fumatori ad un maggiore rischio per malattie cardiovascolari. Sono stati oltretutto effettuati studi epidemiologici, su larga scala, per vedere l'interazione tra i diversi fenotipi di aterosclerosi quali placche carotidea 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. Altri studi, condotti su coorti di pazienti anziani, ci hanno permesso di scoprire nuovi biomarcatori per la sarcopenia, come la butil-colinesterasi, la scala di Tinetti e come alti livelli di lattato siano predittivi di alto rischio di mortalità in pazienti anziani ricoverati in reparti di terapia intensiva. Infine, abbiamo valutato l'associazione delle diverse frazioni delle lipoproteine ad alta densità con il rischio di sviluppare aterosclerosi carotidea. A livello di scienze di base, nell'ambito di questo progetto sono stati dimostrati nuovi pathways associati ad una migliore risposta metabolica e vascolare grazie a studi in vitro condotti su cellule endoteliali e studi in vivo condotti su topi knockout. Nello specifico, è stato dimostrato come l'assenza di una particolare proteina mitocondriale, la perossiredossina 6 (prdx6), proteina in grado di regolare lo stress ossidativo nel pancreas, nei topi da laboratorio si associ ad un alterato rilascio e captazione periferica dell'insulina ed un alterazione delle beta cellule pancreatiche, suggerendo, nuove vie molecolari per la terapia del diabete attraverso la riduzione della produzione dei radicali liberi dell'ossigeno (ROS). Inoltre, in topi knockout ed eterozigoti per il recettore dell'insulina, attraverso uno studio di proteomica condotto in campioni di tessuto epatico, abbiamo dimostrato nuovi pathways molecolari associati all'alterazione del metabolismo glicidico, con l'interazione di molecole, mai coinvolte sinora in questi meccanismi, quali l'Hungtintina (HT). Oltretutto, concentrandoci su una chinasi chiamata Serum-and Glucocorticoid-Inducible Kinase (SGK)1 sono stati ottenuti degli ottimi risultati, in quanto si è 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. Questi tre nuovi marcatori, prdx6, HT e SGK1 possono di conseguenza essere considerati nuovi marcatori per patologie vascolari e metaboliche legate ai processi di invecchiamento.

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. In tale contesto, l'identificazione di nuovi biomarcatori, o l'implementazione dei modelli decisionali clinici esistenti per la stratificazione del rischio, rappresentano 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, disordini 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 e/o variabili cliniche da utilizzare quali indici 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 (approvato dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele). 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 alcune variabili con significato infiammatorio interconnesse con il sistema emostatico. 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. Gli studi condotti 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 paziente 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 suoi bisogni, 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 indici predittivi di tromboembolismo venoso (TEV), una causa importante di morbilità 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 nuovi marcatori associati al rischio di TEV, ed hanno permesso di costruire e validare, in un dataset di circa 1500 pazienti, un modello di rischio clinico basato su algoritmi Kernel e modelli di Random Optimization.

Utilizzando tale algoritmo è stata realizzata un'applicazione software che consente agli operatori sanitari di ottenere in modo semplice ed immediato (inserendo alcuni dati biologici o derivandoli dalla cartella clinica informatizzata) una valutazione del rischio tromboembolico. Tali attività sono state possibili grazie alla collaborazione tra le strutture dell'IRCCS, l'Università Telematica San Raffaele ed i Dipartimenti di medicina dei Sistemi e di Ingegneria dell'Impresa dell'Università di Roma "Tor Vergata".

In collaborazione con l'Università di Chieti "G. d'Annunzio" è stata condotta una valutazione delle interazioni tra stress ossidativo e rischio pro-trombotico in categorie di pazienti con carcinoma della mammella in concomitanza di insulino-resistenza, prediabete o diabete di tipo II, anche al fine di determinarne la validità quali potenziali marcatori di outcome clinico. I risultati ottenuti hanno permesso di ipotizzare l'esistenza di meccanismi ormono-correlati che, attraverso la generazione di stress ossidativo potrebbero sostenere la crescita e la progressione tumorale attraverso fenomeni di attivazione piastrinica con degranulazione e rilascio di molecole bioattive ad azione pro-infiammatoria, pro-angiogenetica. Inoltre, la determinazione dei livelli basali di questi biomarcatori urinari potrebbe contribuire ad una più accurata predizione della risposta al trattamento neoadiuvante, soprattutto in pazienti con carcinoma della mammella di tipo luminal-like. D'altra parte, il ruolo di un'attivazione del sistema emostatico-coagulativo nel determinare l'aggressività del carcinoma della mammella è sostenuto da ulteriori ricerche condotte dal gruppo di ricerca, che dimostrano l'esistenza di uno stato pro-coagulante, soprattutto nelle fasi avanzate di malattia, con un impatto prognostico negativo sia sulla sopravvivenza libera da progressione sia sulla sopravvivenza globale. Entrambi gli studi forniscono ulteriori evidenze a favore dell'uso adiuvante di nuovi approcci farmacologici (es. aspirina a basse dosi) o nutraceutici (es. vitamine ed integratori anti-ossidanti) nella gestione della paziente con carcinoma della mammella.

Infine, in collaborazione con l'Università Sapienza di Roma, è stato concluso uno studio prospettico sul rischio tromboembolico in corso di polmonite acquisita in comunità (CAP), i cui dati dimostrano il ruolo chiave per l'endotossiemia nel determinare una aumentata generazione di trombina ed una concomitante riduzione del potere anticoagulante in questi pazienti.

LABORATORIO DI ENDOCRINOLOGIA CARDIOVASCOLARE

Ruolo dell'antagonismo combinato glucocorticoide/mineralcorticoide sulle funzioni cognitive e metaboliche in un modello di obesità indotta da dieta

I glucocorticoidi hanno un ruolo fondamentale nella biologia del tessuto adiposo regolando i primi stadi del differenziamento adipocitario, controllando la lipolisi, e la disponibilità del glucosio. Gli effetti dei glucocorticoidi nel tessuto adiposo non sono mediati esclusivamente dal recettore GR, ma anche dal recettore mineralcorticoide (MR). Recentemente, si è trovato che MR è espresso dagli adipociti ed ha un ruolo chiave nella adipogenesi indotta da corticosteroidi. I glucocorticoidi rappresentano il principale ligando per il MR negli adipociti perché hanno una affinità 10 volte più elevata rispetto a quella per il GR, e il blocco di MR in adipociti in coltura inibisce il differenziamento indotto da corticosteroidi.

In contrasto con queste osservazioni, dati recenti dimostrano che il GR ha un ruolo più importante rispetto al MR nella promozione dei primi passi dell'adipogenesi in preadipociti umani. Tuttavia è chiaro che entrambi i recettori svolgono un ruolo importante, e la loro interazione reciproca è cruciale per la differenziazione degli adipociti.

Gli effetti benefici degli antagonisti del recettore MR sono stati dimostrati in diversi modelli animali di obesità genetica e indotta dalla dieta.

Il gruppo recentemente ha dimostrato che l'antagonismo farmacologico di MR con lo spironolattone è in grado di contrastare le disfunzioni metaboliche in un modello di obesità indotta da dieta grassa. Fino ad oggi è ancora controverso il ruolo esatto del GR rispetto ad MR; non è chiara la loro interazione e relativa importanza nell'adipogenesi e nell'espansione del tessuto adiposo durante una dieta ad alto contenuto di grassi. Per queste ragioni, è stato studiato l'effetto di un nuovo antagonista combinato (CORT118335), che blocca sia GR che MR, al fine di valutarne le potenziali applicazioni in modelli sperimentali di obesità indotta da dieta.

Questo studio è stato condotto per 9 settimane su 3 gruppi di topi: nel primo gruppo i topi (n=10) erano alimentati con la dieta grassa senza nessun farmaco; negli altri due gruppi i topi erano alimentati sempre con dieta grassa, ma quotidianamente veniva somministrato ad un gruppo (n=10) un farmaco che blocca solo il GR, il mifepristone e all'altro (n=10) il farmaco che blocca sia GR che MR (CORT118335).

L'antagonismo combinato GR/MR ha mostrato nei topi esposti a dieta grassa una potente inibizione dell'espansione del tessuto adiposo associata a benefici effetti metabolici sulla tolleranza al glucosio, sulla concentrazione di adipochine nel siero e sulla steatosi epatica. Diversamente, il mifepristone non ha avuto alcun effetto sul peso corporeo e sulla deposizione di grasso pur determinando effetti metabolici favorevoli.

I nostri dati confermano risultati precedenti dimostrando che, in un modello di obesità indotta da una dieta grassa, l'antagonismo farmacologico di GR (mifepristone) migliora la sensibilità all'insulina, ma non influenza il peso corporeo e la massa grassa. Inoltre il nostro gruppo ha recentemente dimostrato che l'antagonismo farmacologico di MR (spironolattone e drospinenone) neutralizza l'aumento di peso, così come l'aumento della massa grassa e l'alterata tolleranza al glucosio, indotta da una dieta

ad alto contenuto di grassi.

È interessante notare che l'antagonismo combinato di GR e MR mostra potenti proprietà anti-obesità, in termini di riduzione del peso corporeo totale e dei depositi di grasso, in misura maggiore di quelli osservati con il solo antagonismo farmacologico nei confronti di MR. Infatti, topi a cui è stato somministrato CORT118335 hanno mostrato una marcata differenza nel peso corporeo totale, rispetto al controllo, dopo solo 2 settimane di trattamento e non hanno mostrato alcun aumento significativo del peso corporeo per tutto lo studio. Tali effetti non erano dovuti alla minore assunzione di cibo da parte del gruppo trattato ma ad un marcato aumento del dispendio energetico.

I nostri risultati suggeriscono che l'antagonismo combinato GR/MR migliora l'attività metabolica dei topi e ha un profondo impatto sulla adiposità, sulla tolleranza al glucosio, e sulla resistenza alla dieta grassa. Inoltre, i topi trattati mostravano un significativo aumento dell'attività locomotoria rispetto ai controlli. Non è stato possibile analizzare la funzione cognitiva dei topi trattati.

La riduzione della massa grassa in topi trattati con CORT118335 è associata ad un significativo miglioramento della tolleranza al glucosio, a livelli più elevati di adiponectina plasmatica e ad una riduzione delle concentrazioni di leptina.

Nel grasso inguinale dei topi trattati con CORT118335 è stato osservato un forte aumento di espressione della proteina PGC-1 α che è il principale regolatore trascrizionale della biogenesi mitocondriale. Recenti dati suggeriscono che nel tessuto adiposo PGC-1 α svolge un ruolo importante nella omeostasi del glucosio e nell'ossidazione degli acidi grassi, e che l'organo adiposo in diversi modelli murini di obesità mostra una ridotta funzione mitocondriale. Si ipotizza quindi che il marcato aumento di espressione di PGC-1 α rappresenta uno dei meccanismi principali che spiegano i marcati effetti anti-obesità del composto in studio.

Questo studio ha notevole importanza, in quanto apre la possibilità di testare in futuro l'antagonismo farmacologico combinato MR/GR nel contesto dell'obesità, della sindrome metabolica e della steatosi epatica.

LABORATORIO DI PATOFISIOLOGIA DELLA CACHESSIA E METABOLISMO DEL MUSCOLO SCHELETRICO

Modulare metabolismo al fine di ridurre l'atrofia muscolare e la cachessia indotte dallo scompenso cardiaco: uno studio preclinico

La cachessia è la riduzione di peso superiore al 5% in un anno che si osserva nel corso di una malattia cronica come il cancro e lo scompenso cardiaco (CHF). Quando lo scompenso cardiaco è associato alla cachessia, l'efficacia dei trattamenti per lo scompenso si riduce notevolmente e i pazienti hanno una prognosi devastante, indipendentemente dalla frazione di eiezione sinistra. L'eziologia e la patofisiologia della cachessia non sono note e non ci sono trattamenti adeguati per evitare la perdita di peso.

Visto l'effetto simil-esercizio fisico individuato per il modulatore metabolico trimetazidina (TMZ) e visto che l'esercizio fisico è una delle poche terapie che ha un certo effetto nel limitare la cachessia cardiaca, l'obiettivo di questo studio è analizzare, in collaborazione con l'Università Magna Graecia di Catanzaro, il ruolo della TMZ in un modello murino di cachessia cardiaca.

E' stato messo a punto un modello chirurgico di cachessia cardiaca che è definito TAC (costrizione aortica trasversa).

Durante il primo anno di progetto si è affinato il metodo TAC su topo. Sono stati usati topi BALBc. La TAC induce ipertrofia cardiaca che determina scompenso cardiaco e poi cachessia.

Durante i due anni successivi, verranno analizzate la funzionalità muscolare, le criosezioni e i lisati dei muscoli degli animali con cachessia cardiaca (TAC) trattati o meno con modulatori del metabolismo. Ci si concentrerà sullo studio dell'autofagia.

Ruolo di CXCL12 nei linfociti T CD4+ naïve; aumento della sopravvivenza attraverso attivazione di PKA e CREB e over-espressione di Bcl2 e BclXI

I linfociti T ricircolano nel corpo viaggiando dagli organi linfoidi secondari attraverso i tessuti e attraverso i vasi linfatici e il sangue periferico verso altri organi linfoidi secondari e nel midollo osseo. In questi tessuti i linfociti sono esposti all'effetto della chemochina CXCL12 che è prodotta in modo particolarmente abbondante nel midollo osseo e nei linfonodi dalle cellule stromali. E' noto che CXCL12 induce chemiotassi nei linfociti e inoltre è stato descritto un ruolo anti-apoptotico nelle cellule staminali.

Alterazioni dell'omeostasi dei linfociti, in particolare una riduzione del numero di linfociti T naïve e un rapporto CD4/CD8 invertito, correlano con un aumento delle infezioni, il che ha un impatto notevole sulle persone anziane e durante la riabilitazione. Per questo motivo, dirimere i meccanismi che contribuiscono alla omeostasi potrebbe aiutare a identificare nuove strategie atte a ridurre l'incidenza delle infezioni in pazienti complessi. In questo progetto ci si è proposti di valutare il ruolo di CXCL12 sul tasso di sopravvivenza di linfociti T CD45RA+ CD4+ naïve solati.

Tramite citofluorimetria, è stato analizzato l'effetto dell'esposizione di CXCL12 sulla sopravvivenza di linfociti T CD4+ naïve purificati dal sangue periferico mediante isolamento immunomagnetico negativo e coltivati in un terreno povero di nutrienti. E' stato inoltre studiato, tramite WB, il signaling indotto da CXCL12 su linfociti T CD4+ naïve e sui linfoblasti attivati in vitro, in particolare la fosforilazione di CREB e di ERK, l'effetto di H89 (inibitore di PKA) e di 8 Br-cAMP (attivatore di PKA) e il livello di espressione proteico di Bcl2 e BclXI.

E' stato rilevato, per la prima volta in letteratura, che i linfociti T CD4+ naïve esposti a CXCL12 sopravvivono più a lungo rispetto a quelli non trattati e questo aumento della sopravvivenza è specifico per i linfociti T naïve mentre i linfoblasti attivati in vitro non risentono dell'effetto pro-sopravvivenza di CXCL12. L'aumento della percentuale di cellule T CD4+ naïve vive indotto da CXCL12 non è dovuto ad un incremento della loro proliferazione ma ad una protezione dalla morte cellulare che sembra essere mediato dall'attivazione di CREB dipendente da PKA e da una aumentata espressione dei fattori antiapoptotici Bcl2 e BclXL. Questo ruolo nuovo di CXCL12 potrebbe contribuire a mantenere il pool di linfociti T naïve in vivo, cosa necessaria per assicurare un'adeguata risposta immunitaria a nuovi antigeni.

Ruolo della proteina apoptotica Apaf1 nel differenziamento muscolare

Apaf1 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 Apaf1; infatti, è stato dimostrato che Apaf1 media il corretto funzionamento del centrosoma (Ferraro et al; 2011). In particolare, la delezione di Apaf1 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 polarizzazione neuronale e nella specificazione assonale. Il gruppo di ricerca del laboratorio ha dimostrato che Apaf1 svolge un ruolo nella neurogenesi.

Visto che il centrosoma e l'organizzazione del citoscheletro sono cruciali anche per il differenziamento muscolare, con questo progetto ci si è proposti di studiare la possibile implicazione di Apaf1 nello sviluppo muscolare, in collaborazione con il Danish Cancer Society Research Center di Copenhagen. Nello specifico, vengono usate: linee cellulari muscolari C2C12; cellule satelliti primarie prelevate da topi Apaf1-KO e da topi normali di controllo (WT); embrioni Apaf1-KO e WT di cui vengono isolati gli arti per ottenerne lisati da analizzare in WB, Q-RT-PCR e per ottenere criosezioni su cui effettuare immunofluorescenze da analizzare al microscopio confocale.

Analisi di Q-RT-PCR e di WB su lisati di arti provenienti da embrioni Apaf1-KO e WT hanno mostrato che i geni miogenici sono meno espressi negli embrioni KO rispetto ai WT e questo indica un rallentamento del differenziamento muscolare in assenza di Apaf1.

Il progetto richiede un altro anno per essere completato. Durante il prossimo anno verranno analizzate le crio-sezioni in OCT degli arti provenienti da embrioni Apaf1-KO e WT per valutare il livello di sviluppo del muscolo scheletrico. Inoltre si otterranno cellule satelliti da entrambi i tipi di embrioni (KO e WT) e si studierà il loro tasso di differenziamento. Ci si aspetta, in entrambi i casi, di osservare un rallentamento negli embrioni Apaf1-KO.

Caratterizzazione dei sensori metabolici attivati dalla trimetazidina (TMZ) nel muscolo scheletrico; ruolo delle sirtuine

La trimetazidina (TMZ) è un modulatore del metabolismo che ha un ruolo citoprotettivo nel miocardio e che è stato approvato per l'uso nell'essere umano come farmaco anti-anginoso. Il gruppo di ricerca ha studiato per la prima volta il ruolo nel muscolo scheletrico e si è osservato che, in modelli murini di atrofia muscolare, la TMZ ha effetti simili a quelli dell'esercizio fisico, il che la rende un farmaco molto promettente per terapie riabilitative in cui l'esercizio fisico non è applicabile. Tramite questo studio, ci si è proposti di approfondire lo studio delle vie metaboliche e di trasduzione del segnale indotte dalla TMZ nel muscolo scheletrico. E' stato già osservato che la TMZ induce una forte espressione di PGC-1 α . In particolare, visto che PGC-1 α può essere attivato da AMPK e dalle sirtuine, si studierà il possibile coinvolgimento di queste molecole in collaborazione con il gruppo di ricerca del Laboratorio di Patologia molecolare, cellulare e ultrastrutturale e dell'Università Sapienza di Roma.

Vengono utilizzati miotubi ottenuti da mioblasti murini C2C12 trattati con TMZ. Inoltre sono stati studiati, mediante WB, i lisati muscolari di topi C26 come modello di cachessia tumorale. I topi sono stati trattati con TMZ (5mg/kg) per 12 giorni e sono stati paragonati con topi non trattati. E' stato osservato che, in seguito al trattamento con TMZ, in topi C26, si ha un aumento della SIRT1 e della SIRT3 (osservate mediante WB) e delle loro attività. Inoltre, i miotubi C2C12 maturati per 96h e poi trattati con TMZ per 4h mostrano, tramite WB, un aumento sia della SIRT1 che della SIRT3 e delle loro attività misurate con saggi opportuni. Inoltre, il livello di acetilazione dell'istone acetilato si riduce. L'analisi richiede un altro anno di studi in cui ci si propone di approfondire il coinvolgimento delle sirtuine nell'effetto indotto dalla trimetazidina.

LABORATORIO DI PATOLOGIA MOLECOLARE, CELLULARE E ULTRAISTRUTTURALE

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, malattie neurodegenerative e tumori.

Il presente progetto si propone di indagare il ruolo delle sirtuine mitocondriali nella regolazione del metabolismo cellulare e il ruolo delle sirtuine mitocondriali nel mantenere l'integrità, funzionalità e vitalità cellulare.

Linee cellulari e trattamenti: 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.

Misurazione dei livelli delle sirtuine mitocondriali e della loro attività: I livelli delle sirtuine mitocondriali (SIRT3 e SIRT5) sono state misurate tramite western blot nelle frazioni mitocondriali. Sempre nelle frazioni mitocondriali è stata misurata l'attività deacetilasica delle sirtuine tramite l'utilizzo di un substrato fluorescente e misurazione della fluorescenza emessa in un fluorimetro.

Misurazione del processo autofagico: 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.

Misurazione dei parametri cellulari e metabolici: 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 condotti 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 anidrasa carbonica Vb la cui attività, abbiamo 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.

Studio dei meccanismi di riparazione 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 neuronali e muscolari è ormai associato, 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 meccanicocettori. CRP1 e 2 sono espresse per lo più nella muscolatura liscia e scheletrica, MLP è espresso per lo più nel muscolo cardiaco e scheletrico.

Il presente 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, studio dell'espressione e della regolazione delle sirtuine in tessuti neuronali, muscolari e cardiaco in topi sottoposti ad esercizio fisico.

Materiali e Metodi:

La linea cellulare 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 silenziate 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 abbiamo studiato 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 abbiamo utilizzato modelli in vivo costituiti da topi in cui è stato indotto un infarto (vedere rendicontazione progetto 110/0701 per la metodica). L'espressione proteica, l'interazione proteica e la localizzazione cellulare è stata valutata mediante western blotting, immunoprecipitazione e immunofluorescenza.

Gli esperimenti fin qui condotti dimostrano che nei miociti differenziati e nei miocardiociti 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 CRP e sirtuine giocano.

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 aspettiamo che l'attività fisica attivi un'interazione tra CRP e sirtuine. È noto da studi preliminari condotti dal laboratorio 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 utilizzano modelli murini e cellulari in assenza di gravità e modelli umani sottoposti ad esercizio fisico.

LABORATORIO DI PATOLOGIE CRONICO-DEGENERATIVE

Ruolo dello stress ossidativo legato all'ageing nell'aumentata severità delle infezioni respiratorie nell'anziano

Numerose malattie, fra cui infezioni virali, cancro, disordini neurodegenerativi, fibrosi cistica, epatite, diabete, Parkinson, così come il processo naturale di invecchiamento, sono caratterizzati da alterazioni del bilancio redox fisiologico che danno luogo a condizioni di stress ossidativo. Fisiologicamente, lo stato redox intracellulare è mantenuto in condizioni riducenti da diverse molecole, in particolare dal glutatione (GSH), principale antiossidante cellulare. Nel corso di diverse infezioni virali e, in particolare, durante l'infezione da virus influenzale, è stato dimostrato un decremento nei livelli di GSH ed un generale stress ossidativo in modelli sperimentali in vitro ed in vivo. Le alterazioni redox in senso pro-ossidante potrebbero contribuire sia alla replicazione del virus che alla patogenesi dell'infiammazione che si riscontra nel corso dell'infezione. Il ruolo del GSH nel controllare la replicazione virale è stato ampiamente dimostrato. Infatti, la somministrazione esogena di GSH, suoi derivati o precursori (molecole pro-GSH) capaci di incrementare la concentrazione di GSH, inibisce la replicazione di virus differenti, attraverso meccanismi diversi. In particolare, è stato dimostrato che il derivato N-butanolo del GSH (GSH-C4), un composto capace di entrare più facilmente nelle cellule rispetto al GSH, inibisce la replicazione di virus a DNA e RNA. Inoltre, il trattamento con GSH-C4 di topi infettati con il virus influenzale A/PR8/H1N1 aumenta la sopravvivenza degli animali rispetto ai topi non trattati, inibisce il titolo virale nei polmoni e riduce l'estensione delle lesioni polmonari. Tuttavia, il meccanismo attraverso il quale queste molecole proteggono i topi dall'infezione virale rimane ancora da chiarire. È noto che la mancanza di antiossidanti, porta ad una maggiore severità nelle infezioni respiratorie e ad un'alterata funzionalità del sistema immunitario. I topi anziani sono caratterizzati da un più basso contenuto di antiossidanti e un più alto livello di specie reattive dell'ossigeno rispetto ai topi giovani. È stato riportato che la somministrazione di antiossidanti, come la vitamina E, in topi anziani migliora la risposta immunitaria verso una risposta di tipo Th1, con una significativa resistenza all'infezione da virus influenzale.

Sulla base di queste ed altre osservazioni, è ragionevole ipotizzare che lo stress ossidativo, tipico dell'ageing, costituisca un fattore di primo piano nel determinare le differenze nella suscettibilità alle infezioni virali, così come nel loro andamento e severità, osservati nelle persone anziane rispetto agli individui giovani. Recentemente, è stato dimostrato che topi anziani infettati da virus influenzale umano di tipo A PR8/H1N1 hanno un recupero più lento e un periodo prolungato di morbilità. Una presentazione dell'antigene inefficiente ed una maggiore infiammazione negli anziani sono da ritenersi le

le cause di tali fenomeni. Infatti, l'infiammazione sistemica cronica si osserva di solito in età avanzata, sia nei topi che negli esseri umani, – con un aumento dei livelli plasmatici di citochine infiammatorie, in particolare TNF-alfa e IL-6 che aumenta appunto con l'età.

L'obiettivo principale dello studio proposto è stato quello di verificare se lo squilibrio redox legato all'età sia uno degli eventi causali della maggiore severità delle infezioni da virus respiratori riscontrata negli anziani attraverso la dissezione dei meccanismi molecolari dei processi cellulari redox-mediati attivati dai virus.

La ricerca svolta ha perseguito i seguenti obiettivi:

1. identificazione dei fattori determinanti la suscettibilità o la resistenza alle infezioni da virus durante l'invecchiamento correlate a processi cellulari redox-mediati in modelli sperimentali in vivo;
2. analisi e caratterizzazione dell'interazione tra virus e cellula ospite durante l'invecchiamento, con l'obiettivo di identificare il rapporto causale tra i cambiamenti osservati nei processi cellulari redox-mediati e la suscettibilità al virus.

Allestimento dell'infezione da virus influenzale in topi giovani e invecchiati

Per il modello sperimentale sono stati utilizzati topi femmine BALB/c di 6/8 settimane di peso medio 20 grammi e topi femmine invecchiati di 16 mesi del peso medio di 30 grammi. Gli animali sono stati anestetizzati con avertina e infettati per via intranasale con 0.5 unità formante placca (pfu) di virus influenzale A PR8/H1N1 diluito in 50 µl PBS. Durante lo studio gli animali sono stati monitorati giornalmente per 20 giorni e sono state valutate la sopravvivenza e i segni clinici quali peso corporeo, attività motoria e temperatura corporea. Alcuni topi invecchiati e giovani sono stati sacrificati agli stessi giorni dopo l'infezione per il prelievo dei seguenti organi: cervello, polmoni, milza, pancreas e linfonodi per verificare il contenuto tiolico, i livelli di glutatione ossidato e il titolo virale mediante RT-PCR.

Dosaggio del contenuto di glutatione e glutatione ossidato

Gli organi prelevati sono stati pesati e omogeneizzati in MES buffer. Dopo centrifugazione, i supernatanti sono deproteinati ed i livelli di GSH e GSSG saranno quantificati mediante saggio enzimatico.

Titolazione del virus nei polmoni mediante Real Time PCR

L' RNA virale è stato estratto dai polmoni omogeneizzati mediante TRIreagent (SigmaAldrich, S. Louis, MO). Gli esperimenti e le analisi dei dati sono stati effettuati utilizzando il IQ5 Multicolor Real-Time Detection System (Bio-Rad) .

La prima fase della ricerca è stata dedicata alle seguenti attività:

- 1) verifica della suscettibilità di topi anziani all'infezione da virus influenzale in correlazione allo stato redox fisiologico e allo stato immunologico;
- 2) verifica dell'attività immunomodulante di una molecola pro-glutatione, il GSH-C4.

Nella prima fase della ricerca, topi anziani e giovani (n=30 per ogni gruppo) sono stati infettati per via intranasale con 0.5 pfu/topo di virus influenzale di tipo A, PR8/H1N1, e 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.

Sorprendentemente, I risultati ottenuti dimostrano che i topi giovani sono più suscettibili all'infezione rispetto ai topi anziani, in quanto è stata riscontrata una mortalità del 28%. Malgrado non si sia osservata mortalità nei topi anziani, l'infezione provocava una diminuzione del peso e della temperatura corporea associata alla carica virale 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 glutatione ossidato non ha rilevato nessuna differenza significativa tra i topi giovani e anziani di controllo e infettati. Tuttavia, i topi anziani non infettati presentavano un minor contenuto tiolico negli organi prelevati, ad eccezione del cervello, e una minor conta di globuli bianchi rispetto ai topi giovani. L'infezione determinava, nei topi giovani, una riduzione dei globuli bianchi osservata all'ottavo giorno dopo l'infezione, probabilmente dovuta al reclutamento di questi nel polmone. Al contrario, nei topi invecchiati infettati, tale fenomeno era osservabile a tempi tardivi dall'infezione (15° giorno), dopo la risoluzione della malattia, probabilmente a causa di uno stato immunologico basale alterato che potrebbe rallentare la capacità cellulare di rispondere alle infezioni contribuendo a causare danni cronici che finora sono stati

sottostimati.

Nella 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 7.4 mg di GSH-C4 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 GSH-C4 migliora i segni clinici dell'infezione in termini di temperatura corporea, 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 GSH-C4 esercita un'attività immunomodulatoria nei topi invecchiati. Il trattamento induce un aumento dei livelli delle citochine Th1, inclusi l'interleuchina (IL)-12 e interferon- γ e una diminuzione dei livelli di citochine Th2, come IL-4, IL-5 e IL-10.

L'ultima fase della ricerca è stata dedicata alla valutazione dello stato redox generale durante l'infezione virale.

Tale obiettivo è stato perseguito tramite l'utilizzo della tecnica dei microarray. Si è analizzata l'espressione a livello polmonare di diversi enzimi implicati nella omeostasi dello stato redox. In particolare sono stati analizzati i seguenti enzimi: Glutatione s-trasferasi (GSTP1); Superossido Dismutasi (SOD1); la proteina disolfuro isomerasi D (PDI); Glutathione-Specific Gamma-Glutamylcyclotransferase (CHAC1). Nello specifico è risultato che i livelli di GSTP1 e SOD1 diminuiscono nei topi infettati sia giovani che anziani rispetto ai topi di controlli ma è evidente una diminuzione maggiore nei giovani. I livelli di PDI risultano diminuiti nei topi infettati giovani mentre aumentano nei topi anziani rispetto ai controlli, mentre CHAC1 aumenta nei giovani e diminuisce negli anziani.

Sono stati quindi valutati i livelli di fattore di trascrizione nucleare eritroide-2 (Nrf2). I risultati ottenuti hanno dimostrato che i livelli di espressione della proteina presa in esame sono significativamente ridotti nei topi anziani rispetto a quelli giovani. Questo dato è interessante in quanto è noto che Nrf2 controlla la produzione e rigenerazione di GSH (Gorini C et al., 2013) ed inoltre è stato dimostrato che una modificazione a livello di espressione può alterare l'entrata del virus influenzale e di conseguenza il suo ciclo replicativo all'interno della cellula ospite. Inoltre, correla con il minor contenuto di GSH misurato nei topi anziani. Tuttavia nei topi anziani né l'infezione con il virus né il trattamento con GSH-C4 alterano significativamente l'espressione di Nrf2. Invece il trattamento con il GSH-C4 sembra revertire l'upregolazione di PDI indotta dall'infezione virale dei topi anziani. Il dato ottenuto in vivo è supportato dai risultati ottenuti precedentemente in vitro che indicavano una maggiore espressione di PDI nelle cellule infettate con il virus influenzale e un ripristino con il GSH-C4 dello stato redox di PDI con la conseguente inibizione della maturazione della proteina virale HA (Sgarbanti 2011).

Il ruolo della S-nitrosilazione nella risposta al dolore spontaneo

Il dolore è una sofferenza globale che colpisce persone di ogni età, sesso ed etnia. Significative evidenze collegano il superossido (SO), l'ossido nitrico (NO) e il perossinitrito (PN) al dolore di diverse eziologie. Recenti studi, infatti, hanno dimostrato come le strategie terapeutiche dirette contro SO, NO e PN siano in grado di prevenire e revertire patologie associate alle diverse tipologie di dolore (Muscoli C. et al, 2004, 2007; Doyle T. et al 2010).

L'ossido nitrico è in grado di modulare la trasduzione del segnale a determinati stimoli mediante meccanismi che portano alla modificazione transitoria delle proteine. La principale reazione chimica alla base di questi meccanismi è la S-nitrosilazione dei residui di cisteina che consiste nella covalente aggiunta di NO ai residui sulfidrilici reattivi, portando alla formazione di derivati S-nitrosotiolici (SNO). Il livello steady-state degli S-nitrosotioili dipende dal fine equilibrio tra la produzione di NO e la riduzione SNO. Quest'ultima reazione è catalizzata da enzimi denitrosilanti, il più importante dei quali è l'S-nitrosoglutatione (GSNO) reduttasi (GSNOR) NADH-dipendente. Il GSNOR è un enzima conservato dal punto di vista evolutivo ed ampiamente espresso che, riducendo il nitrosotioilo a basso peso molecolare GSNO, diminuisce indirettamente la concentrazione di proteine SNOs (PSNOs) (Di Giacomo G. et al. , 2012). È ormai noto come le modificazioni redox reversibili di proteine costituiscano un importante meccanismo di regolazione post-traduzionale che possono contribuire all'adattamento delle vie di segnalazione del dolore. Infatti, in condizioni normali, le modificazioni redox di specifici residui di cisteina sono reversibili e importanti per gli adattamenti redox di funzioni proteiche (Tegeeder I. et al. , 2011) ma nonostante il ben noto effetto dell'ossido nitrico nella fisiopatologia, rimane ancora da identificare il ruolo specifico dei S-nitrosotioili (SNO) durante la risposta al dolore.

Il progetto prevede di studiare il coinvolgimento del sistema GSNOR nella sensibilità nocicettiva e il ruolo protettivo degli antiossidanti nei topi GSNOR-KO.

Al fine di determinare il ruolo potenziale della S-nitrosilazione nel pathway del dolore, sono stati utilizzati topi GSNOR-Knock out (GSNOR-KO), poiché mantengono la capacità di produrre ossido nitrico, ma non sono in grado di ridurre SNOs.

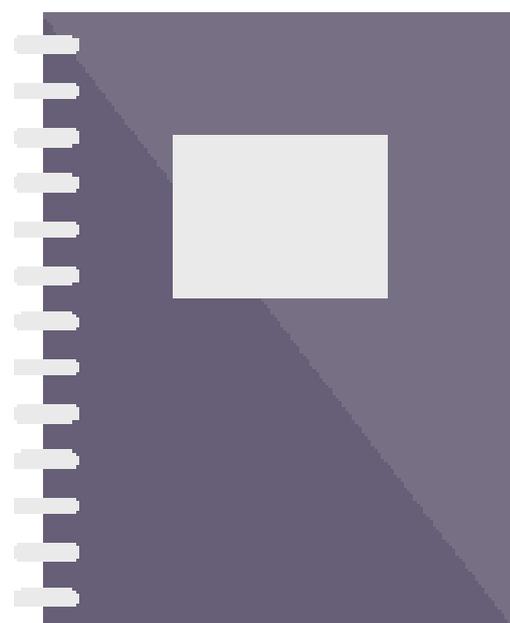
Le soglie nocicettive sono state valutate attraverso specifici test di iperalgesia termica e allodinia meccanica. Per l'iperalgesia termica, il tempo di latenza del ritiro della zampa a uno stimolo termico è stato eseguito tramite l'apparato di Hargreaves (Planta test) mentre la soglia del ritiro della zampa a stimoli tattili è stato eseguito utilizzando filamenti di Von Frey.

Inoltre, sono stati somministrati ad animali, suddivisi in gruppi sperimentali, diversi antiossidanti per valutare l'effetto protettivo di queste sostanze nei topi GSNOR-KO e per identificare nuove classi di farmaci in grado di prevenire e revertire l'iperalgesia e l'allodinia causata dal dolore neuropatico.

Al fine di valutare il coinvolgimento della S-nitrosilazione nel dolore, sono stati analizzati, nel tratto L4-L5 del midollo spinale, i livelli di PSNOs dei topi GSNOR-KO rispetto alla controparte wild-type. Sono stati valutati anche i livelli di espressione di NOS, l'accumulo di nitrotirosine e i livelli di perossidazione lipidica e la quantità di proteine carbonilate.

Attraverso analisi comportamentali, è stato osservato un aumento dell'iperalgesia termica e allodinia meccanica in topi GSNOR-KO, rispetto a topi wild-type della stessa età.

Tali topi, inoltre, hanno mostrato un accumulo di proteine nitrosilate e carbonilate rispetto alla controparte wild-type, ma non hanno mostrato un aumento dei livelli di proteine nitrato; ciò suggerisce che anche la S-nitrosilazione delle proteine sia fondamentale nel pathway del dolore e potrebbe rappresentare un'ulteriore (ma reversibile) modificazione post-traduzionale implicata nella sensitizzazione centrale che porta alla massima sensibilità del dolore.



PUBBLICAZIONI

Laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare

Agewall S, Beltrame JF, Reynolds HR, Niessner A, Rosano G, Caforio AL, De Caterina R, Zimarino M, Roffi M, Kjeldsen K, Atar D, Kaski JC, Sechtem U, Tornvall P; WG on Cardiovascular Pharmacotherapy.

ESC working group position paper on myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries. *Eur Heart J*. 2016 Apr 28. pii: ehw149. [Epub ahead of print]

Anker SD, Schroeder S, Atar D, Bax JJ, Ceconi C, Cowie MR, Crisp A, Dominjon F, Ford I, Ghofrani HA, Gropper S, Hindricks G, Hlatky MA, Holcomb R, Honarpour N, Jukema JW, Kim AM, Kunz M, Lefkowitz M, Le Floch C, Landmesser U, McDonagh TA, McMurray JJ, Merkely B, Packer M, Prasad K, Revkin J, Rosano GM, Somaratne R, Stough WG, Voors AA, Ruschitzka F.

Traditional and new composite endpoints in heart failure clinical trials: facilitating comprehensive efficacy assessments and improving trial efficiency.

Eur J Heart Fail. 2016 May;18(5):482-489.

Composite endpoints are commonly used as the primary measure of efficacy in heart failure clinical trials to assess the overall treatment effect and to increase the efficiency of trials. Clinical trials still must enrol large numbers of patients to accrue a sufficient number of outcome events and have adequate power to draw conclusions about the efficacy and safety of new treatments for heart failure. Additionally, the societal and health system perspectives on heart failure have raised interest in ascertaining the effects of therapy on outcomes such as repeat hospitalization and the patient's burden of disease. Thus, novel methods for using composite endpoints in clinical trials (e.g. clinical status composite endpoints, recurrent event analyses) are being applied in current and planned trials. Endpoints that measure functional status or reflect the patient experience are important but used cautiously because heart failure treatments may improve function yet have adverse effects on mortality. This paper discusses the use of traditional and new composite endpoints, identifies qualities of robust composites, and outlines opportunities for future research.

Arcari L, Limite LR, Cacciotti L, Alonzo A, Musumeci MB, Passaseo I, Marazzi G, Berni A, Ansalone G, Volpe M, Autore C.

Tortuosity, recurrent segments and bridging of the epicardial coronary arteries in patients with the takotsubo syndrome.

Am J Cardiol. 2017 Jan 15;119(2):243-248.

Myocardial bridging (MB) and a long recurrent wraparound left anterior descending artery (wrap-LAD) are coronary anatomic variants that have been recently suggested to be associated with takotsubo syndrome (TS). Until now, coronary artery tortuosity (CAT) has never been investigated in this setting. Our study sought to evaluate the prevalence of the aforementioned anatomic variants in a large population with TS. In this retrospective angiographic study, 109 patients with TS were compared with 109 age- and gender-matched subjects without coronary artery disease, valve heart disease, or cardiomyopathy. CAT was identified by ≥ 3 consecutive curvatures $\geq 90^\circ$ (criteria 1) or by ≥ 2 consecutive curvatures $\geq 180^\circ$ (criteria 2). Wrap-LAD was defined if any part of the vessel outreached the apex of the left ventricle and MB as the presence of a milking effect or a step-up and step-down phenomenon. An anatomic variant was found in 79 patients with TS (72%) and in 48 controls (44%) ($p < 0.001$). CAT in at least 1 vessel (criteria 1: 49% vs 20%, $p < 0.001$; criteria 2: 38% vs 13%, $p < 0.001$), ≥ 2 vessels (criteria 2: 14% vs 3%, $p = 0.005$), and wrap-LAD (41% vs 27%, $p = 0.02$) were significantly more frequent in patients with TS than in controls. The prevalence of MB (9% vs 5%, $p = 0.18$) did not differ between groups. In conclusion, CAT and wrap-LAD have higher prevalence in

patients with TS than in matched controls. These findings could support the hypothesis that anatomic variants might act as potential pathogenic substrates in TS.

Badagliacca R, Poscia R, Pezzuto B, Papa S, Pesce F, Manzi G, Giannetta E, Raineri C, Schina M, Sciomer S, Parola D, Francone M, Carbone I, Fedele F, Vizza CD.

Right ventricular concentric hypertrophy and clinical worsening in idiopathic pulmonary arterial hypertension.

J Heart Lung Transplant. 2016 Nov;35(11):1321-1329.

Because the pathophysiology of idiopathic pulmonary arterial hypertension (IPAH) is an afterload mismatch, wall stress represents the most important feature affecting the overloaded right ventricle (RV). Thus, the RV mass/volume (M/V) ratio may reflect more adequately the suitability of the remodeling pattern in minimizing RV wall stress compared with the lone RV volume. This study investigated the prognostic effect of the RV M/V ratio in IPAH.

Enrolled in our center were 74 therapy-naïve IPAH patients who were prospectively monitored for the presence of clinical worsening (CW). Baseline evaluation included clinical, hemodynamic, and echocardiographic parameters. Cardiac magnetic resonance was used for RV M/V ratio determination.

During 541 ± 283 days of follow-up, 31 of 74 patients (42%) presented with CW. Actuarial rates of CW were 14%, 28%, and 46%, at 6, 12, and 24 months, respectively. The RV M/V ratio significantly improved the power of the prognostic model based on traditional clinical, hemodynamic, and imaging parameters (area under the curve: 0.74 vs 0.66, respectively; $p = 0.01$). When the cutoff values of the RV M/V ratio and cardiac index (CI) derived from receiver operating characteristic curve analysis were combined, patients with a low RV M/V ratio/low CI, low RV M/V ratio/high CI, and high RV M/V ratio/low CI showed a 28.8, 8.8, and 6.1 increase in the hazard ratio, respectively, compared with high RV M/V ratio/high CI patients ($p = 0.0001$).

The RV M/V ratio is an independent predictor of prognosis in IPAH and may allow clinicians to better stratify patients with normal CI, identifying at an early stage those patients at higher risk of right heart failure development before hemodynamic instability appears.

Bueno H, de Graeff P, Richard-Lordereau I, Emmerich J, Fox KA, Friedman CP, Gaudin C, El-Gazayerly A, Goldman S, Hemmrich M, Henderson RA, Himmelmann A, Irs A, Jackson N, James SK, Katus HA, Laslop A, Laws I, Mehran R, Ong S, Prasad K, Roffi M, Rosano GM, Rose M, Sinnaeve PR, Stough WG, Thygesen K, Van de Werf F, Varin C, Verheugt FW, de Los Angeles Alonso García M.

Report of the European Society of Cardiology Cardiovascular Round Table regulatory workshop update of the evaluation of new agents for the treatment of acute coronary syndrome: Executive summary.

Eur Heart J Acute Cardiovasc Care. 2016 Jun 29. pii: 2048872616649859. [Epub ahead of print]

Regulatory authorities interpret the results of randomized controlled trials according to published principles. The European Medicines Agency (EMA) is planning a revision of the 2000 and 2003 guidance documents on clinical investigation of new medicinal products for the treatment of acute coronary syndrome (ACS) to achieve consistency with current knowledge in the field. This manuscript summarizes the key output from a collaborative workshop, organized by the Cardiovascular Round Table and the European Affairs Committee of the European Society of Cardiology, involving clinicians, academic researchers, trialists, European and US regulators, and pharmaceutical industry researchers. Specific questions in four key areas were selected as priorities for changes in regulatory guidance: patient selection, endpoints, methodologic issues and issues related to the research for novel agents. Patients with ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) and non-STEMI (NSTEMI) should be studied separately for therapies aimed at the specific pathophysiology of either condition, particularly for treatment of the acute phase, but can be studied together for other treatments, especially long-term therapy. Unstable angina patients should be excluded from acute phase

ACS trials. In general, cardiovascular death and reinfarction are recommended for primary efficacy endpoints; other endpoints may be considered if specifically relevant for the therapy under study. New agents or interventions should be tested against a background of evidence-based therapy with expanded follow-up for safety assessment. In conclusion, new guidance documents for randomized controlled trials in ACS should consider changes regarding patient and endpoint selection and definitions, and trial designs. Specific requirements for the evaluation of novel pharmacological therapies need further clarification.

Butler J, Hamo CE, Udelson JE, Pitt B, Yancy C, Shah SJ, Desvigne-Nickens P, Bernstein HS, Clark RL, Depre C, Dinh W, Hamer A, Kay-Mugford P, Kramer F, Lefkowitz M, Lewis K, Maya J, Maybaum S, Patel MJ, Pollack PS, Roessig L, Rotman S, Salsali A, Sims JJ, Senni M, Rosano G, Dunmon P, Stockbridge N, Anker SD, Zile MR, Gheorghiade M.

Exploring new endpoints for patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Circ Heart Fail.* 2016 Nov;9(11). pii: e003358.

The epidemiological, clinical, and societal implications of the heart failure (HF) epidemic cannot be overemphasized. Approximately half of all HF patients have HF with preserved ejection fraction (HFpEF). HFpEF is largely a syndrome of the elderly, and with aging of the population, the proportion of patients with HFpEF is expected to grow. Currently, there is no drug known to improve mortality or hospitalization risk for these patients. Besides mortality and hospitalization, it is imperative to realize that patients with HFpEF have significant impairment in their functional capacity and their quality of life on a daily basis, underscoring the need for these parameters to ideally be incorporated within a regulatory pathway for drug approval. Although attempts should continue to explore therapies to reduce the risk of mortality or hospitalization for these patients, efforts should also be directed to improve other patient-centric concerns, such as functional capacity and quality of life. To initiate a dialogue about the compelling need for and the challenges in developing such alternative endpoints for patients with HFpEF, the US Food and Drug Administration on November 12, 2015, facilitated a meeting represented by clinicians, academia, industry, and regulatory agencies. This document summarizes the discussion from this meeting.

Caminiti G, Fossati C, Battaglia D, Selli S, Fortuna D, Volterrani M.

Exercise training in heart failure, clinical evidences and areas of uncertainty. *Journal of Cardiology and Therapy.* 2016;3(1):473-482.

Exercise training, as a part of a comprehensive rehabilitation program, is currently recommended in combination with pharmacological therapy in patients with chronic heart failure. Benefits of exercise training that have been evidenced by scientific literature include improvements in various aspects of physiological function, aerobic exercise capacity and quality of life. Despite exercise training has been included in European and American guidelines as class IA recommendation, at least three important aspects need to be clarified. First of all, the effectiveness of exercise training in improving long term prognosis of patients with chronic heart failure still remains a debatable point. Secondly, the majority of studies have investigated the effects of a particular modality of exercise: continuous aerobic training performed at mild to moderate intensity. On the contrary, the effects of other exercise modalities such as intermittent training, resistance training or hydrotherapy on chronic heart failure haven't been fully understood yet. Finally, patients included in clinical trials evaluating the effects of exercise training are, almost exclusively, those with reduced ejection fraction. Consequently very few data are, until now, available with regard to subjects with heart failure with preserved ejection fraction. This article summarizes the evidences and mechanisms by which exercise training can improve symptoms of heart failure. Moreover, it underlines current limits of knowledge in the prescription of exercise training in patients with chronic heart failure.

Caprio M, Infante M, Armani A, Lenzi A, Fabbri A.

Recettore mineralcorticoide e organo adiposo: Implicazioni cliniche e terapeutiche. *L'Endocrinologo*. 2016;17(2):73-77.

Il recettore mineralcorticoide (MR) è stato recentemente identificato in diversi tessuti extra-renali, tra cui il tessuto adiposo, ove svolge funzioni importanti nel controllo della funzione adipocitaria. L'espressione di MR a livello del tessuto adiposo è più elevata nell'obesità; ciò suggerisce che la sua eccessiva attivazione determina un'alterazione della funzione dell'adipocita. Questo articolo discute le possibili applicazioni degli antagonisti di MR nell'obesità e nelle sue complicanze metaboliche.

Catalá-López F, Macías Saint-Gerons D, González-Bermejo D, Rosano GM, Davis BR, Ridao M, Zaragoza A, Montero-Corominas D, Tobías A, de la Fuente-Honrubia C, Tabarés-Seisdedos R, Hutton B.

Cardiovascular and Renal Outcomes of Renin-Angiotensin System Blockade in Adult Patients with Diabetes Mellitus: A Systematic Review with Network Meta-Analyses.

PLoS Med. 2016 Mar 8;13(3):e1001971. Review.

Medications aimed at inhibiting the renin-angiotensin system (RAS) have been used extensively for preventing cardiovascular and renal complications in patients with diabetes, but data that compare their clinical effectiveness are limited. We aimed to compare the effects of classes of RAS blockers on cardiovascular and renal outcomes in adults with diabetes.

Eligible trials were identified by electronic searches in PubMed/MEDLINE and the Cochrane Database of Systematic Reviews (1 January 2004 to 17 July 2014). Interventions of interest were angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors, angiotensin receptor blockers (ARBs), and direct renin (DR) inhibitors. The primary endpoints were cardiovascular mortality, myocardial infarction, and stroke—singly and as a composite endpoint, major cardiovascular outcome—and end-stage renal disease [ESRD], doubling of serum creatinine, and all-cause mortality—singly and as a composite endpoint, progression of renal disease. Secondary endpoints were angina pectoris and hospitalization for heart failure. In all, 71 trials (103,120 participants), with a total of 14 different regimens, were pooled using network meta-analyses. When compared with ACE inhibitor, no other RAS blocker used in monotherapy and/or combination was associated with a significant reduction in major cardiovascular outcomes: ARB (odds ratio [OR] 1.02; 95% credible interval [CrI] 0.90-1.18), ACE inhibitor plus ARB (0.97; 95% CrI 0.79-1.19), DR inhibitor plus ACE inhibitor (1.32; 95% CrI 0.96-1.81), and DR inhibitor plus ARB (1.00; 95% CrI 0.73-1.38). For the risk of progression of renal disease, no significant differences were detected between ACE inhibitor and each of the remaining therapies: ARB (OR 1.10; 95% CrI 0.90-1.40), ACE inhibitor plus ARB (0.97; 95% CrI 0.72-1.29), DR inhibitor plus ACE inhibitor (0.99; 95% CrI 0.65-1.57), and DR inhibitor plus ARB (1.18; 95% CrI 0.78-1.84). No significant differences were shown between ACE inhibitors and ARBs with respect to all-cause mortality, cardiovascular mortality, myocardial infarction, stroke, angina pectoris, hospitalization for heart failure, ESRD, or doubling serum creatinine. Findings were limited by the clinical and methodological heterogeneity of the included studies. Potential inconsistency was identified in network meta-analyses of stroke and angina pectoris, limiting the conclusiveness of findings for these single endpoints.

In adults with diabetes, comparisons of different RAS blockers showed similar effects of ACE inhibitors and ARBs on major cardiovascular and renal outcomes. Compared with monotherapies, the combination of an ACE inhibitor and an ARB failed to provide significant benefits on major outcomes. Clinicians should discuss the balance between benefits, costs, and potential harms with individual diabetes patients before starting treatment.

Cvan Trobec K, Grabnar I, Kerec Kos M, Vovk T, Trontelj J, Anker SD, Rosano G, Lainscak M. Bisoprolol pharmacokinetics and body composition in patients with chronic heart failure: a longitudinal study.

Eur J Clin Pharmacol. 2016 Jul;72(7):813-22. Epub 2016 Mar 21.

We investigated bisoprolol pharmacokinetics, including longitudinal changes and importance of patient characteristics in chronic heart failure.

Forty-six patients with chronic heart failure (57 % male, NYHA class I/II/III = 2/36/8) were followed for an average of 8 ± 2 months. At baseline and follow-up, plasma bisoprolol concentrations were determined and body composition was measured using dual-energy X-ray absorptiometry. A bisoprolol pharmacokinetic model was built with non-linear mixed-effects modeling to analyze the association with various parameters of body composition.

Mean bisoprolol clearance (10.2 L/h) was 30 % lower than in healthy individuals and correlated with MDRD4-estimated renal function. The mean volume of distribution (230 L) was similar to healthy population and was associated with total body mass and skeletal muscle index (SMI). During follow-up, we observed minor changes in the absorption rate constant (2.83 vs. 2.27 h⁻¹, P=0.030) and volume of distribution (227 vs. 250 L, P=0.004), which are not clinically relevant.

In patients with chronic heart failure, bisoprolol clearance was associated with estimated renal function; thus, in moderately and severely decreased renal function, patients may need to have their dose adjusted. Patients with low body weight or low SMI have greater fluctuations and higher maximal plasma concentrations of bisoprolol because of the lower volume of distribution. Longitudinal changes of bisoprolol pharmacokinetics were not associated with changes in body composition.

Garofalo T, Matarrese P, Manganelli V, Marconi M, Tinari A, Gambardella L, Faggioni A, Misasi R, Sorice M, Malorni W.

Evidence for the involvement of lipid rafts localized at the ER-mitochondria associated membranes in autophagosome formation.

Autophagy. 2016 Jun 2;12(6):917-935.

Mitochondria-associated membranes (MAMs) are subdomains of the endoplasmic reticulum (ER) that interact with mitochondria. This membrane scrambling between ER and mitochondria appears to play a critical role in the earliest steps of autophagy. Recently, lipid microdomains, i.e. lipid rafts, have been identified as further actors of the autophagic process. In the present work, a series of biochemical and molecular analyses has been carried out in human fibroblasts with the specific aim of characterizing lipid rafts in MAMs and to decipher their possible implication in the autophagosome formation. In fact, the presence of lipid microdomains in MAMs has been detected and, in these structures, a molecular interaction of the ganglioside GD3, a paradigmatic "brick" of lipid rafts, with core-initiator proteins of autophagy, such as AMBRA1 and WIPI1, was revealed. This association seems thus to take place in the early phases of autophagic process in which MAMs have been hypothesized to play a key role. The functional activity of GD3 was suggested by the experiments carried out by knocking down ST8SIA1 gene expression, i.e., the synthase that leads to the ganglioside formation. This experimental condition results in fact in the impairment of the ER-mitochondria crosstalk and the subsequent hindering of autophagosome nucleation. We thus hypothesize that MAM raft-like microdomains could be pivotal in the initial organelle scrambling activity that finally leads to the formation of autophagosome.

Giuseppe C, Chiara F, Giuseppe R, Maurizio V.= 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. 2016 Jan 1;202:73-74.

Atrial fibrillation (AF) is one of the most common arrhythmias and is often responsible for impaired exercise tolerance and quality of life. Traditionally, in patients with persistent and/or permanent AF, heart rate (HR) control is obtained by using drugs that prolong atrioventricular (AV) node refractoriness such as β -adrenergic receptor blockers (β Bs), nondihydropyridine calcium channel blockers, and digitalis glycosides. However a significant proportion of subjects with AF has poor HR control.

Caminiti G, Fossati C, Battaglia D, Massaro R, Rosano G, Volterrani M.

Ranolazine improves insulin resistance in non-diabetic patients with coronary heart disease. A pilot study.

Int J Cardiol. 2016 Jun 11;219:127-129.

The aim of this pilot study was to evaluate if ranolazine (R) could improve insulin resistance (IR) in obese/overweight non-diabetic patients with coronary heart disease (CHD).

The study enrolled 40 patients with already diagnosed CHD, previous revascularization, residual ischemia at ergometric test and IR. Mean age was 62.4±9years, M/F=31/9. Patients were randomly assigned to one of the two following groups: group 1 (20 patients) started R at dose of 500mg/bid; group 2 (20 patients) increased the dose of beta-blockers or calcium-channel blockers without introducing R. IR was defined as having HOMA-IR>2.5. At baseline and after 12weeks, all subjects performed an ergometric test and 12h fasting blood sample collection for determining glucose and insulin levels.

At 12 weeks follow-up visit HOMA-IR significantly decreased in group 1 (from 3.1±1.7 to 2.3±0.9; p=0.02) while it remained unchanged in group 2 (from 3.0±1.4 to 2.8±1.2; p=0.14) (between groups p=0.009). At 12weeks follow-up visit patients of both groups obtained a significant increase of ischemic threshold at ergometric test, compared to baseline, (group 1 from 308.4±45s to 423.9±57s, p=0.0004); (group 1 from 315.7±63s to 441.2±51s, p=0.0001); without between groups difference (p=0.25).

Our data suggest that starting R, instead of increasing the dose of beta-blockers/calcium-channel blockers, could be a preferable choice in obese/overweight CHD subjects with residual ischemia after revascularization.

Campolongo G, Riccioni CV, Raparelli V, Spoletini I, Marazzi G, Vitale C, Volterrani M.

The combination of nutraceutical and simvastatin enhances the effect of simvastatin alone in normalising lipid profile without side effects in patients with ischemic heart disease.

IJC Metabolic & Endocrine. 2016 6;11:3-6.

The aim of this pilot study was to evaluate if ranolazine (R) could improve insulin resistance (IR) in obese/overweight non-diabetic patients with coronary heart disease (CHD).

The study enrolled 40 patients with already diagnosed CHD, previous revascularization, residual ischemia at ergometric test and IR. Mean age was 62.4±9years, M/F=31/9. Patients were randomly assigned to one of the two following groups: group 1 (20 patients) started R at dose of 500mg/bid; group 2 (20 patients) increased the dose of beta-blockers or calcium-channel blockers without introducing R. IR was defined as having HOMA-IR>2.5. At baseline and after 12weeks, all subjects performed an ergometric test and 12h fasting blood sample collection for determining glucose and insulin levels.

At 12weeks follow-up visit HOMA-IR significantly decreased in group 1 (from 3.1±1.7 to 2.3±0.9; p=0.02) while it remained unchanged in group 2 (from 3.0±1.4 to 2.8±1.2; p=0.14) (between groups p=0.009). At 12weeks follow-up visit patients of both groups obtained a significant increase of ischemic threshold at ergometric test, compared to baseline, (group 1 from 308.4±45s to 423.9±57s, p=0.0004); (group 1 from 315.7±63s to 441.2±51s, p=0.0001); without between groups difference (p=0.25).

Our data suggest that starting R, instead of increasing the dose of beta-blockers/calcium-channel blockers, could be a preferable choice in obese/overweight CHD subjects with residual ischemia after revascularization.

Caprio M, Infante M, Calanchini M, Mammi C, Fabbri A.

Vitamin D: not just the bone. Evidence for beneficial pleiotropic extraskeletal effects

Eat Weight Disord. August 2016 [Epub ahead of print]

Vitamin D is a fat-soluble vitamin and a steroid hormone that plays a central role in maintaining calcium-phosphorus and bone homeostasis in close interaction with parathyroid hormone, acting on its classical target tissues, namely, bone, kidney, intestine, and parathyroid glands. However, vitamin D endocrine system regulates several genes (about 3 % of the human genome) involved in cell differentiation, cell-cycle control, and cell function and exerts noncalcemic/pleiotropic effects on extraskeletal target tissues, such as immune and cardiovascular system, pancreatic endocrine cells, muscle, and adipose tissue. Several studies have demonstrated the role of vitamin D supplementation in the prevention/treatment of various autoimmune diseases and improvement of glucose metabolism, muscle, and adipose tissue function. Hence, this review aims to elucidate the effects of vitamin D on extraskeletal target tissues and to investigate the potential therapeutic benefit of vitamin D supplementation among a broad group of pathological conditions, especially with regard to metabolic and autoimmune diseases. In addition, we focused on the best daily intakes and serum levels of vitamin D required for extraskeletal benefits which, even if still controversial, appear to be higher than those widely accepted for skeletal effects.

Di Bari M, Esposti LD, Veronesi C, Pecorelli S, Fini M, Baldasseroni S, Mossello E, Fumagalli S, Scatigna M, Marchionni N.

Combination evidence-based therapy is effective in the oldest 'old patients' following myocardial infarction. The "Salute e Benessere nell'Anziano" (SeBA) observational study.

Intern Emerg Med. 2016 Aug;11(5):677-685.

Antiplatelet drugs, statins, angiotensinogen-converting enzyme inhibitors or angiotensin-II receptor blockers, and β -blockers improve survival following myocardial infarction (MI). However, in old age they are under-prescribed, and their effectiveness in combination regimens is unproven. The aim of the study was to evaluate prescription of recommended cardiovascular drug classes and impact of a combination regimen on long-term mortality and hospitalizations. Records of 65+ years MI survivors, discharged from hospitals in four Local Health Units in Italy, were selected from administrative databases and analyzed. All-cause mortality and cardiovascular re-hospitalization in 12 months were compared across participants prescribed 0, 1, 2, 3, or 4 recommended drug classes. Out of 2626 participants (56 % men, 25 % aged 85+ years), 42 % were prescribed all, 14 % none of the recommended drug classes. The prescription rate decreased with advancing age. At all ages, mortality decreased with increasing number of drug classes prescribed: in participants aged 85+ years, adjusted hazard ratios (95 % confidence interval) for death were 0.74 (0.47-1.17), 0.52 (0.33-0.82), 0.30 (1.19-0.48), and 0.33 (0.20-0.53) for 1, 2, 3, and 4 classes prescribed, compared with none. The risk of cardiovascular re-hospitalizations decreased with an increasing number of drug classes prescribed through the age of 84 years. After MI, a combination regimen of recommended drug classes prevents long-term mortality at any age, and cardiovascular re-hospitalizations through the age of 84. Enhancing compliance with treatment guidelines may reduce the burden of mortality and hospitalizations in older MI survivors.

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 Sep 21. [Epub ahead of print]

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.

Ferrari D, Vitiello L, Idzko M, la Sala A.
Purinergic signaling in atherosclerosis.
Trends Mol Med. 2015 Mar;21(3):184-192.

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.

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. 2016 Sep;7(4):449-457.

The loss of muscle mass (sarcopenia) and the associated reduced muscle strength are key limiting factors for elderly people's quality of life. Improving muscle performance does not necessarily correlate with increasing muscle mass. In fact, particularly in the elderly, the main explanation for muscle weakness is a reduction of muscle quality rather than a loss of muscle mass, and the main goal to be achieved is to increase muscle strength. The effectiveness of Trimetazidine (TMZ) in preventing muscle functional impairment during ageing was assessed in our laboratory.

Aged mice received TMZ or vehicle for 12 consecutive days. Muscle function was evaluated at the end of the treatment by a grip test as well as by an inverted screen test at 0, 5, 7 and 12 days of TMZ treatment. After sacrifice, muscles were stored for myofiber cross-sectional area assessment and myosin heavy chain expression evaluation by western blotting.

Chronic TMZ treatment does not affect the mass of both gastrocnemius and tibialis anterior muscles, while it significantly increases muscle strength. Indeed, both latency to fall and grip force are markedly enhanced in TMZ-treated versus untreated mice. In addition, TMZ administration results in higher expression of slow myosin heavy chain isoform and increased number of small-sized myofibers. We report here some data showing that the modulation of skeletal muscle metabolism by TMZ increases muscle strength in aged mice. Reprogramming metabolism might therefore be a strategy worth to be further investigated in view of improving muscle performance in the elderly.

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. 2016 Aug;68(2):100-103.

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.

Gori M, Volterrani M, Piepoli M, Senni M.
Angiotensin receptor-neprilysin inhibitor (ARNi): Clinical studies on a new class of drugs.
Int J Cardiol. 2017 Jan 1;226:136-140.

Sacubritilil-valsartan (Entresto, Novartis, still commonly referred to as LCZ696) is a combination drug described as a new class of dual-acting angiotensin receptor-neprilysin inhibitor (ARNi). This combination drug has been successfully studied in patients with heart failure with both preserved (HFpEF) and reduced ejection fraction (HFrEF). In this review, the evidences in patients with HFpEF and HFrEF are summarized, including the results of more recent studies.

Griffo R, Tramarin R, Volterrani M, Ambrosetti M, Caiazza F, Chimini C, Favretto G, Febo O, Gabriele M, Pusineri E, Greco C, Proto C; Società Italiana Cardiologia Ospedalita Accreditata.
[The Italian Survey on Cardiac Rehabilitation - 2013 (ISYDE.13-Directory): national availability and organization of cardiac rehabilitation facilities].
G Ital Cardiol (Rome). 2016 Mar;17(3):217-224.

The Italian Association for Cardiovascular Prevention, Rehabilitation and Epidemiology (GICR-IACPR) and the Italian Society of Cardiologists of Accredited Hospitals (SICOA) developed the ISYDE.13 survey with the purpose to take a detailed snapshot of number, distribution, facilities, staffing levels, organization, and program details of cardiac rehabilitation (CR) units in Italy.

The study was carried out using a web-based questionnaire running on the GICR-IACPR website for 4 weeks from September 2 to 29, 2013.

Out of 221 CR centers existing in Italy (+14% vs 2008), 191 (86%) participated in the survey. On a national basis, there is a CR unit every 268 852 inhabitants. The majority of CR units are located in public hospitals (57.1%), the remaining 42.9% in private hospitals; 130 CR centers (68%) provide inpatients care and account for 3527 beds (5.9 per 100 000 inhabitants): of these 374 are day-hospital beds and 408 are sub-intensive beds. Forty-one of the Italian in-hospital CR centers offer also outpatient programs and 61 centers (32%) offer only outpatient CR programs; 131 of the CR units (68.6%) are linked to dedicated cardiology divisions and in 77% of cases the head is a cardiologist. Home-based programs are offered by 9 centers (4.7%) and CR programs with telecare supervision by 16 (8.4%).

Long-term secondary prevention follow-up programs are provided by 94 of CR services (49.2%). During one week of activity, the 191 centers completed 1335 inpatient CR programs and 971 outpatient CR programs. According to these data, it may be assumed that in Italy approximately 100 000 patients are referred annually to CR programs.

ISYDE.13 showed an incremental trend of CR provision in Italy, particularly in outpatient programs. However, at present, the national network of CR units covers only one third of the potential requirements defined by current secondary prevention recommendations.

Haider A, Yassin A, Haider KS, Doros G, Saad F, Rosano GM.

Men with testosterone deficiency and a history of cardiovascular diseases benefit from long-term testosterone therapy: observational, real-life data from a registry study.

Vasc Health Risk Manag. 2016 Jun 14;12:251-261.

Long-term testosterone therapy (TTh) in men with hypogonadism has been shown to improve all components of the metabolic syndrome. In this study, we investigated the effects of long-term TTh up to 8 years in hypogonadal men with a history of cardiovascular disease (CVD).

In two urological clinics observational registries, we identified 77 hypogonadal men receiving TTh who also had a history of CVD. The effects of TTh on anthropometric and metabolic parameters were investigated for a maximum duration of 8 years. Any occurrence of major adverse cardiovascular events was reported. All men received long-acting injections of testosterone undecanoate at 3-monthly intervals.

In 77 hypogonadal men with a history of CVD who received TTh, we observed a significant weight loss and a decrease in waist circumference and body mass index. Mean weight decreased from 114±13 kg to 91±9 kg, change from baseline: -24±1 kg and -20.2%±0.5%. Waist circumference decreased from 112±8 cm to 99±6 cm, change from baseline: -13±0.3 cm. Body mass index decreased from 37±4 to 29±3, change from baseline: -8±0.2 kg/m². Cardio-metabolic parameters such as lipid pattern, glycemic control, blood pressure, heart rate, and pulse pressure all improved significantly and sustainably. No patient suffered a major adverse cardiovascular event during the full observation time.

In men with hypogonadism, TTh appears to be effective in achieving sustained improvements in all cardiometabolic risk factors and may be effective as an add-on measure in the secondary prevention of cardiovascular events in hypogonadal men with a history of CVD.

Harjola VP, Mebazaa A, Čelutkienė J, Bettex D, Bueno H, Chioncel O, Crespo-Leiro MG, Falk V, Filippatos G, Gibbs S, Leite-Moreira A, Lassus J, Masip J, Mueller C, Mullens W, Naeije R, Nordgraaf AV, Parissis J, Riley JP, Ristic A, Rosano G, Rudiger A, Ruschitzka F, Seferovic P, Sztrymf B, Veillard-Baron A, Yilmaz MB, Konstantinides S.

Contemporary management of acute right ventricular failure: a statement from the Heart Failure Association and the Working Group on Pulmonary Circulation and Right Ventricular Function of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2016 Mar;18(3):226-241.

Acute right ventricular (RV) failure is a complex clinical syndrome that results from many causes. Research efforts have disproportionately focused on the failing left ventricle, but recently the need has been recognized to achieve a more comprehensive understanding of RV anatomy, physiology, and pathophysiology, and of management approaches. Right ventricular mechanics and function are altered in the setting of either pressure overload or volume overload. Failure may also result from a primary reduction of myocardial contractility owing to ischaemia, cardiomyopathy, or arrhythmia. Dysfunction leads to impaired RV filling and increased right atrial pressures. As dysfunction progresses to overt RV failure, the RV chamber becomes more spherical and tricuspid regurgitation is aggravated, a cascade leading to increasing venous congestion. Ventricular interdependence results in impaired left ventricular filling, a decrease in left ventricular stroke volume, and ultimately low car-

cardiac output and cardiogenic shock. Identification and treatment of the underlying cause of RV failure, such as acute pulmonary embolism, acute respiratory distress syndrome, acute decompensation of chronic pulmonary hypertension, RV infarction, or arrhythmia, is the primary management strategy. Judicious fluid management, use of inotropes and vasopressors, assist devices, and a strategy focusing on RV protection for mechanical ventilation if required all play a role in the clinical care of these patients. Future research should aim to address the remaining areas of uncertainty which result from the complexity of RV haemodynamics and lack of conclusive evidence regarding RV-specific treatment approaches.

EH, Brest P, Bridges D, Bringer MA, Brini M, Brito GC, Brodin B, Brookes PS, Brown EJ, Brown K, Broxmeyer HE, Bruhat A, Brum PC, Brumell JH, Brunetti-Pierri N, Bryson-Richardson RJ, Buch S, Buchan AM, Budak H, Bulavin DV, Bultman SJ, Bultynck G, Bumbasirevic V, Burelle Y, Burke RE, Burmeister M, Bütikofer P, Caberlotto L, Cadwell K, Cahova M, Cai D, Cai J, Cai Q, Calatayud S, Camougrand N, Campanella M, Campbell GR, Campbell M, Campello S, Candau R, Caniggia I, Cantoni L, Cao L, Caplan AB, Caraglia M, Cardinali C, Cardoso SM, Carew JS, Carleton LA, Carlin CR, Carloni S, Carlsson SR, Carmona-Gutierrez D, Carneiro LA, Carnevali O, Carra S, Carrier A, Carroll B, Casas C, Casas J, Cassinelli G, Castets P, Castro-Obregon S, Cavallini G, Ceccherini I, Cecconi F, Cederbaum AI, Ceña V, Cenci S, Cerella C, Cervia D, Cetrullo S, Chaachouay H, Chae HJ, Chagin AS, Chai CY, Chakrabarti G, Chamilos G, Chan EY, Chan MT, Chandra D, Chandra P, Chang CP, Chang RC, Chang TY, Chatham JC, Chatterjee S, Chauhan S, Che Y, Cheetham ME, Cheluvappa R, Chen CJ, Chen G, Chen GC, Chen G, Chen H, Chen JW, Chen JK, Chen M, Chen M, Chen P, Chen Q, Chen Q, Chen SD, Chen S, Chen SS, Chen W, Chen WJ, Chen WQ, Chen W, Chen X, Chen YH, Chen YG, Chen Y, Chen Y, Chen Y, Chen YJ, Chen YQ, Chen Y, Chen Z, Chen Z, Cheng A, Cheng CH, Cheng H, Cheong H, Cherry S, Chesney J, Cheung CH, Chevet E, Chi HC, Chi SG, Chiacchiera F, Chiang HL, Chiarelli R, Chiariello M, Chieppa M, Chin LS, Chiong M, Chiu GN, Cho DH, Cho SG, Cho WC, Cho YY, Cho YS, Choi AM, Choi EJ, Choi EK, Choi J, Choi ME, Choi SI, Chou TF, Chouaib S, Choubey D, Choubey V, Chow KC, Chowdhury K, Chu CT, Chuang TH, Chun T, Chung H, Chung T, Chung YL, Chwae YJ, Cianfanelli V, Ciarcia R, Ciechomska IA, Ciriolo MR, Cirone M, Claerhout S, Clague MJ, Clària J, Clarke PG, Clarke R, Clementi E, Cleyrat C, Cnop M, Coccia EM, Cocco T, Codogno P, Coers J, Cohen EE, Colecchia D, Coletto L, Coll NS, Colucci-Guyon E, Comincini S, Condello M, Cook KL, Coombs GH, Cooper CD, Cooper JM, Coppens I, Corasaniti MT, Corazzari M, Corbalan R, Corcelle-Termeau E, Cordero MD, Corral-Ramos C, Corti O, Cossarizza A, Costelli P, Costes S, Cotman SL, Coto-Montes A, Cottet S, Couve E, Covey LR, Cowart LA, Cox JS, Coxon FP, Coyne CB, Cragg MS, Craven RJ, Crepaldi T, Crespo JL, Criollo A, Crippa V, Cruz MT, Cuervo AM, Cuezva JM, Cui T, Cutillas PR, Czaja MJ, Czyzyk-Krzeska MF, Dagda RK, Dahmen U, Dai C, Dai W, Dai Y, Dalby KN, Dalla Valle L, Dalmaso G, D'Amelio M, Damme M, Darfeuille-Michaud A, Dargemont C, Darley-Usmar VM, Dasarathy S, Dasgupta B, Dash S, Dass CR, Davey HM, Davids LM, Dávila D, Davis RJ, Dawson TM, Dawson VL, Daza P, de Belleruche J, de Figueiredo P, de Figueiredo RC, de la Fuente J, De Martino L, De Matteis A, De Meyer GR, De Milito A, De Santi M, de Souza W, De Tata V, De Zio D, Debnath J, Dechant R, Decuyper JP, Deegan S, Dehay B, Del Bello B, Del Re DP, Delage-Mourroux R, Delbridge LM, Deldicque L, Delorme-Axford E, Deng Y, Dengjel J, Denizot M, Dent P, Der CJ, Deretic V, Derrien B, Deutsch E, Devarenne TP, Devenish RJ, Di Bartolomeo S, Di Daniele N, Di Domenico F, Di Nardo A, Di Paola S, Di Pietro A, Di Renzo L, DiAntonio A, Díaz-Araya G, Díaz-Laviada I, Díaz-Meco MT, Diaz-Nido J, Dickey CA, Dickson RC, Diederich M, Digard P, Dikic I, Dinesh-Kumar SP, Ding C, Ding WX, Ding Z, Dini L, Distler JH, Diwan A, Djavaheri-Mergny M, Dmytruk K, Dobson RC, Doetsch V, Dokladny K, Dokudovskaya S, Donadelli M, Dong XC, Dong X, Dong Z, Donohue TM Jr, Doran KS, D'Orazi G, Dorn GW 2nd, Dosenko V, Dridi S, Drucker L, Du J, Du LL, Du L, du Toit A, Dua P, Duan L, Duann P, Dubey VK, Duchon MR, Duchosal MA, Duez H, Dugail I, Dumit VI, Duncan MC, Dunlop EA, Dunn WA Jr, Dupont N, Dupuis L, Durán RV, Durcan TM, Duvezin-Caubet S, Duvvuri U, Eapen V, Ebrahimi-Fakhari D, Echard A, Eckhart L, Edelstein CL, Edinger AL, Eichinger L, Eisenberg T, Eisenberg-Lerner A, Eissa NT, El-Deiry WS, El-Khoury V, Elazar Z, Eldar-Finkelmann H, Elliott CJ, Emanuele

E, Emmenegger U, Engedal N, Engelbrecht AM, Engelender S, Enserink JM, Erdmann R, Erenpreisa J, Eri R, Eriksen JL, Erman A, Escalante R, Eskelinen EL, Espert L, Esteban-Martínez L, Evans TJ, Fabri M, Fabrias G, Fabrizi C, Facchiano A, Færgeman NJ, Faggioni A, Fairlie WD, Fan C, Fan D, Fan J, Fang S, Fanto M, Fanzani A, Farkas T, Faure M, Favier FB, Fearnhead H, Federici M, Fei E, Felizardo TC, Feng H, Feng Y, Feng Y, Ferguson TA, Fernández ÁF, Fernandez-Barrena MG, Fernandez-Checa JC, Fernández-López A, Fernandez-Zapico ME, Feron O, Ferraro E, Ferreira-Halder CV, Fesus L, Feuer R, Fiesel FC, Filippi-Chiela EC, Filomeni G, Fimia GM, Fingert JH, Finkbeiner S, Finkel T, Fiorito F, Fisher PB, Flajolet M, Flamigni F, Florey O, Florio S, Floto RA, Folini M, Follo C, Fon EA, Fornai F, Fortunato F, Fraldi A, Franco R, Francois A, François A, Frankel LB, Fraser ID, Frey N, Freyssenet DG, Frezza C, Friedman SL, Frigo DE, Fu D, Fuentes JM, Fueyo J, Fujitani Y, Fujiwara Y, Fujiya M, Fukuda M, Fulda S, Fusco C, Gabryel B, Gaestel M, Gailly P, Gajewska M, Galadari S, Galili G, Galindo I, Galindo MF, Gallicioti G, Galluzzi L, Galluzzi L, Galy V, Gammoh N, Gandy S, Ganesan AK, Ganesan S, Ganley IG, Gannagé M, Gao FB, Gao F, Gao JX, García Nannig L, García Véscovi E, Garcia-Macía M, Garcia-Ruiz C, Garg AD, Garg PK, Gargini R, Gassen NC, Gatica D, Gatti E, Gavard J, Gavathiotis E, Ge L, Ge P, Ge S, Gean PW, Gelmetti V, Genazzani AA, Geng J, Genschik P, Gerner L, Gestwicki JE, Gewirtz DA, Ghavami S, Ghigo E, Ghosh D, Giammarioli AM, Giampieri F, Giampietri C, Giatromanolaki A, Gibbings DJ, Gibellini L, Gibson SB, Ginet V, Giordano A, Giorgini F, Giovannetti E, Girardin SE, Gispert S, Giuliano S, Gladson CL, Glavic A, Gleave M, Godefroy N, Gogal RM Jr, Gokulan K, Goldman GH, Goletti D, Goligorsky MS, Gomes AV, Gomes LC, Gomez H, Gomez-Manzano C, Gómez-Sánchez R, Gonçalves DA, Goncu E, Gong Q, Gongora C, Gonzalez CB, Gonzalez-Alegre P, Gonzalez-Cabo P, González-Polo RA, Goping IS, Gorbea C, Gorbunov NV, Goring DR, Gorman AM, Gorski SM, Goruppi S, Goto-Yamada S, Gotor C, Gottlieb RA, Gozes I, Gozuacik D, Graba Y, Graef M, Granato GE, Grant GD, Grant S, Gravina GL, Green DR, Greenhough A, Greenwood MT, Grimaldi B, Gros F, Grose C, Groulx JF, Gruber F, Grumati P, Grune T, Guan JL, Guan KL, Guerra B, Guillen C, Gulshan K, Gunst J, Guo C, Guo L, Guo M, Guo W, Guo XG, Gust AA, Gustafsson ÅB, Gutierrez E, Gutierrez MG, Gwak HS, Haas A, Haber JE, Hadano S, Hagedorn M, Hahn DR, Halayko AJ, Hamacher-Brady A, Hamada K, Hamai A, Hamann A, Hamasaki M, Hamer I, Hamid Q, Hammond EM, Han F, Han W, Handa JT, Hanover JA, Hansen M, Harada M, Harhaji-Trajkovic L, Harper JW, Harrath AH, Harris AL, Harris J, Hasler U, Hasselblatt P, Hasui K, Hawley RG, Hawley TS, He C, He CY, He F, He G, He RR, He XH, He YW, He YY, Heath JK, Hébert MJ, Heinzen RA, Helgason GV, Hensel M, Henske EP, Her C, Herman PK, Hernández A, Hernandez C, Hernández-Tiedra S, Hetz C, Hiesinger PR, Higaki K, Hilfiker S, Hill BG, Hill JA, Hill WD, Hino K, Hofius D, Hofman P, Höglinger GU, Höhfeld J, Holz MK, Hong Y, Hood DA, Hoozemans JJ, Hoppe T, Hsu C, Hsu CY, Hsu LC, Hu D, Hu G, Hu HM, Hu H, Hu MC, Hu YC, Hu ZW, Hua F, Hua Y, Huang C, Huang HL, Huang KH, Huang KY, Huang S, Huang S, Huang WP, Huang YR, Huang Y, Huang Y, Huber TB, Huebbe P, Huh WK, Hulmi JJ, Hur GM, Hurley JH, Husak Z, Hussain SN, Hussain S, Hwang JJ, Hwang S, Hwang TI, Ichihara A, Imai Y, Imbriano C, Inomata M, Into T, Iovane V, Iovanna JL, Iozzo RV, Ip NY, Irazoqui JE, Iribarren P, Isaka Y, Isakovic AJ, Ischiropoulos H, Isenberg JS, Ishaq M, Ishida H, Ishii I, Ishmael JE, Isidoro C, Isobe KI, Isono E, Issazadeh-Navikas S, Itahana K, Itakura E, Ivanov AI, Iyer AK, Izquierdo JM, Izumi Y, Izzo V, Jäättelä M, Jaber N, Jackson DJ, Jackson WT, Jacob TG, Jacques TS, Jagannath C, Jain A, Jana NR, Jang BK, Jani A, Janji B, Jannig PR, Jansson PJ, Jean S, Jendrach M, Jeon JH, Jessen N, Jeung EB, Jia K, Jia L, Jiang H, Jiang H, Jiang L, Jiang T, Jiang X, Jiang X, Jiang X, Jiang X, Jiang Y, Jiang Y, Jiménez A, Jin C, Jin H, Jin L, Jin M, Jin S, Jinwal UK, Jo EK, Johansen T, Johnson DE, Johnson GV, Johnson JD, Jonasch E, Jones C, Joo-sten LA, Jordan J, Joseph AM, Joseph B, Joubert AM, Ju D, Ju J, Juan HF, Juenemann K, Juhász G, Jung HS, Jung JU, Jung YK, Jungbluth H, Justice MJ, Jutten B, Kaakoush NO, Kaarniranta K, Kaasik A, Kabuta T, Kaeffer B, Kågedal K, Kahana A, Kajimura S, Kakhlon O, Kalia M, Kalvakolanu DV, Kamada Y, Kambas K, Kaminsky VO, Kampinga HH, Kandouz M, Kang C, Kang R, Kang TC, Kanki T, Kanneganti TD, Kanno H, Kanthasamy AG, Kantorow M, Kaparakis-Liaskos M, Kapuy O, Karantza V, Karim MR, Karmakar P, Kaser A, Kaushik S, Kawula T, Kaynar AM, Ke PY, Ke ZJ, Kehrl JH, Keller KE, Kemper JK, Kenworthy AK, Kepp O, Kern A, Kesari S, Kessel D, Ketteler R, Kettelhut ID, Khambu B, Khan MM, Khandelwal VK, Khare S, Kiang JG, Kiger AA, Kihara A, Kim AL, Kim CH,

Kim DR, Kim DH, Kim EK, Kim HY, Kim HR, Kim JS, Kim JH, Kim JC, Kim JH, Kim KW, Kim MD, Kim MM, Kim PK, Kim SW, Kim SY, Kim YS, Kim Y, Kimchi A, Kimmelman AC, Kimura T, King JS, Kirkegaard K, Kirkin V, Kirshenbaum LA, Kishi S, Kitajima Y, Kitamoto K, Kitaoka Y, Kitazato K, Kley RA, Klimecki WT, Klinkenberg M, Klucken J, Knævelsrud H, Knecht E, Knuppertz L, Ko JL, Kobayashi S, Koch JC, Koechlin-Ramonatxo C, Koenig U, Koh YH, Köhler K, Kohlwein SD, Koike M, Komatsu M, Kominami E, Kong D, Kong HJ, Konstantakou EG, Kopp BT, Korcsmaros T, Korhonen L, Korolchuk VI, Koshkina NV, Kou Y, Koukourakis MI, Koumenis C, Kovács AL, Kovács T, Kovacs WJ, Koya D, Kraft C, Krainc D, Kramer H, Kravic-Stevovic T, Krek W, Kretz-Remy C, Krick R, Krishnamurthy M, Kriston-Vizi J, Kroemer G, Kruer MC, Kruger R, Ktistakis NT, Kuchitsu K, Kuhn C, Kumar AP, Kumar A, Kumar A, Kumar D, Kumar D, Kumar R, Kumar S, Kundu M, Kung HJ, Kuno A, Kuo SH, Kuret J, Kurz T, Kwok T, Kwon TK, Kwon YT, Kyrmizi I, La Spada AR, Lafont F, Lahm T, Lakkaraju A, Lam T, Lamark T, Lancel S, Landowski TH, Lane DJ, Lane JD, Lanzi C, Lapaquette P, Lapierre LR, Laporte J, Laukkarinen J, Laurie GW, Lavandero S, Lavie L, LaVoie MJ, Law BY, Law HK, Law KB, Layfield R, Lazo PA, Le Cam L, Le Roch KG, Le Stunff H, Leardkamolkarn V, Lecuit M, Lee BH, Lee CH, Lee EF, Lee GM, Lee HJ, Lee H, Lee JK, Lee J, Lee JH, Lee JH, Lee M, Lee MS, Lee PJ, Lee SW, Lee SJ, Lee SJ, Lee SY, Lee SH, Lee SS, Lee SJ, Lee S, Lee YR, Lee YJ, Lee YH, Leeuwenburgh C, Lefort S, Legouis R, Lei J, Lei QY, Leib DA, Leibowitz G, Lekli I, Lemaire SD, Lemasters JJ, Lemberg MK, Lemoine A, Leng S, Lenz G, Lenzi P, Lerman LO, Lettieri Barbato D, Leu JI, Leung HY, Levine B, Lewis PA, Lezoualc'h F, Li C, Li F, Li FJ, Li J, Li K, Li L, Li M, Li M, Li Q, Li R, Li S, Li W, Li W, Li X, Li Y, Lian J, Liang C, Liang Q, Liao Y, Liberal J, Liberski PP, Lie P, Lieberman AP, Lim HJ, Lim KL, Lim K, Lima RT, Lin CS, Lin CF, Lin F, Lin F, Lin FC, Lin K, Lin KH, Lin PH, Lin T, Lin WW, Lin YS, Lin Y, Linden R, Lindholm D, Lindqvist LM, Lingor P, Linkermann A, Liotta LA, Lipinski MM, Lira VA, Lisanti MP, Liton PB, Liu B, Liu C, Liu CF, Liu F, Liu HJ, Liu J, Liu JJ, Liu JL, Liu K, Liu L, Liu L, Liu Q, Liu RY, Liu S, Liu S, Liu W, Liu XD, Liu X, Liu XH, Liu X, Liu X, Liu X, Liu Y, Liu Y, Liu Z, Liu Z, Liuzzi JP, Lizard G, Ljujic M, Lodhi IJ, Logue SE, Lokeshwar BL, Long YC, Lonial S, Loos B, López-Otín C, López-Vicario C, Lorente M, Lorenzi PL, Lőrincz P, Los M, Lotze MT, Lovat PE, Lu B, Lu B, Lu J, Lu Q, Lu SM, Lu S, Lu Y, Luciano F, Luckhart S, Lucocq JM, Ludovico P, Lugea A, Lukacs NW, Lum JJ, Lund AH, Luo H, Luo J, Luo S, Luparello C, Lyons T, Ma J, Ma Y, Ma Y, Ma Z, Machado J, Machado-Santelli GM, Macian F, MacIntosh GC, MacKeigan JP, Macleod KF, MacMicking JD, MacMillan-Crow LA, Madeo F, Madesh M, Madrigal-Matute J, Maeda A, Maeda T, Maegawa G, Maellaro E, Maes H, Magariños M, Maiese K, Maiti TK, Maiuri L, Maiuri MC, Maki CG, Malli R, Malorni W, Maloyan A, Mami-Chouaib F, Man N, Mancias JD, Mandelkow EM, Mandell MA, Manfredi AA, Manié SN, Manzoni C, Mao K, Mao Z, Mao ZW, Marambaud P, Marconi AM, Marelja Z, Marfe G, Margeta M, Margittai E, Mari M, Mariani FV, Marin C, Marinelli S, Mariño G, Markovic I, Marquez R, Martelli AM, Martens S, Martin KR, Martin SJ, Martin S, Martin-Acebes MA, Martín-Sanz P, Martinand-Mari C, Martinet W, Martinez J, Martinez-Lopez N, Martinez-Outschoorn U, Martínez-Velázquez M, Martinez-Vicente M, Martins WK, Mashima H, Mastrianni JA, Matarese G, Matarrese P, Mateo R, Matoba S, Matsumoto N, Matsushita T, Matsuura A, Matsuzawa T, Mattson MP, Matus S, Maugeri N, Mauvezin C, Mayer A, Maysinger D, Mazzolini GD, McBrayer MK, McCall K, McCormick C, McInerney GM, McIver SC, McKenna S, McMahan JJ, McNeish IA, Mehta-Grigoriou F, Medema JP, Medina DL, Megyeri K, Mehrpour M, Mehta JL, Mei Y, Meier UC, Meijer AJ, Meléndez A, Melino G, Melino S, de Melo EJ, Mena MA, Meneghini MD, Menendez JA, Menezes R, Meng L, Meng LH, Meng S, Menghini R, Menko AS, Menna-Barreto RF, Menon MB, Meraz-Ríos MA, Merla G, Merlini L, Merlot AM, Meryk A, Meschini S, Meyer JN, Mi MT, Miao CY, Micale L, Michaeli S, Michiels C, Migliaccio AR, Mihailidou AS, Mijaljica D, Mikoshiba K, Milan E, Miller-Fleming L, Mills GB, Mills IG, Minakaki G, Minassian BA, Ming XF, Minibayeva F, Minina EA, Mintern JD, Minucci S, Miranda-Vizuete A, Mitchell CH, Miyamoto S, Miyazawa K, Mizushima N, Mnich K, Mograbi B, Mohseni S, Moita LF, Molinari M, Molinari M, Møller AB, Mollereau B, Mollinedo F, Mongillo M, Monick MM, Montagnaro S, Montell C, Moore DJ, Moore MN, Mora-Rodriguez R, Moreira PI, Morel E, Morelli MB, Moreno S, Morgan MJ, Moris A, Moriyasu Y, Morrison JL, Morrison LA, Morselli E, Moscat J, Moseley PL, Mostowy S, Motori E, Mottet D, Mottram JC, Moussa CE, Mpakou VE, Mukhtar H, Mulcahy Levy JM, Muller S, Muñoz-Moreno R, Muñoz-Pinedo C, Münz C, Murphy ME, Murray JT, Murthy A, Mysorekar IU, Nabi IR, Nabissi M, Nader GA, Nagahara Y, Nagai

Y, Nagata K, Nagelkerke A, Nagy P, Naidu SR, Nair S, Nakano H, Nakatogawa H, Nanjundan M, Napolitano G, Naqvi NI, Nardacci R, Narendra DP, Narita M, Nascimbeni AC, Natarajan R, Navegantes LC, Nawrocki ST, Nazarko TY, Nazarko VY, Neill T, Neri LM, Netea MG, Netea-Maier RT, Neves BM, Ney PA, Nezis IP, Nguyen HT, Nguyen HP, Nicot AS, Nilsen H, Nilsson P, Nishimura M, Nishino I, Niso-Santano M, Niu H, Nixon RA, Njar VC, Noda T, Noegel AA, Nolte EM, Norberg E, Norga KK, Noureini SK, Notomi S, Notterpek L, Nowikovskiy K, Nukina N, Nürnberger T, O'Donnell VB, O'Donovan T, O'Dwyer PJ, Oehme I, Oeste CL, Ogawa M, Ogretmen B, Ogura Y, Oh YJ, Ohmuraya M, Ohshima T, Ojha R, Okamoto K, Okazaki T, Oliver FJ, Ollinger K, Olsson S, Orban DP, Ordonez P, Orhon I, Orosz L, O'Rourke EJ, Orozco H, Ortega AL, Ortona E, Osellame LD, Oshima J, Oshima S, Osiewacz HD, Otomo T, Otsu K, Ou JJ, Outeiro TF, Ouyang DY, Ouyang H, Overholtzer M, Ozbun MA, Ozdinler PH, Ozpolat B, Pacelli C, Paganetti P, Page G, Pages G, Pagnini U, Pajak B, Pak SC, Pakos-Zebrucka K, Pakpour N, Palková Z, Palladino F, Pallauf K, Pallet N, Palmieri M, Paludan SR, Palumbo C, Palumbo S, Pampliega O, Pan H, Pan W, Panaretakis T, Pandey A, Pantazopoulou A, Papackova Z, Papademetrio DL, Papassideri I, Papini A, Parajuli N, Pardo J, Parekh VV, Parenti G, Park JI, Park J, Park OK, Parker R, Parlato R, Parys JB, Parzych KR, Pasquet JM, Pasquier B, Pasumarthi KB, Patschan D, Patterson C, Pattingre S, Pattison S, Pause A, Pavenstädt H, Pavone F, Pedrozo Z, Peña FJ, Peñalva MA, Pende M, Peng J, Penna F, Penninger JM, Pensalfini A, Pepe S, Pereira GJ, Pereira PC, Pérez-de la Cruz V, Pérez-Pérez ME, Pérez-Rodríguez D, Pérez-Sala D, Perier C, Perl A, Perlmutter DH, Perrotta I, Pervaiz S, Pesonen M, Pessin JE, Peters GJ, Petersen M, Petrache I, Petrof BJ, Petrovski G, Phang JM, Piacentini M, Pierdominici M, Pierre P, Pierrefite-Carle V, Pietrocola F, Pimentel-Muñoz FX, Pinar M, Pineda B, Pinkas-Kramarski R, Pinti M, Pinton P, Piperdi B, Piret JM, Plataniás LC, Platta HW, Plowey ED, Pöggeler S, Poirot M, Polčić P, Poletti A, Poon AH, Popelka H, Popova B, Poprawa I, Poulouse SM, Poulton J, Powers SK, Powers T, Pozuelo-Rubio M, Prak K, Prange R, Prescott M, Priault M, Prince S, Proia RL, Proikas-Cezanne T, Prokisch H, Promponas VJ, Przyklenk K, Puertollano R, Pugazhenthii S, Puglielli L, Pujol A, Puyal J, Pyeon D, Qi X, Qian WB, Qin ZH, Qiu Y, Qu Z, Quadrilatero J, Quinn F, Raben N, Rabinowich H, Radogna F, Ragusa MJ, Rahmani M, Raina K, Ramanadham S, Ramesh R, Rami A, Randall-Demillo S, Randow F, Rao H, Rao VA, Rasmussen BB, Rasse TM, Ratovitski EA, Rautou PE, Ray SK, Razani B, Reed BH, Reggiori F, Rehm M, Reichert AS, Rein T, Reiner DJ, Reits E, Ren J, Ren X, Renna M, Reusch JE, Revuelta JL, Reyes L, Rezaie AR, Richards RI, Richardson DR, Richetta C, Riehle MA, Rihn BH, Rikihisa Y, Riley BE, Rimbach G, Rippo MR, Ritis K, Rizzi F, Rizzo E, Roach PJ, Robbins J, Roberge M, Roca G, Roccheri MC, Rocha S, Rodrigues CM, Rodríguez CI, de Cordoba SR, Rodriguez-Muela N, Roelofs J, Rogov VV, Rohn TT, Rohrer B, Romanelli D, Romani L, Romano PS, Roncero MI, Rosa JL, Rosello A, Rosen KV, Rosenstiel P, Rost-Roszkowska M, Roth KA, Roué G, Rouis M, Rouschop KM, Ruan DT, Ruano D, Rubinsztein DC, Rucker EB 3rd, Rudich A, Rudolf E, Rudolf R, Ruegg MA, Ruiz-Roldan C, Ruparelia AA, Rusmini P, Russ DW, Russo GL, Russo G, Russo R, Rusten TE, Ryabovol V, Ryan KM, Ryter SW, Sabatini DM, Sacher M, Sachse C, Sack MN, Sadoshima J, Saftig P, Sagi-Eisenberg R, Sahni S, Saikumar P, Saito T, Saitoh T, Sakakura K, Sakoh-Nakatogawa M, Sakuraba Y, Salazar-Roa M, Salomoni P, Saluja AK, Salvaterra PM, Salvioli R, Samali A, Sanchez AM, Sánchez-Acázar JA, Sanchez-Prieto R, Sandri M, Sanjuan MA, Santaguida S, Santambrogio L, Santoni G, Dos Santos CN, Saran S, Sardiello M, Sargent G, Sarkar P, Sarkar S, Sarrias MR, Sarwal MM, Sasakawa C, Sasaki M, Sass M, Sato K, Sato M, Satriano J, Savaraj N, Saveljeva S, Schaefer L, Schaible UE, Scharl M, Schatzl HM, Schekman R, Scheper W, Schiavi A, Schipper HM, Schmeisser H, Schmidt J, Schmitz I, Schneider BE, Schneider EM, Schneider JL, Schon EA, Schönenberger MJ, Schönthal AH, Schorderet DF, Schröder B, Schuck S, Schulze RJ, Schwarten M, Schwarz TL, Sciarretta S, Scotto K, Scovassi AI, Screatton RA, Screen M, Seca H, Sedej S, Segatori L, Segev N, Seglen PO, Seguí-Simarro JM, Segura-Aguilar J, Seki E, Sell C, Selliez I, Semenkovich CF, Semenza GL, Sen U, Serra AL, Serrano-Puebla A, Sesaki H, Setoguchi T, Settembre C, Shacka JJ, Shajahan-Haq AN, Shapiro IM, Sharma S, She H, Shen CJ, Shen CC, Shen HM, Shen S, Shen W, Sheng R, Sheng X, Sheng ZH, Shepherd TG, Shi J, Shi Q, Shi Q, Shi Y, Shibusaki S, Shibuya K, Shidoji Y, Shieh JJ, Shih CM, Shimada Y, Shimizu S, Shin DW, Shinohara ML, Shintani M, Shintani T, Shioi T, Shirabe K, Shiri-Sverdlov R, Shirihi O, Shore GC, Shu CW, Shukla D, Sibirny AA, Sica V, Sigurdson

DN, Zacksenhaus E, Zaffaroni N, Zaglia T, Zakeri Z, Zecchini V, Zeng J, Zeng M, Zeng Q, Zervos AS, Zhang DD, Zhang F, Zhang G, Zhang GC, Zhang H, Zhang H, Zhang H, Zhang H, Zhang J, Zhang J, Zhang J, Zhang J, Zhang JP, Zhang L, Zhang L, Zhang L, Zhang L, Zhang MY, Zhang X, Zhang XD, Zhang Y, Zhang Y, Zhang Y, Zhang Y, Zhang Y, Zhao M, Zhao WL, Zhao X, Zhao YG, Zhao Y, Zhao Y, Zhao YX, Zhao Z, Zhao ZJ, Zheng D, Zheng XL, Zheng X, Zhivotovsky B, Zhong Q, Zhou GZ, Zhou G, Zhou H, Zhou SF, Zhou XJ, Zhu H, Zhu H, Zhu WG, Zhu W, Zhu XF, Zhu Y, Zhuang SM, Zhuang X, Ziparo E, Zois CE, Zoladek T, Zong WX, Zorzano A, Zughaier SM.

Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy*. 2016 Jan 2;12(1):1-222.

Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, Abedin MJ, Abeliovich H, Acevedo Arozena A, Adachi H, Adams CM, Adams PD, Adeli K, Adihetty PJ, Adler SG, Agam G, Agarwal R, Aghi MK, Agnello M, Agostinis P, Aguilar PV, Aguirre-Ghiso J, Airoldi EM, Ait-Si-Ali S, Akematsu T, Akporiaye ET, Al-Rubeai M, Albaceta GM, Albanese C, Albani D, Albert ML, Aldudo J, Algül H, Alirezaei M, Alloza I, Almasan A, Almonte-Beceril M, Alnemri ES, Alonso C, Altan-Bonnet N, Altieri DC, Alvarez S, Alvarez-Erviti L, Alves S, Amadoro G, Amano A, Amantini C, Ambrosio S, Amelio Kotecha D, Manzano L, Krum H, Rosano G, Holmes J, Altman DG, Collins PD, Packer M, Wikstrand J, Coats AJ, Cleland JG, Kirchhof P, von Lueder TG, Rigby AS, Andersson B, Lip GY, van Veldhuisen DJ, Shibata MC, Wedel H, Böhm M, Flather MD.

Beta-Blockers in Heart Failure Collaborative Group. Effect of age and sex on efficacy and tolerability of β blockers in patients with heart failure with reduced ejection fraction: individual patient data meta-analysis.

BMJ. 2016 Apr 20;353:i1855.

To determine the efficacy and tolerability of β blockers in a broad age range of women and men with heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF) by pooling individual patient data from placebo controlled randomised trials.

Prospectively designed meta-analysis of individual patient data from patients aged 40-85 in sinus rhythm at baseline, with left ventricular ejection fraction <0.45 .

13,833 patients from 11 trials; median age 64; 24% women.

The primary outcome was all cause mortality; the major secondary outcome was admission to hospital for heart failure. Analysis was by intention to treat with an adjusted one stage Cox proportional hazards model.

Compared with placebo, β blockers were effective in reducing mortality across all ages: hazard ratios were 0.66 (95% confidence interval 0.53 to 0.83) for the first quarter of age distribution (median age 50); 0.71 (0.58 to 0.87) for the second quarter (median age 60); 0.65 (0.53 to 0.78) for the third quarter (median age 68); and 0.77 (0.64 to 0.92) for the fourth quarter (median age 75). There was no significant interaction when age was modelled continuously ($P=0.1$), and the absolute reduction in mortality was 4.3% over a median follow-up of 1.3 years (number needed to treat 23). Admission to hospital for heart failure was significantly reduced by β blockers, although this effect was attenuated at older ages (interaction $P=0.05$). There was no evidence of an interaction between treatment effect and sex in any age group. Drug discontinuation was similar regardless of treatment allocation, age, or sex (14.4% in those given β blockers, 15.6% in those receiving placebo). Irrespective of age or sex, patients with HFrEF in sinus rhythm should receive β blockers to reduce the risk of death and admission to hospital.

Kristensen SL, Preiss D, Jhund PS, Squire I, Cardoso JS, Merkely B, Martinez F, Starling RC, Desai AS, Lefkowitz MP, Rizkala AR, Rouleau JL, Shi VC, Solomon SD, Swedberg K, Zile MR, McMurray JJ, Packer M; PARADIGM-HF Investigators and Committees.

Risk Related to Pre-Diabetes Mellitus and Diabetes Mellitus in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: Insights From Prospective Comparison of ARNI With ACEI to Determine Impact on Global Mortality and Morbidity in Heart Failure Trial.

Circ Heart Fail. 2016 Jan;9(1). pii: e002560.

The prevalence of pre-diabetes mellitus and its consequences in patients with heart failure and reduced ejection fraction are not known. We investigated these in the Prospective Comparison of ARNI With ACEI to Determine Impact on Global Mortality and Morbidity in Heart Failure (PARADIGM-HF) trial.

We examined clinical outcomes in 8399 patients with heart failure and reduced ejection fraction according to history of diabetes mellitus and glycemic status (baseline hemoglobin A1c [HbA1c]: < 6.0% [< 42 mmol/mol], 6.0%-6.4% [42-47 mmol/mol; pre-diabetes mellitus], and $\geq 6.5\%$ [≥ 48 mmol/mol; diabetes mellitus]), in Cox regression models adjusted for known predictors of poor outcome. Patients with a history of diabetes mellitus ($n = 2907$ [35%]) had a higher risk of the primary composite outcome of heart failure hospitalization or cardiovascular mortality compared with those without a history of diabetes mellitus: adjusted hazard ratio, 1.38; 95% confidence interval, 1.25 to 1.52; $P < 0.001$. HbA1c measurement showed that an additional 1106 (13% of total) patients had undiagnosed diabetes mellitus and 2103 (25%) had pre-diabetes mellitus. The hazard ratio for patients with undiagnosed diabetes mellitus (HbA1c, $> 6.5\%$) and known diabetes mellitus compared with those with HbA1c $< 6.0\%$ was 1.39 (1.17-1.64); $P < 0.001$ and 1.64 (1.43-1.87); $P < 0.001$, respectively. Patients with pre-diabetes mellitus were also at higher risk (hazard ratio, 1.27 [1.10-1.47]; $P < 0.001$) compared with those with HbA1c $< 6.0\%$. The benefit of LCZ696 (sacubitril/valsartan) compared with enalapril was consistent across the range of HbA1c in the trial. In patients with heart failure and reduced ejection fraction, dysglycemia is common and pre-diabetes mellitus is associated with a higher risk of adverse cardiovascular outcomes (compared with patients with no diabetes mellitus and HbA1c $< 6.0\%$). LCZ696 was beneficial compared with enalapril, irrespective of glycemic status.

Lainscak M, Vitale C.

Biological and chronological age in heart failure: role of immunosenescence.

J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2016 Dec;17(12):857-859.

Lainscak M, Vitale C, Seferovic P, Spoletini I, Cvan Trobec K, Rosano GM.

Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cardiovascular drugs in chronic heart failure.

Int J Cardiol. 2016 Dec 1;224:191-198.

Pharmacotherapy in chronic heart failure (HF) is challenging, due to the diverse neuroendocrine, inflammatory, metabolic and immunological mechanisms involved in its pathogenesis, the presence of co-morbidities and use of multiple therapies. Further, physiological parameters influencing drug pharmacokinetics (PKs) and pharmacodynamics (PDs) may be altered in patients with HF. There is growing evidence that the disease-induced physiological changes may influence the PKs and PDs of all drugs used in patients with HF. Therapeutic approaches should consider all factors that might influence the response to treatment and dosage should be tailored to individual patients. Hence, further studies are required to understand the PK and PD differences between chronic HF patients and healthy subjects. Because PK is difficult to be assessed in the individual patient with HF, PD effects should be used to tailor therapy in patients with HF.

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.

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 β 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 β 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 β 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 β results in altered interaction of HSP90 with Akt and eNOS, therefore promoting vascular dysfunction. This mechanism, by contributing to A β -mediated blockade of nitric oxide production, may significantly contribute to the cognitive impairment seen in AD patients.

Lauro F, Giancotti LA, Ilari S, Dagostino C, Gliozzi M, Morabito C, Malafoglia V, Raffaeli W, Muraca M, Goffredo BM, Mollace V, Muscoli C.

Inhibition of Spinal Oxidative Stress by Bergamot Polyphenolic Fraction Attenuates the Development of Morphine Induced Tolerance and Hyperalgesia in Mice.

PLoS One. 2016 May 26;11(5):e0156039. eCollection 2016.

Citrus *Bergamia* Risso, commonly known as Bergamot, is a fruit whose Essential Oil and Bergamot Polyphenolic Fraction have numerous medicinal properties. It is also an excellent antioxidant and in this study, for the first time, its potential effect on morphine induced tolerance in mice has been investigated. Our studies revealed that development of antinociceptive tolerance to repeated doses of morphine in mice is consistently associated with increased formation of superoxide, malondialdehyde and tyrosine-nitrated proteins in the dorsal horn of the spinal cord such as the enzyme glutamine synthase. Nitration of this protein is intimately linked to inactivation of its biological function and resulting increase of glutamate levels in the spinal cord. Administration of Bergamot Polyphenolic Fraction (5-50 mg/kg) attenuated tolerance development. This effect was accompanied by reduction of superoxide and malondialdehyde production, prevention of GS nitration, re-establishment of its activity and of glutamate levels. Our studies confirmed the main role of free radicals during the cascade of events induced by prolonged morphine treatment and the co-administration of natural derivatives antioxidant such as Bergamot Polyphenolic Fraction can be an important therapeutic approach to restore opioids analgesic efficacy.

Lauro F, Ilari S, Giancotti LA, Ventura CA, Morabito C, Gliozzi M, Malafoglia V, Palma E, Paolino D, Mollace V, Muscoli C.

Pharmacological effect of a new idebenone formulation in a model of carrageenan-induced inflammatory pain.

Pharmacol Res. 2016 Sep;111:767-773.

Considerable evidence demonstrated that the central role of reactive oxygen species and reactive nitrogen species (ROS and RNS) in the development of thermal hyperalgesia is associated to acute and chronic inflammation. Idebenone (IDE), a synthetic analogue of the endogenous cellular antioxidant coenzyme Q10 (CoQ10), is an active drug in the central nervous system which shows a protection in a variety of neurological disorders. Since it is lipophilic, poorly water soluble and highly bound to plasma proteins, different technological approaches have been explored to increase its solubility and new pharmaceutical properties. Therefore, it has been complexed with HP- β -cyclodextrins (HP) and its efficacy has been assessed in an animal model of carrageenan-induced thermal hyperalgesia. All male rats used for this study received a subplantar injection of carrageenan into the right hindpaw in the presence or absence of IDE alone and IDE/HP complex. We observed that IDE poorly reduced painful carrageenan effects whereas IDE/HP complex was able to prevent carrageenan-induced hyperalgesia and edema in a dose-dependent manner, reducing spinal MDA levels and protein nitration. Hence, our results demonstrated that when complexed with HP, idebenone exerts

exerts a potent analgesic and anti-inflammatory efficacy.

Lopatin YM, Rosano GM, Fragasso G, Lopaschuk GD, Seferovic PM, Gowdak LH, Vinereanu D, Hamid MA, Jourdain P, Ponikowski P.

Rationale and benefits of trimetazidine by acting on cardiac metabolism in heart failure.

Int J Cardiol. 2016 Jan 15;203:909-915.

Heart failure is a systemic and multiorgan syndrome with metabolic failure as a fundamental mechanism. As a consequence of its impaired metabolism, other processes are activated in the failing heart, further exacerbating the progression of heart failure. Recent evidence suggests that modulating cardiac energy metabolism by reducing fatty acid oxidation and/or increasing glucose oxidation represents a promising approach to the treatment of patients with heart failure. Clinical trials have demonstrated that the adjunct of trimetazidine to the conventional medical therapy improves symptoms, cardiac function and prognosis in patients with heart failure without exerting negative hemodynamic effects. This review focuses on the rationale and clinical benefits of trimetazidine by acting on cardiac metabolism in heart failure, and aims to draw attention to the readiness of this agent to be included in all the major guidelines dealing with heart failure.

Lopatin YM, Vitale C.

Effect of ivabradine on central aortic blood pressure in patients with stable coronary artery disease: What do we know?

Int J Cardiol. 2016 Dec 1;224:145-148.

Treatment of hypertensive patients with beta-blockers decreases central blood pressure (CBP) less than other antihypertensive drugs, which is believed to account for their lesser cardiovascular protection in this setting. Some authors have suggested that decreasing heart rate (HR) with beta-blockers would increase CBP. In contrast to beta-blockers, the anti-anginal agent ivabradine reduces HR without other hemodynamic effects, and represents an attractive tool for exploring the direct relationship between HR and CBP. Here, we review the available clinical data assessing the effect of selective HR reduction with ivabradine on CBP in patients with stable coronary artery disease (CAD). We collected data from five studies which report either increase, decrease, or neutral effects of ivabradine on CBP. Further studies are needed to clarify the exact role of ivabradine on CBP. However, as supported by its pharmacodynamic effect in patients with stable CAD, available evidence to date suggests that ivabradine does not negatively impact CBP when associated with beta-blocker. HR reduction with both beta-blockers and ivabradine remains well-established treatments for the symptomatic treatment of angina patients.

Malafoglia V, Traversetti L, Del Grosso F, Scalici M, Lauro F, Russo V, Persichini T, Salvemini D, Molace V, Fini M, Raffaelli W, Muscoli C, Colasanti M.

Transient Receptor Potential Melastatin-3 (TRPM3) Mediates Nociceptive-Like Responses in *Hydra vulgaris*.

PLoS One. 2016 Mar 14;11(3):e0151386. eCollection 2016.

The ability of mammals to feel noxious stimuli lies in a heterogeneous group of primary somatosensory neurons termed nociceptors, which express specific membrane receptors, such as the Transient Receptor Potential (TRP) family. Here, we show that one of the most important nociceptive-like pathways is conserved in the freshwater coelenterate *Hydra vulgaris*, the most primitive organism possessing a nervous system. In particular, we found that *H. vulgaris* expresses TRPM3, a nociceptor calcium channel involved in the detection of noxious heat in mammals. Furthermore, we detected that both heat shock and TRPM3 specific agonist (i.e., pregnenolone sulfate) induce the modulation of the heat shock protein 70 (HSP70) and the nitric oxide synthase (NOS), two genes activated by TRP-mediated heat painful stimuli in mammals. As expected, these effects are inhibited by a TRPM3

antagonist (i.e., mefenamic acid). Interestingly, the TRPM3 agonist and heat shock also induce the expression of nuclear transcription erythroid 2-related factor (Nrf2) and superoxide dismutase (SOD), known markers of oxidative stress; noteworthy gene expression was also inhibited by the TRPM3 antagonist. As a whole, our results demonstrate the presence of conserved molecular oxidative/nociceptive-like pathways at the primordial level of the animal kingdom.

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] doi:10.1016/j.ijcha.2015.01.004

Consistent expansion of primary human endothelial cells in vitro is critical in the development of engineered tissue. A variety of complex culture media and techniques developed from different basal media have been reported with alternate success. Incongruous results are further confounded by donor-to-donor variability and cellular source of derivation. Our results demonstrate how to overcome these limitations using soluble CD54 (sCD54) as additive to conventional culture medium.

Isolated primary fragment of different vessel types was expanded in Ham's F12 DMEM, enriched with growth factors, Fetal Calf Serum and conditioned medium of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) collected at different passages. Cytokine content of culture media was analyzed in order to identify the soluble factors correlating with better proliferation profile. sCD54 was found to induce the in vitro expansion of human endothelial cells (HECs) independently from the vessels source and even in the absence of HUVEC-conditioned medium. The HECs cultivated in the presence of sCD54 (50 ng/ml), resulted positive for the expression of CD146 and negative for CD45, and lower fibroblast contamination. Cells were capable to proliferate with an S phase of 25%, to produce vascular endothelial growth factor, VEGF, (10 ng/ml) and to give origin to vessel-like tubule in vitro.

Our results demonstrate that sCD54 is an essential factor for the in-vitro expansion of HECs without donor and vessel-source variability. Resulting primary cultures can be useful, for tissue engineering in regenerative medicine (e.g. artificial micro tissue generation, coating artificial heart valve etc.) and bio-nanotechnology applications.

Mammi C, Marzolla V, Armani A, Feraco A, Antelmi A, Maslak E, Chlopicki S, Cinti F, Hunt H, Fabbri A, Caprio M.

A novel combined glucocorticoid-mineralocorticoid receptor selective modulator markedly prevents weight gain and fat mass expansion in mice fed a high-fat diet.

Int J Obes (Lond). 2016 Jun;40(6):964-972.

We have previously shown that antagonism of the mineralocorticoid receptor (MR) results in a potent antiadipogenic activity, in vitro and in vivo. Excessive glucocorticoid exposure is associated with obesity and related disorders in humans and mice.

In this study, responses to a novel combined glucocorticoid receptor (GR)/MR antagonist were investigated in a model of diet-induced obesity. Female 10-week-old C57BL/6J mice were fed with normal chow or a high-fat diet (HFD) for 9 weeks. Mice fed a HFD were concomitantly treated for 9 weeks with the GR antagonist mifepristone (80 mg kg⁻¹ per day) or the novel combined GR/MR antagonist CORT118335 (80 mg kg⁻¹ per day). Male, juvenile 6-week-old C57BL/6J mice fed HFD were treated with CORT118335 for 4 weeks.

Mice fed a HFD showed a significant increase in total body weight and white fat mass, with impaired glucose tolerance and increased fat infiltration in livers. Interestingly, only CORT118335 completely prevented the HFD-induced weight gain and white fat deposition, whereas mifepristone showed no effect on body weight and modestly increased subcutaneous fat mass. Importantly, food intake was not affected by either treatment, and CORT118335 dramatically increased PGC-1 α protein expression in adipose tissue, without any effect on UCP1. Both CORT118335 and mifepristone produced

metabolic benefit, improving glucose tolerance, increasing adiponectin plasma levels, decreasing leptin and reducing mean adipocyte size. When tested in vitro, CORT118335 markedly reduced 3T3-L1 differentiation and reversed MR-mediated pro-adipogenic effects of aldosterone; differently, GR-mediated effects of dexamethasone were not antagonized by CORT118335, suggesting that it mostly acts as an antagonist of MR in cultured preadipocytes.

Combined GR/MR pharmacological antagonism markedly reduced HFD-driven weight gain and fat mass expansion in mice through the increase in adipose PGC-1 α , suggesting that both receptors represent strategic therapeutic targets to fight obesity. The effects of CORT118335 in adipocytes seem predominantly mediated by MR antagonism.

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. 2016 Mar;18(3):314-325.

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.

Marazzi G, Pelliccia F, Campolongo G, Cacciotti L, Massaro R, Poggi S, Tanzilli A, Di Iorio M, Volterrani M, Lainscak M, Rosano GM.

Greater cardiovascular risk reduction with once-daily fixed combination of three antihypertensive agents and statin versus free-drug combination: The ALL-IN-ONE trial.

Int J Cardiol. 2016 Nov 1;222:885-887.

The ultimate goal of antihypertensive therapy is cardiovascular risk (CVR) reduction. The aim of this study was to compare the efficacy and safety of once-daily fixed combination (ODFC) versus free-drug combination (FDC) of 3antihypertensive agents and statin.

The ALL-IN-ONE trial was a 12-week randomized, prospective, multicenter trial. A total of 305 hypertensive patients were randomized 1:1. The "fixed group" was given an ODFC of perindopril 10mg plus indapamide 2.5mg plus amlodipine 5 or 10mg plus atorvastatin 20mg. The "free group" was given a FDC of the 3antihypertensive agents plus atorvastatin 20mg. Primary end-points were the differences in clinic BP, cholesterol levels and CVR risk between the 2 groups after treatments. Secondary end-points included intragroup differences in clinic BP. Safety and compliance were also assessed.

At 12-weeks, the fixed group had lower systolic BP and similar diastolic BP compared to the free

group. BP targets at week 12 were more commonly reached with fixed than free combination (89% and 80% respectively, $p=0.048$). For cholesterol serum in both groups there was a significant reduction of values. Also CVR reduction was greater in those taking ODF. Safety was not significantly different between the 2 groups. Conversely, compliance was significantly greater in the fixed-group vs. the free-group.

This randomized trial shows that ODF combination of perindopril, indapamide and amlodipine is as safe as free combination of the 3 drugs, but is associated with a greater efficacy in BP control, compliance and, associated with statin, in cholesterol reduction. A better cardiovascular risk control is achieved with ODF combination than with a free administration.

Mascolo A, Sessa M, Scavone C, De Angelis A, Vitale C, Berrino L, Rossi F, Rosano G, Capuano A. New and old roles of the peripheral and brain renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS): Focus on cardiovascular and neurological diseases.

Int J Cardiol. 2016 Oct 27. pii: S0167-5273(16)33231-4. [Epub ahead of print]

It is commonly accepted that the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) is a cardiovascular circulating hormonal system that plays also an important role in the modulation of several patterns in the brain. The pathway of the RAAS can be divided into two classes: the traditional pathway of RAAS, also named classic RAAS, and the non-classic RAAS. Both pathways play a role in both cardiovascular and neurological diseases through a peripheral or central control. In this regard, renewed interest is growing in the last years for the consideration that the brain RAAS could represent a new important therapeutic target to regulate not only the blood pressure via central nervous control, but also neurological diseases. However, the development of compounds able to cross the blood-brain barrier and to act on the brain RAAS is challenging, especially if the metabolic stability and the half-life are taken into consideration. To date, two drug classes (aminopeptidase type A inhibitors and angiotensin IV analogues) acting on the brain RAAS are in development in pre-clinical or clinical stages. In this article, we will present an overview of the biological functions played by peripheral and brain classic and non-classic pathways of the RAAS in several clinical conditions, focusing on the brain RAAS and on the new pharmacological targets of the RAAS.

Matarrese P, Abbruzzese C, Mileo AM, Vona R, Ascione B, Visca P, Rollo F, Benevolo M, Malorni W, Paggi MG.

Interaction between the human papillomavirus 16 E7 oncoprotein and gelsolin ignites cancer cell motility and invasiveness.

Oncotarget. 2016 Apr 7;32: 50972-50985.

The viral oncoprotein E7 from the "high-risk" Human Papillomavirus 16 (HPV16) strain is able, when expressed in human keratinocytes, to physically interact with the actin severing protein gelsolin (GSN). In a previous work it has been suggested that this protein-protein interaction can hinder GSN severing function, thus leading to actin network remodeling. In the present work we investigated the possible implications of this molecular interaction in cancer cell metastatic potential by analyzing two different human CC cell lines characterized by low or high expression levels of HPV16 DNA (SiHa and CaSki, respectively). In addition, a HPV-null CC cell line (C-33A), transfected in order to express the HPV16 E7 oncoprotein as well as two different deletion mutants, was also analyzed. We found that HPV16 E7 expression level was directly related with cervical cancer migration and invasion capabilities and that these HPV16 E7-related features were associated with Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT) processes. These effects appeared as strictly attributable to the physical interaction of HPV16 E7 with GSN, since HPV16 E7 deletion mutants unable to bind to GSN were also unable to modify microfilament assembly dynamics and, therefore, cell movements and invasiveness. Altogether, these data profile the importance of the physical interaction between HPV16 E7 and GSN in the acquisition of the metastatic phenotype by CC cells, underscoring the role of HPV16 intracellular load as a risk factor in cancer.

Molinari F, Malara N, Mollace V, Rosano G, Ferraro E.
Animal models of cardiac cachexia.
Int J Cardiol. 2016 May 31;219:105-110. [Epub ahead of print]

Cachexia is the loss of body weight associated with several chronic diseases including chronic heart failure (CHF). The cachectic condition is mainly due to loss of skeletal muscle mass and adipose tissue depletion. The majority of experimental in vivo studies on cachexia rely on animal models of cancer cachexia while a reliable and appropriate model for cardiac cachexia has not yet been established. A critical issue in generating a cardiac cachexia model is that genetic modifications or pharmacological treatments impairing the heart functionality and used to obtain the heart failure model might likely impair the skeletal muscle, this also being a striated muscle and sharing with the myocardium several molecular and physiological mechanisms. On the other hand, often, the induction of heart damage in the several existing models of heart failure does not necessarily lead to skeletal muscle loss and cachexia. Here we describe the main features of cardiac cachexia and illustrate some animal models proposed for cardiac cachexia studies; they include the genetic calsequestrin and Dahl salt-sensitive models, the monocrotaline model and the surgical models obtained by left anterior descending (LAD) ligation, transverse aortic constriction (TAC) and ascending aortic banding. The availability of a specific animal model for cardiac cachexia is a crucial issue since, besides the common aspects of cachexia in the different syndromes, each disease has some peculiarities in its etiology and pathophysiology leading to cachexia. Such peculiarities need to be unraveled in order to find new targets for effective therapies.

Musolino V, Palus S, Tschirner A, Drescher C, Gliozzi M, Carresi C, Vitale C, Muscoli C, Doehner W, von Haehling S, Anker SD, Mollace V, Springer J.
Megestrol acetate improves cardiac function in a model of cancer cachexia-induced cardiomyopathy by autophagic modulation.
J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2016 Dec;7(5):555-566.

Cachexia is a complex metabolic syndrome associated with cancer. One of the features of cachexia is the loss of muscle mass, characterized by an imbalance between protein synthesis and protein degradation. Muscle atrophy is caused by the hyperactivation of some of the main cellular catabolic pathways, including autophagy. Cachexia also affects the cardiac muscle. As a consequence of the atrophy of the heart, cardiac function is impaired and mortality is increased. Anti-cachectic therapy in patients with cancer cachexia is so far limited to nutritional support and anabolic steroids. The use of the appetite stimulant megestrol acetate (MA) has been discussed as a treatment for cachexia. In this study the effects of MA were tested in cachectic tumour-bearing rats (Yoshida AH-130 ascites hepatoma). Rats were treated daily with 100 mg/kg of MA or placebo starting one day after tumour inoculation, and for a period of 16 days. Body weight and body composition were assessed at baseline and at the end of the study. Cardiac function was analysed by echocardiography at baseline and at day 11. Locomotor activity and food intake were assessed before tumour inoculation and at day 11. Autophagic markers were assessed in gastrocnemius muscle and heart by western blot analysis. Treatment with 100 mg/kg/day MA significantly attenuated the loss of body weight ($-9 \pm 12\%$, $P < 0.05$) and the wasting of lean and fat mass ($-7.0 \pm 6\%$ and $-22.4 \pm 3\%$, $P < 0.001$ and $P < 0.05$, respectively). Administration of 100 mg/kg/day MA significantly protected the heart from general atrophy (633.8 ± 30 mg vs. placebo 474 ± 13 mg, $P < 0.001$). Tumour-bearing rats displayed cardiac dysfunction, as indicated by the significant impairment of the left ventricular ejection fraction, the left ventricular fractional shortening, the stroke volume, the end diastolic volume, and the end systolic volume. In contrast, MA significantly improved left ventricular ejection fraction, left ventricular fractional shortening, and left ventricular end systolic volume. Western blotting analysis showed an upregulation of the autophagic pathway in the gastrocnemius and hearts of the placebo-treated tumour-bearing rats. Treatment with MA, however, was able to modulate the autophagic markers (e.g. Beclin-1, p62, TRAF6, and LC3) in the gastrocnemius and in the hearts of tumour-bearing rats.

Most importantly, 100 mg/kg/day MA reduced mortality [hazard ratio (HR): 0.44; 95%CI: 0.20-1.00; P=0.0486].

Megestrol acetate improved survival and reduced wasting through a marked downregulation of autophagy, occurring in both skeletal and heart muscle, the latter effect leading to a significant improvement of cardiac function. Our data suggest that MA might represent a valuable strategy to counteract the development of cancer cachexia-induced cardiomyopathy.

Pelliccia F, Rollini F, Marazzi G, Greco C, Gaudio C, Angiolillo DJ, Rosano G.

New oral anticoagulants and dual antiplatelet therapy: Focus on apixaban.

Int J Cardiol. 2016 Oct 3;225:154-158.

The combination of AF and coronary artery disease not only is a common clinical setting, it is also a complex setting to deal with anticoagulation and antiplatelet therapy, and it is associated with significantly higher mortality rates. Unfortunately, there are no sufficient data available to optimally guide clinical practice in such settings. This review focuses specifically on newer oral anticoagulants (NOACs) associated with dual antiplatelet therapy (DAPT) in patients with coronary artery disease undergoing percutaneous coronary intervention (PCI). There are no randomized studies comparing vitamin K antagonists and NOACs in patients with AF undergoing PCI either for acute coronary syndromes or for stable patients, i.e. those patients who have an indication to receive DAPT. Moreover, new antiplatelet agents such as ticagrelor and prasugrel have entered the market for acute coronary syndromes. So far, there are no large-scale randomized studies published evaluating these newer antiplatelet agents in patients with AF receiving either vitamin K antagonists or NOACs, adding to the uncertainty on how to use these antithrombotics in combination when both coronary artery disease (unstable or stable patients) and AF converge in a given patient. The lack of large outcome trials and the large number of possible combinations are reflected in the wide variety of practices in the real world. To date, given the lack of data, watchfulness when using NOACs as component of DAPT or triple oral antithrombotic therapy is warranted.

Pelliccia F, Rosanio S, Marazzi G, Poggi S, Tanzilli A, Greco C, Gaudio C, Rosano G.

Efficacy and safety of novel anticoagulants versus vitamin K antagonists in patients with mild and moderate to severe renal insufficiency: Focus on apixaban.

Int J Cardiol. 2016 Oct 1;225:77-81.

The high risk of both stroke and major bleeding in atrial fibrillation (AF) patients with chronic kidney disease (CKD) defines an important population for whom the assessment of the balance between the risk of ischemic stroke and of bleeding is essential. The use of novel oral anticoagulants (NOACs) may be a viable option in this population due to their greater net clinical benefit than warfarin, as demonstrated by the results of the clinical phase III trials. NOACs have been found to have a greater net clinical benefit than warfarin in patients at high risk of either stroke (CHADS₂≥1 or CHA₂DS₂-VASc score≥2) or bleeding (HAS-BLED≥3). Noteworthy, it has been found also a positive net clinical benefit with apixaban and dabigatran 110mg BID in patients with CHADS₂ score=0 and HAS-BLED score≥3. At CHA₂DS₂-VASc score=1, apixaban and both doses of dabigatran were superior to warfarin in terms of the net clinical benefit. Available scientific evidence might help in clinical decision-making regarding the use of NOACs in patients with CKD who are at high risk for both stroke and bleeding. Overall, current findings provide a rationale for the choice of apixaban or rivaroxaban over dabigatran in patients with AF and stage III CKD. Out of the NOACs, only apixaban has been recently approved for the use in patients with end-stage renal dysfunction on hemodialysis (the recommended dose of 5mg twice daily should be halved in patients with body weight of ≤60kg and or age≥80years).

Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JG, Coats AJ, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GM, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P; Authors/Task Force Members.

2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC.

Eur Heart J. 2016 Jul 14;37(27):2129-2200.

Rizzo M, Rizvi AA, Patti AM, Nikolic D, Giglio RV, Castellino G, Li Volti G, Caprio M, Montalto G, Provenzano V, Genovese S, Ceriello A.

Liraglutide improves metabolic parameters and carotid intima-media thickness in diabetic patients with the metabolic syndrome: an 18-month prospective study.

Cardiovasc Diabetol. 2016 Dec 3;15(1):162.

Liraglutide, a GLP-1 analogue, exerts several beneficial non-glycemic effects in patients with type-2 diabetes (T2DM), such as those on body weight, blood pressure, plasma lipids and inflammation markers. However, the effects of liraglutide on cardiovascular (CV) risk markers in subjects with the metabolic syndrome (MetS) are still largely unknown. We herein explored its effects on various cardio-metabolic risk markers of the MetS in subjects with T2DM.

We performed an 18-month prospective, real-world study. All subjects had T2DM and the MetS based on the AHA/NHLBI criteria. Subjects with a history of a major CV event were excluded. One hundred-twenty-one subjects (71 men and 50 women; mean age: 62 ± 9 years) with T2DM and the MetS, who were naïve to incretin-based therapies and treated with metformin only, were included. Liraglutide (1.2 mg/day) was added to metformin (1500-3000 mg/day) for the entire study. Fasting plasma samples for metabolic parameters were collected and carotid-intima media thickness (cIMT) was assessed by B-mode real-time ultrasound at baseline and every 6 months thereafter.

There was a significant reduction in waist circumference, body mass index, fasting glycemia, HbA1c, total- and LDL-cholesterol, triglycerides, and cIMT during the 18-month follow-up. Correlation analysis showed a significant association between changes in cIMT and triglycerides ($r = 0.362$; $p < 0.0001$). The MetS prevalence significantly reduced during the study, and the 26% of subjects no longer fulfilled the criteria for the MetS after 18 months.

Liraglutide improves cardio-metabolic risk factors in subjects with the MetS in a real-world study.

Rosano GM.

Clinical Trial Design, Endpoints, and Regulatory Requirements.

Handb Exp Pharmacol. 2016 Oct 28. [Epub ahead of print]

A new therapeutic agent for heart failure can be approved if it improves survival and/or reduces hospitalisations or if it safely improves functional capacity. Therefore its clinical development program must demonstrate clinically relevant improvement in a robust clinical end point and adequate safety to justify regulatory approval and clinical use. Mortality and hospitalisations are now combined with new composite end points in order to improve trial efficiency and adequate assessment of efficacy of newer molecules, biologicals and cell therapies developed for the treatment of heart failure. Newer regulatory practices have been developed in the past few years and they will require design of innovative study designs able to demonstrate a sound clinical benefit alongside with adequate safety profile.

Rosano GM, Vitale C, Volterrani M.

Pharmacological Management of Chronic Stable Angina: Focus on Ranolazine.

Cardiovasc Drugs Ther. 2016 Aug;30(4):393-398.

Percutaneous coronary intervention and anti-anginal medications have similar prognostic effectiveness in patients with chronic stable angina. The choice of optimal medical therapy for the management of chronic angina is of pivotal importance in patients with stable ischemic heart disease.

The most commonly used anti-anginal agents have demonstrated equivalent efficacy in improving patient reported ischemic symptoms and quantitative exercise parameters. With regards to mortality, beta-blockers are beneficial only in the setting of depressed left ventricular systolic function after a recent myocardial infarction. Recent evidence suggests the lack of any benefit of beta-blockers in patients with preserved systolic function, even in the setting of prior myocardial infarction. Ranolazine is a non-haemodynamic anti-anginal agent. It is effective as adjunctive therapy in patients with chronic stable angina whose symptoms are un-adequately controlled by conventional treatment. The clinical development program of ranolazine has shown that the drug improves exercise performance, decreases angina and use of sublingual nitrates, compared to placebo. Ranolazine is well tolerated with neutral effect on haemodynamics. Besides its role in chronic stable angina, ranolazine has the potential for development in a number of other cardiovascular and non-cardiovascular conditions in the future.

Savarese G, D'Amore C, Federici M, De Martino F, Dellegrottaglie S, Marciano C, Ferrazzano F, Losco T, Lund LH, Trimarco B, Rosano GM, Perrone-Filardi P.

Effects of Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibitors and Sodium-Glucose Linked coTransporter-2 Inhibitors on cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis.

Int J Cardiol. 2016 Jun 27;220:595-601.

Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibitors (DPP4-I) and Sodium-Glucose Linked coTransporter-2 Inhibitors (SGLT2-I) improve glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus (DM). However, only few studies were designed to assess the efficacy and safety of these drugs on cardiovascular (CV) events and mortality. The purpose of the current study was to evaluate the effects of DPP4-Is and SGLT2-Is on CV events and mortality by meta-analysis.

Randomized trials enrolling more than 200 patients, comparing DPP-4-Is or SGLT2-Is versus placebo or active treatments in patients with DM, and reporting at least one event among all-cause and CV mortality, stroke, myocardial infarction (MI) and new onset of heart failure (HF), were included.

157 randomized trials (114 on DPP4-Is and 43 on SGLT2-Is) enrolling 140,470 patients (107,100 in DPP4-I and 33,370 in SGLT2-I studies) were included in the analysis. Compared to control, treatment with DPP4-Is did not affect all-cause (RR: 1.010; 95% CI: 0.935-1.091) and CV (RR: 0.975; CI: 0.887-1.073) mortality as well as risk of MI (RR: 0.915; CI: 0.835-1.002), stroke (RR: 0.933; CI: 0.820-1.062) and HF (RR: 1.083; CI: 0.973-1.205). Treatment with SGLT2-Is significantly reduced the risk of all-cause death by 28% (RR: 0.718; CI: 0.613-0.840), CV death by 33% (RR: 0.668; CI: 0.544-0.821), MI by 20% (RR: 0.803; CI: 0.668-0.965) and HF by 35% (RR: 0.652; CI: 0.517-0.823) without effect on stroke (RR: 1.158; CI: 0.912-1.469).

DPP4-Is show a safe CV profile as they do not affect mortality and CV events, including HF, in patients with type 2 DM. SGLT2-Is are associated with improved CV outcome and survival in DM patients.

Savarese G, Giugliano RP, Rosano GM, McMurray J, Magnani G, Filippatos G, Dellegrottaglie S, Lund LH, Trimarco B, Perrone-Filardi P.

Efficacy and Safety of Novel Oral Anticoagulants in Patients With Atrial Fibrillation and Heart Failure: A Meta-Analysis.

JACC Heart Fail. 2016 Nov;4(11):870-880.

This study investigated the efficacy and safety of novel oral anticoagulants (NOACs) in patients with atrial fibrillation (AF) and heart failure (HF) by a meta-analysis.

AF is quite prevalent in patients with HF.

Four phase III clinical trials comparing NOACs to warfarin in patients with AF were included. Each patient was defined as affected by HF according to the criteria of the trial in which the patient was enrolled. Pre-specified outcomes were the composite of stroke/systemic embolism (SSE); major, intracranial, and any bleeding; and cardiovascular (CV) and all-cause death.

A total of 55,011 patients were enrolled, 26,384 (48%) with HF, and 28,627 (52%) without HF;

27,518 receiving NOACs and 27,493 receiving warfarin (median, 70 years of age; 36% females; follow-up: 1.5 to 2.8 years). Rates of SSE (relative risk [RR]: 0.98; 95% confidence interval [CI]: 0.90 to 1.07; $p = 0.68$) and major bleeding (RR: 0.95; 95% CI: 0.88 to 1.03; $p = 0.21$) were comparable in patients with and without HF. HF patients had reduced rates of any (RR: 0.86; 95% CI: 0.81 to 0.91; $p < 0.01$) and intracranial (RR: 0.74 95% CI: 0.63 to 0.88; $p < 0.01$) bleeding but increased rates of all-cause (RR: 1.70 95% CI: 1.31 to 2.19; $p < 0.01$) and CV death (RR: 2.05 95% CI: 1.66 to 2.55; $p < 0.01$). NOACs, compared with warfarin significantly reduced SSE and major, intracranial, and any bleeding, regardless of the presence or absence of HF (pinteraction > 0.05 for each).

Patients with AF and HF had increased mortality but reduced rates of intracranial and any bleeding compared with the no-HF patients, with no differences in rates of SSE and major bleeding. NOACs significantly reduced SSE, major bleeding, and intracranial hemorrhage in HF patients. No interactions in efficacy and safety of NOACs were observed between AF patients with and without HF.

Savarese G, Hage C, Orsini N, Dahlström U, Perrone-Filardi P, Rosano GMC, Lund LH.

Reductions in N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels are associated with lower mortality and heart failure hospitalization rates in patients with heart failure with mid-range and preserved ejection fraction.

Circ Heart Fail. 2016 Nov;9(11). pii: e003105.

In heart failure with mid-range ejection fraction (HFmrEF) and preserved ejection fraction (HFpEF), feasible surrogate end points are needed for phase II trials. The aim was to assess whether a reduction in N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) is associated with improved mortality/morbidity in an unselected population of HFmrEF and HFpEF patients. In the Swedish Heart Failure Registry, HFmrEF (EF=40%-49%) and HFpEF (EF \geq 50%) patients reporting at least 2 consecutive outpatient NT-proBNP assessments were prospectively studied. Associations between reduction in NT-proBNP and overall mortality, HF hospitalization, and their composite were assessed by multivariable Cox regressions, with NT-proBNP changes modeled as binary (decrease/increase) or quantitative predictor by restricted cubic splines. In 650 patients, at a median of 7 months between the 2 measurements of NT-proBNP and over a median follow-up of 1.65 years, 361 patients (55%) showed a reduction and 289 patients (45%) an increase in NT-proBNP. Change in NT-proBNP was associated with risk of outcomes. Fifty-seven patients (16%) who decreased their NT-proBNP versus 78 patients (27%) who increased it died from any cause (adjusted hazard ratio=0.53; 95% confidence interval=0.36-0.77), 61 (17%) versus 86 (30%) were hospitalized for HF (hazard ratio=0.41; 95% confidence interval=0.29-0.60), and 96 (27%) versus 125 (43%) reported the composite outcome (hazard ratio=0.46; 95% confidence interval=0.34-0.62). These findings were replicated in HFmrEF and HFpEF separately.

In HFmrEF and HFpEF during routine care, decreases in NT-proBNP were associated with improved mortality and morbidity. Studies to determine whether NT-proBNP changes in response to therapy predict drug efficacy are needed.

Savarese G, Lund LH, Rosano GM.

Incretin-based therapy for type 2 diabetes: A real class effect?

Int J Cardiol. 2016 doi: 10.1016/j.ijcard.2016.11.018

Schmidt M, Lamberts M, Olsen AM, Fosbøll E, Niessner A, Tamargo J, Rosano G, Agewall S, Kaski JC, Kjeldsen K, Lewis BS, Torp-Pedersen C.

Cardiovascular safety of non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drugs: review and position paper by the working group for Cardiovascular Pharmacotherapy of the European Society of Cardiology. Eur Heart J. 2016 Apr 1;37(13):1015-1023.

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):133-141.

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. 2016 Jan;67(1):34-35.

Senni M, McMurray JJ, Wachter R, McIntyre HF, Reyes A, Majercak I, Andreka P, Shehova-Yankova N, Anand I, Yilmaz MB, Gogia H, Martinez-Selles M, Fischer S, Zilahi Z, Cosmi F, Gelev V, Galve E, Gómez-Doblas JJ, Nociar J, Radomska M, Sokolova B, Volterrani M, Sarkar A, Reimund B, Chen F, Charney A.

Initiating sacubitril/valsartan (LCZ696) in heart failure: results of TITRATION, a double-blind, randomized comparison of two uptitration regimens.
Eur J Heart Fail. 2016 Sep;18(9):1193-1202.

To assess the tolerability of initiating/uptitrating sacubitril/valsartan (LCZ696) from 50 to 200 mg twice daily (target dose) over 3 and 6 weeks in heart failure (HF) patients (ejection fraction $\leq 35\%$).

A 5-day open-label run-in (sacubitril/valsartan 50 mg twice daily) preceded an 11-week, double-blind, randomization period [100 mg twice daily for 2 weeks followed by 200 mg twice daily ('condensed' regimen) vs. 50 mg twice daily for 2 weeks, 100 mg twice daily for 3 weeks, followed by 200 mg twice daily ('conservative' regimen)]. Patients were stratified by pre-study dose of angiotensin-converting enzyme inhibitor/angiotensin-receptor blocker (ACEI/ARB; low-dose stratum included ACEI/ARB-naïve patients). Of 540 patients entering run-in, 498 (92%) were randomized and 429 (86.1% of randomized) completed the study. Pre-defined tolerability criteria were hypotension, renal dysfunction and hyperkalaemia; and adjudicated angioedema, which occurred in ('condensed' vs. 'conservative') 9.7% vs. 8.4% ($P = 0.570$), 7.3% vs. 7.6% ($P = 0.990$), 7.7% vs. 4.4% ($P = 0.114$), and 0.0% vs. 0.8% of patients, respectively. Corresponding proportions for pre-defined systolic blood pressure < 95 mmHg, serum potassium > 5.5 mmol/L, and serum creatinine > 3.0 mg/dL were 8.9% vs. 5.2% ($P = 0.102$), 7.3% vs. 4.0% ($P = 0.097$), and 0.4% vs. 0%, respectively. In total, 378 (76%) patients achieved and maintained sacubitril/valsartan 200 mg twice daily without dose interruption/down-titration over 12 weeks (77.8% vs. 84.3% for 'condensed' vs. 'conservative'; $P = 0.078$). Rates by ACEI/ARB pre-study dose stratification were 82.6% vs. 83.8% ($P = 0.783$) for high-dose/'condensed' vs. high-dose/'conservative' and 84.9% vs. 73.6% ($P = 0.030$) for low-dose/'conservative' vs. low-dose/'condensed'.

Initiation/uptitration of sacubitril/valsartan from 50 to 200 mg twice daily over 3 or 6 weeks had a tolerability profile in line with other HF treatments. More gradual initiation/uptitration maximized attainment of target dose in the low-dose ACEI/ARB group.

Vetrano DL, La Carpia D, Grande G, Casucci P, Bacelli T, Bernabei R, Onder G; Italian Group for Appropriate Drug Prescription in the Elderly (I-GrADE) (Bonassi S, Fini M, Vitale C) .
Anticholinergic Medication Burden and 5-Year Risk of Hospitalization and Death in Nursing Home Elderly Residents With Coronary Artery Disease.
J Am Med Dir Assoc. 2016 Nov 1;17(11):1056-1059.

The aim of the study is to assess the association of the anticholinergic medication burden with hospitalization and mortality in nursing home elderly patients and to investigate the role of coronary artery disease (CAD). It's a longitudinal (5-year) retrospective observational study. The settings are nursing homes in Italy. Participants: a total of 3761 nursing home older residents.

A comprehensive clinical and functional assessment was carried out through the interRAI long-term care facility instrument. The anticholinergic burden was assessed through the anticholinergic cognitive burden (ACB) scale. Occurrence of hospitalization/all-cause mortality was the primary composite outcome. First hospitalization and all-cause mortality were the secondary outcomes of the study. Hazard ratios (HRs) and subdistribution HRs were obtained through Cox and competing risk (death as competing event for hospitalization) models.

Within the sample (mean age 83 ± 7 years; 72% females) the incidence rate of the primary outcome was 10/100 person-year. After adjusting for potential confounders and compared with participants with an ACB of 0, those with an ACB of 1 [HR 1.46; 95% confidence interval (CI) 1.12-1.90] and ACB of 2+ (HR 1.41; 95% CI 1.11-1.79) presented an increased risk of developing the primary outcome. After stratification, the risk for the primary outcome increased along with the anticholinergic burden, only for participants affected by CAD (HR 1.53; 95% CI 0.94-2.50 and HR 1.71; 95% CI 1.09-2.68 for the ACB of 1 and ACB of 2+ groups). An ACB score of 2+ was marginally associated with first hospitalization, considering death as a competing risk, only for those with CAD (subdistribution HR 3.47; 95% CI 0.99-12.3).

Anticholinergic medication burden is associated to hospitalization and all-cause mortality in institutionalized older adults. CAD increases such risk. The effectiveness and safety profile of complex drug regimens should be reconsidered in this population.

Vitacca M, Scalvini S, Volterrani M, Paneroni M, Giordano A, Ambrosino N.

Physiological and symptom effects of changing posture from sitting to supine, and vice versa, in stable chronic heart failure.

Acta Cardiol. 2016;71(5):543-548.

The current study is aimed to evaluate effects of supine position in stable chronic heart failure (CHF) patients, their relationship with dyspnea and differences in NYHA classes. In 17 CHF males patients (61 ± 8 y, NYHA class II 8 NYHA classes III and IV 9) admitted in hospital for clinical stabilization and rehabilitation scopes we measured oxygenation, respiratory mechanics, dynamic lung volumes, hemodynamics, and dyspnea in sitting vs. supine posture (order randomized) when in stable state condition. Compared to sitting, supine posture decreased oxygenation and maximal esophageal swing, increased esophageal pressure swing, respiratory drive normalized for maximal inspiratory strength, pressure time index, pulmonary artery pressure, transmural pulmonary artery pressure (TM-PAP) and transmural pulmonary artery occlusion pressure (TM-PAOP) (all $p < 0.01$). The decline in TM-PAP ($p = 0.0195$) and TM-PAOP ($p = 0.0421$) was significantly greater in New York Heart Association class II than III-IV patients. Delta variation in dyspnea related only with supine value of TM-PAOP and delta change of TM-PAOP ($R = -0.53$ and $p < 0.0277$; $R = 0.56$ and $p < 0.0175$ respectively). In stable CHF, supine position is associated with a worsening of oxygenation, respiratory mechanics and hemodynamics but not dyspnea; less severe patients show a greater worsening of transpulmonary pressures. Sensation of dyspnea seems, at least in part, independent of worsening of cardiac and pulmonary functions.

Vitale C, Kaski JC.

Microvascular angina and systemic hypertension.

E-journal of Cardiology Practice. 2016; Vol.14, N° 2 - 26 Jan 2016

<http://www.escardio.org/Guidelines-&-Education/Journals-and-publications/ESC-journals-family/E-journal-of-Cardiology-Practice/Volume-14/microvascular-angina-and-systemic-hypertension>

Patients with systemic hypertension often experience chest pain despite the absence of obstructive coronary artery disease, which is caused by coronary microvascular dysfunction. Structural coronary microvascular abnormalities such as capillary rarefaction and functional mechanisms such as endothelial dysfunction are common causes for the development of angina pectoris in hypertensive individuals. In addition, in postmenopausal hypertensive women, oestrogen deficiency may also play a key pathogenetic role in microvascular angina. Treatment with ACE inhibitors and beta-blockers, in addition to aggressive tackling of all cardiovascular risk factors present in a given individual, often improves symptoms and reduces myocardial ischaemic events. Hormone replacement therapy with oestrogen should be considered in selected postmenopausal women. This treatment should be administered by specialist units, after careful characterisation of the patient's hormonal status. Microvascular angina must be investigated in every patient with hypertension and chest pain not associated with obstructive coronary artery disease.

Vitale C, Mammi C, Gambacciani M, Russo N, Spoletini I, Fini M, Volterrani M, Rosano GM.

Effect of hormone replacement therapy with the anti-mineralocorticoid progestin Drospirenone compared to tibolone on endothelial function and central haemodynamics in post-menopausal women. *Int J Cardiol.* 2016 Nov 9. [Epub ahead of print]

Drospirenone (DRSP) is an antialdosterone agent with progestogenic and antiandrogenic effects. This compound, has been recently used in combination with 17 β -estradiol (E2) as hormonal therapy in postmenopausal women and has been shown to exert a significant antihypertensive effect in hypertensive post-menopausal women. Aim of the present study was to compare the effect of DRSP/E2 with those of Tibolone (T) on endothelial function, arterial stiffness, and lipid profile of early postmenopausal women naïve on post-menopausal hormonal therapy. Twenty-four women met the inclusion criteria and entered the study. Women were randomized to receive either DRSP/E2 or T for 6 months. Blood pressure and heart rate were similar in both groups at baseline and at the end of the study. Compared to baseline, endothelial function assessed by Reactive Hyperemia (RH) significantly improved in women receiving E2/DRSP, whereas no significant differences between baseline and follow up were detected in women receiving Tibolone. Women receiving E2/DRSP showed a significant decrease in pulse wave velocity and Augmentation Index compared to baseline while no changes were observed in women receiving Tibolone. The capacity of sera to trigger endothelial cells apoptosis in vitro measured by cell death assay was significantly reduced by E/DRSP but not by T (HFA-E 70 \pm 5,6% vs HFD-E 41 \pm 4,5%, $p < 0,001$). In conclusion, the present study shows that the association of Estradiol and Drospirenone as hormonal replacement therapy significantly improves vascular parameters and the composition of sera relevant for vascular protection in early post-menopausal normotensive women. These effects are not shared by Tibolone.

Vitale C, Rosano GM, Kaski JC.

Role of Coronary Microvascular Dysfunction in Takotsubo Cardiomyopathy. *Circ J.* 2016;80(2):299-305.

Takotsubo cardiomyopathy (TTC) is a relatively frequent acute cardiac condition, but its pathogenesis has not been established as yet. Since the first descriptions of TTC, microvascular dysfunction has been advocated as a possible pathophysiological mechanism underlying the left ventricular wall motion abnormalities that characterize the syndrome. Several noninvasive and invasive methods have confirmed the involvement of coronary microvascular abnormalities in the pathogenesis of TTC, but whether microvascular dysfunction is the primary cause or a secondary phenomenon is still

debated. The greater prevalence of TTC among postmenopausal women, along with the relationship identified between physical and emotional triggers and other “neuro-cardiac” mechanisms, suggest that increased microvascular reactivity, possibly sympathetically mediated, may play a pathogenic role in susceptible individuals. This review critically evaluates the possible role of microvascular dysfunction in the development of TTC.

Vitale C, Rosano GM, Prasad K.

Need for streamlined use of DPP-4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes.

Cardiovasc Diabetol. 2016 Apr 2;15(1):55.

Regulatory agencies request an assessment of cardiovascular safety for all “new” oral anti-diabetic drugs in order to avoid possible negative effects on cardiovascular events. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors have emerged as a new therapeutic alternative for the treatment of type 2 diabetes mellitus, but the several large post-marketing clinical trials have shown only a modest effect in glycaemic control and, more importantly, a neutral effect on total and cardiovascular events. Conversely a recent trial with empagliflozin, a sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor, has shown significant effect on overall and cardiovascular mortality. Although glycaemic control is an important aspect of diabetes management, the results of the EMPA-REG outcome trial suggest that it is possible to develop anti-diabetic drugs that may exert an overall beneficial effect beyond the mere improvement of glycaemic control. While the regulatory hurdles should not be increased, there is the need for evaluation of the net clinical impact and cost effectiveness of all anti-diabetic agents. Therefore, a better collaboration among all stakeholders is needed in order to develop studies with endpoints that will be both clinically meaningful including appropriate follow-up, and economically relevant in patients with type 2 diabetes mellitus.

Vitiello L, Ferraro E, De Simone S, Gatta L, Feraco A, Racioppi L, Rosano G.

CXCL12 prolongs naïve CD4+ T lymphocytes survival via activation of PKA, CREB and Bcl2 and BclXI up-regulation.

Int J Cardiol. 2016 Dec 1;224:206-212.

Naïve T lymphocytes recirculate through the body, traveling from secondary lymphoid organs through tissues and via lymphatic vessels and peripheral blood into other secondary lymphoid organs and into the bone marrow. In these tissues, lymphocytes are exposed to the chemokine CXCL12 which is abundantly produced in bone marrow and in lymph nodes by stromal cells. CXCL12 is known to drive lymphocytes chemotaxis and, in cells types such as stem cells, an antiapoptotic effect has been described.

Here we analyzed the effect of CXCL12 exposure on naïve CD4+ T lymphocytes purified from peripheral blood by immunomagnetic negative isolation and cultured in a nutrient poor medium. We also studied, mainly by western blot analysis, the signaling pathways involved in CXCL12 action on naïve CD4+ T lymphocytes.

We found that CXCL12-exposed cells survived longer than untreated ones and this prolonged lifespan was specific for resting naïve lymphocytes, while in vitro activated lymphoblasts died rapidly despite CXCL12 treatment. We demonstrated that the increased percentage of living cells observed upon CXCL12 administration was not due to induction of proliferation but to a prosurvival effect of this chemokine. Moreover, our data suggest that this prosurvival effect on naïve CD4+ T lymphocytes might likely be mediated by PKA-dependent CREB activation and consequent increased expression of the antiapoptotic factors Bcl2 and BclXI.

This newly reported activity of CXCL12 might contribute to the maintenance of the naïve T lymphocytes pool in vivo, which is needed to ensure a proper immune response to new antigens.

Volterrani M, Iellamo F.

Eplerenone in chronic heart failure with depressed systolic function.

Int J Cardiol. 2016 Dec 1;224:206-212.

Naive T lymphocytes recirculate through the body, traveling from secondary lymphoid organs through tissues and via lymphatic vessels and peripheral blood into other secondary lymphoid organs and into the bone marrow. In these tissues, lymphocytes are exposed to the chemokine CXCL12 which is abundantly produced in bone marrow and in lymph nodes by stromal cells. CXCL12 is known to drive lymphocytes chemotaxis and, in cells types such as stem cells, an antiapoptotic effect has been described.

Here we analyzed the effect of CXCL12 exposure on naïve CD4+ T lymphocytes purified from peripheral blood by immunomagnetic negative isolation and cultured in a nutrient poor medium. We also studied, mainly by western blot analysis, the signaling pathways involved in CXCL12 action on naïve CD4+ T lymphocytes.

We found that CXCL12-exposed cells survived longer than untreated ones and this prolonged lifespan was specific for resting naïve lymphocytes, while in vitro activated lymphoblasts died rapidly despite CXCL12 treatment. We demonstrated that the increased percentage of living cells observed upon CXCL12 administration was not due to induction of proliferation but to a prosurvival effect of this chemokine. Moreover, our data suggest that this prosurvival effect on naïve CD4+ T lymphocytes might likely be mediated by PKA-dependent CREB activation and consequent increased expression of the antiapoptotic factors Bcl2 and BclXI.

This newly reported activity of CXCL12 might contribute to the maintenance of the naïve T lymphocytes pool in vivo, which is needed to ensure a proper immune response to new antigens.

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). 2016 Sep;17(9): 647-652.

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, Senni M, Piepoli MF.

Therapeutic options of Angiotensin Receptor Neprilysin inhibitors (ARNis) in chronic heart failure with reduced ejection fraction: Beyond RAAS and sympathetic nervous system inhibition.

Int J Cardiol. 2016 May 7. pii: S0167-5273(16)30876-2. [Epub ahead of print]

In heart failure, in addition to the renin-angiotensin-aldosterone system and sympathetic nervous system, the natriuretic peptide (NP) system plays a fundamental role among compensating mechanisms. The NPs undergo rapid enzymatic degradation that limits their vasorelaxant, natriuretic, and diuretic actions. Degradation of NPs is partially due to the action of neprilysin, which is a membrane-bound endopeptidase found in many tissues. This article summarizes recent findings on a new natriuretic peptide-enhancing drug and their implication for future pharmacological treatment of patients suffering from heart failure with reduced ejection fraction.

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 uric acid lowering therapy in cardiovascular diseases for practical and clinical purposes. The possible mechanisms underlying the benefits of uric acid lowering therapy are also addressed.

Laboratorio di Malattie Cronico-Neurodegenerative

Aiello A, Bacci L, Re A, Ripoli C, Pierconti F, Pinto F, Masetti R, Grassi C, Gaetano C, Bassi PF, Pontecorvi A, Nanni S, Farsetti A.

MALAT1 and HOTAIR Long Non-Coding RNAs Play Opposite Role in Estrogen-Mediated Transcriptional Regulation in Prostate Cancer Cells.

Sci Rep. 2016 Dec 6;6:38414. doi: 10.1038/srep38414.

In the complex network of nuclear hormone receptors, the long non-coding RNAs (lncRNAs) are emerging as critical determinants of hormone action. Here we investigated the involvement of selected cancer-associated lncRNAs in Estrogen Receptor (ER) signaling. Prior studies by Chromatin Immunoprecipitation (ChIP) Sequencing showed that in prostate cancer cells ERs form a complex with the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and that in turn these complexes associate with chromatin in an estrogen-dependent fashion. Among these associations (peaks) we focused our attention on those proximal to the regulatory region of HOTAIR and MALAT1. These transcripts appeared regulated by estrogens and able to control ERs function by interacting with ER α /ER β as indicated by RNA-ChIP. Further studies performed by ChIRP revealed that in unstimulated condition, HOTAIR and MALAT1 were present on pS2, hTERT and HOTAIR promoters at the ERE/eNOS peaks. Interestingly, upon treatment with 17 β -estradiol HOTAIR recruitment to chromatin increased significantly while that of MALAT1 was reduced, suggesting an opposite regulation and function for these lncRNAs. Similar results were obtained in cells and in an ex vivo prostate organotypic slice cultures. Overall, our data provide evidence of a crosstalk between lncRNAs, estrogens and estrogen receptors in prostate cancer with important consequences on gene expression regulation.

Ambrosi C, Aleandri M, Giordano A, Scribano D, Marazzato M, Zagaglia C, Conte MP, Palamara AT. Molecular characterisation of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: First report of a new sequence type in Italy.

J Glob Antimicrob Resist. 2016 Nov 1;7:154-156.

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.

Oxid Med Cell Longev. 2016;2016:1746985. PubMed PMID: 26885246; PubMed Central PMCID: PMC4739232.

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 μ M and 1.25 μ M 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.

Di Pasquale P, Caterino M, Di Somma A, Squillace M, Rossi E, Landini P, Iebba V, Schippa S, Papa R, Selan L, Artini M, Palamara AT, Duilio A.

Exposure of *E. coli* to DNA-Methylating Agents Impairs Biofilm Formation and Invasion of Eukaryotic Cells via Down Regulation of the N-Acetylneuraminase Lyase NanA.

Front Microbiol. 2016 Feb 11;7:147. eCollection 2016.

Erratum in: Front Microbiol. 2016;7:383. Palamara, Annateresa. Front Microbiol. 2016;7:383. PubMed PMID: 26904018; PubMed Central PMCID: PMC4749703.

DNA methylation damage can be induced by endogenous and exogenous chemical agents, which has led every living organism to develop suitable response strategies. We investigated protein expression profiles of *Escherichia coli* upon exposure to the alkylating agent methyl-methane sulfonate (MMS) by differential proteomics. Quantitative proteomic data showed a massive downregulation of enzymes belonging to the glycolytic pathway and fatty acids degradation, strongly suggesting a decrease of energy production. A strong reduction in the expression of the N-acetylneuraminase lyases (NanA) involved in the sialic acid metabolism was also observed. Using a null NanA mutant and DANA, a substrate analog acting as competitive inhibitor, we demonstrated that down regulation of NanA affects biofilm formation and adhesion properties of *E. coli* MV1161. Exposure to alkylating agents also decreased biofilm formation and bacterial adhesion to Caco-2 eukaryotic cell line by the adherent invasive *E. coli* (AIEC) strain LF82. Our data showed that methylation stress impairs *E. coli* adhesion properties and suggest a possible role of NanA in biofilm formation and bacteria host interactions.

Fá M, Puzzo D, Piacentini R, Staniszewski A, Zhang H, Baltrons MA, Li Puma DD, Chatterjee I, Li J, Saeed F, Berman HL, Ripoli C, Gulisano W, Gonzalez J, Tian H, Costa JA, Lopez P, Davidowitz E, Yu WH, Haroutunian V, Brown LM, Palmeri A, Sigurdsson EM, Duff KE, Teich AF, Honig LS, Sierks M, Moe JG, D'Adamio L, Grassi C, Kanaan NM, Fraser PE, Arancio O.

Extracellular Tau Oligomers Produce An Immediate Impairment of LTP and Memory.

Sci Rep. 2016 Jan 20;6:19393.

Non-fibrillar soluble oligomeric forms of amyloid- β peptide (oA β) and tau proteins are likely to play a major role in Alzheimer's disease (AD). The prevailing hypothesis on the disease etiopathogenesis is that oA β initiates tau pathology that slowly spreads throughout the medial temporal cortex and neocortices independently of A β , eventually leading to memory loss. Here we show that a brief exposure to extracellular recombinant human tau oligomers (oTau), but not monomers, produces an impairment of long-term potentiation (LTP) and memory, independent of the presence of high oA β levels. The impairment is immediate as it raises as soon as 20 min after exposure to the oligomers. These effects are reproduced either by oTau extracted from AD human specimens, or naturally produced in mice overexpressing human tau. Finally, we found that oTau could also act in combination with oA β to produce these effects, as sub-toxic doses of the two peptides combined lead to LTP and memory impairment. These findings provide a novel view of the effects of tau and A β on memory loss, offering new therapeutic opportunities in the therapy of AD and other neurodegenerative diseases associated with A β and tau pathology.

Fusco S, Leone L, Barbati SA, Samengo D, Piacentini R, Maulucci G, Toietta G, Spinelli M, McBurney M, Pani G, Grassi C.

A CREB-Sirt1-Hes1 Circuitry Mediates Neural Stem Cell Response to Glucose Availability.

Cell Rep. 2016 Feb 9;14(5):1195-1205.

Adult neurogenesis plays increasingly recognized roles in brain homeostasis and repair and is profoundly affected by energy balance and nutrients. We found that the expression of Hes-1 (hairless and enhancer of split 1) is modulated in neural stem and progenitor cells (NSCs) by extracellular glucose through the coordinated action of CREB (cyclic AMP responsive element binding protein) and Sirt-1

(Sirtuin 1), two cellular nutrient sensors. Excess glucose reduced CREB-activated Hes-1 expression and results in impaired cell proliferation. CREB-deficient NSCs expanded poorly in vitro and did not respond to glucose availability. Elevated glucose also promoted Sirt-1-dependent repression of the Hes-1 promoter. Conversely, in low glucose, CREB replaced Sirt-1 on the chromatin associated with the Hes-1 promoter enhancing Hes-1 expression and cell proliferation. Thus, the glucose-regulated antagonism between CREB and Sirt-1 for Hes-1 transcription participates in the metabolic regulation of neurogenesis.

Iachininoto MG, Camisa V, Leone L, Pinto R, Lopresto V, Merla C, Giorda E, Carsetti R, Zaffina S, Podda MV, Teofili L, Grassi C.

Effects of exposure to gradient magnetic fields emitted by nuclear magnetic resonance devices on clonogenic potential and proliferation of human hematopoietic stem cells.

Bioelectromagnetics. 2016 May;37(4):201-211.

This study investigates effects of gradient magnetic fields (GMFs) emitted by magnetic resonance imaging (MRI) devices on hematopoietic stem cells. Field measurements were performed to assess exposure to GMFs of staff working at 1.5 T and 3 T MRI units. Then an exposure system reproducing measured signals was realized to expose in vitro CD34+ cells to GMFs (1.5 T-protocol and 3 T-protocol). CD34+ cells were obtained by Fluorescence Activated Cell Sorting from six blood donors and three MRI-exposed workers. Blood donor CD34+ cells were exposed in vitro for 72 h to 1.5 T or 3 T-protocol and to sham procedure. Cells were then cultured and evaluated in colony forming unit (CFU)-assay up to 4 weeks after exposure. Results showed that in vitro GMF exposure did not affect cell proliferation but instead induced expansion of erythroid and monocytes progenitors soon after exposure and for the subsequent 3 weeks. No decrease of other clonogenic cell output (i.e., CFU-granulocyte/erythroid/macrophage/megakaryocyte and CFU-granulocyte/macrophage) was noticed, nor exposed CD34+ cells underwent the premature exhaustion of their clonogenic potential compared to sham-exposed controls. On the other hand, pilot experiments showed that CD34+ cells exposed in vivo to GMFs (i.e., samples from MRI workers) behaved in culture similarly to sham-exposed CD34+ cells, suggesting that other cells and/or microenvironment factors might prevent GMF effects on hematopoietic stem cells in vivo. Accordingly, GMFs did not affect the clonogenic potential of umbilical cord blood CD34+ cells exposed in vitro together with the whole mononuclear cell fraction.

Itzhaki RF, Lathe R, Balin BJ, Ball MJ, Bearer EL, Braak H, Bullido MJ, Carter C, Clerici M, Cosby SL, Del Tredici K, Field H, Fulop T, Grassi C, Griffin WS, Haas J, Hudson AP, Kamer AR, Kell DB, Licastro F, Letenneur L, Lövheim H, Mancuso R, Miklossy J, Otth C, Palamara AT, Perry G, Preston C, Pretorius E, Strandberg T, Tabet N, Taylor-Robinson SD, Whittum-Hudson JA.

Microbes and Alzheimer's Disease.

J Alzheimers Dis. 2016 Mar 8;51(4):979-984.

Mandaliti W, Nepravishta R, Sinibaldi Vallebona P, Pica F, Garaci E, Paci M.

Thymosin α 1 Interacts with Exposed Phosphatidylserine in Membrane Models and in Cells and Uses Serum Albumin as a Carrier.

Biochemistry. 2016 Mar 15;55(10):1462-1472.

Thymosin α 1 is a peptidic hormone with pleiotropic activity and is used in the therapy of several diseases. It is unstructured in water solution and interacts with negative regions of vesicles by assuming two tracts of helical conformation with a structural break between them. This study reports on Thymosin α 1's interaction with mixed phospholipids phosphatidylcholine and phosphatidylserine, the negative component of the membranes, by ^1H and natural abundance ^{15}N nuclear magnetic resonance (NMR). The results indicate that interaction occurs when the membrane is negatively charged by exposing phosphatidylserine.

Moreover, the direct interaction of Thymosin $\alpha 1$ with K562 cells with an overexposure of phosphatidylserine as a consequence of resveratrol-induced apoptosis was conducted. Thymosin $\alpha 1$'s interaction with human serum albumin was also investigated by NMR spectroscopy. Steady-state saturation transfer, transfer nuclear Overhauser effect spectroscopy, and diffusion-ordered spectroscopy methodologies all reveal that the C-terminal region of Thymosin $\alpha 1$ is involved in the interaction with serum albumin. These results may shed more light on Thymosin $\alpha 1$'s mechanism of action by its insertion in negative regions of membranes due to the exposure of phosphatidylserine. Once Thymosin $\alpha 1$'s N-terminus has been inserted into the membrane, the rest may interact with nearby proteins and/or receptors acting as effectors and causing a biological signaling cascade, thus exerting thymosin $\alpha 1$'s pleiotropy.

Nanni S, Re A, Ripoli C, Gowran A, Nigro P, D'Amario D, Amodeo A, Crea F, Grassi C, Pontecorvi A, Farsetti A, Colussi C.

The nuclear pore protein Nup153 associates with chromatin and regulates cardiac gene expression in dystrophic mdx hearts.

Cardiovasc Res [Internet]. 2016; 112(2):555-567.

Aims Beyond the control of nuclear-cytoplasmic trafficking nucleoporins regulate gene expression and are involved in cardiac diseases. Notably, a number of cardiovascular disorders have been linked to alterations in epigenetic mechanisms. Here we aimed to determine the contribution of Nup153 to the epigenetic alterations occurring in cardiomyopathy of dystrophin-deficient mdx mice (C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J). **Methods and results** Nup153 was lysine-acetylated and its expression was significantly increased at protein level in mdx hearts compared with controls. Accordingly, lysine acetyl transferase (KAT) activity associated with Nup153 was higher in mdx hearts paralleling increased binding with the lysine acetylases P300/CBP-associated factor (PCAF) and p300. Interestingly, Nup153 silencing in mdx organotypic heart tissue slices caused a reduction in PCAF- and p300-specific activities. Remarkably, the level of nitric oxide (NO), which is reduced in mdx mice, was important for KAT-dependent regulation of Nup153. In fact, treatment of mdx heart tissue with an NO donor or the KAT inhibitor anacardic acid normalized Nup153 protein expression. Nup153 was recruited to chromatin and regulated the transcription of genes involved in cardiac remodelling, including the actin-binding protein nexilin. Accordingly, nexilin protein expression was abrogated by Nup153 silencing in mdx organotypic cultures. Electrophysiological and molecular experiments revealed that Nup153 overexpression in normal cardiomyocytes increases Cav1.2 calcium channel expression and function. Alterations in Nup153 protein expression and intracellular localization were also found in dystrophic cardiomyocytes derived from patient-specific induced pluripotent stem cells. Importantly, Nup153 up-regulation and increased acetylation were also found in the heart of Duchenne muscular dystrophy patients. **Conclusions** Our data indicate that Nup153 is an epigenetic regulator which, upon altered NO signalling, mediates the activation of genes potentially associated with early dystrophic cardiac remodelling.

Nepravishta R, Mandaliti W, Vallebona PS, Pica F, Garaci E, Paci M.

Mechanism of Action of Thymosin $\alpha 1$: Does It Interact with Membrane by Recognition of Exposed Phosphatidylserine on Cell Surface? A Structural Approach.

Vitam Horm. 2016;102:101-119.

Thymosin $\alpha 1$ is a peptidic hormone with pleiotropic activity, which is used in the therapy of several diseases. It is unstructured in water solution and interacts with negative regions of micelles and vesicles assuming two tracts of helical conformation with a structural flexible break in between. The studies of the interaction of Thymosin $\alpha 1$ with micelles of mixed dipalmitoylphosphatidylcholine and sodium dodecylsulfate and vesicles with mixed dipalmitoylphosphatidylcholine/dipalmitoylphosphatidylserine, the latter the negative component of the membranes, by $(1)H$ and natural abundance $(15)N$ NMR are herewith reported, reviewed, and discussed.

The results indicate that the preferred interactions are those where the surface is negatively charged due to sodium dodecylsulfate or due to the presence of dipalmitoylphosphatidylserine exposed on the surface. In fact the unbalance of dipalmitoylphosphatidylserine on the cellular surface is an important phenomenon present in pathological conditions of cells. Moreover, the direct interaction of Thymosin α 1 with K562 cells presenting an overexposure of phosphatidylserine as a consequence of resveratrol-induced apoptosis was carried out.

Panella S, Marcocci ME, Celestino I, Valente S, Zwergel C, Li Puma DD, Nencioni L, Mai A, Palamara AT, Simonetti G.

MC1568 inhibits HDAC6/8 activity and influenza A virus replication in lung epithelial cells: role of Hsp90 acetylation.

Future Med Chem. 2016 Oct 14.

Histone deacetylases (HDACs) regulate the life-cycle of several viruses. We investigated the ability of different HDAC-inhibitors, to interfere with influenza virus A/Puerto Rico/8/34/H1N1 (PR8 virus) replication in Madin-Darby canine kidney and NCI cells.

3-(5-(3-Fluorophenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl)-1-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-N-hydroxyacrylamide (MC1568) inhibited HDAC6/8 activity and PR8 virus replication, with decreased expression of viral proteins and their mRNAs. Such an effect may be related to a decrease in intranuclear content of viral polymerases and, in turn, to an early acetylation of Heat shock protein 90 (Hsp90), a major player in their nuclear import. Later, the virus itself induced Hsp90 acetylation, suggesting a differential and time-dependent role of acetylated proteins in virus replication.

The inhibition of HDAC6/8 activity during early steps of PR8 virus replication could lead to novel anti-influenza strategy.

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 Ca²⁺-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.

Pica F, Chimenti MS, Gaziano R, Buè C, Casalnuovo IA, Triggianese P, Conigliaro P, Di Carlo D, Cordero V, Adorno G, Volpi A, Perricone R, Garaci E.

Serum thymosin α 1 levels in patients with chronic inflammatory autoimmune diseases.

Clin Exp Immunol. 2016 Oct;186(1):39-45.

Thymosin alpha 1 (T α 1) is a powerful modulator of immunity and inflammation. Despite years of studies, there are a few reports evaluating serum T α 1 in health and disease. We studied a cohort of

healthy individuals in comparison with patients affected by chronic inflammatory autoimmune diseases. Sera from 120 blood donors (healthy controls, HC), 120 patients with psoriatic arthritis (PsA), 40 with rheumatoid arthritis (RA) and 40 with systemic lupus erythematosus (SLE), attending the Transfusion Medicine or the Rheumatology Clinic at the Policlinico Tor Vergata, Rome, Italy, were tested for Tα1 content by means of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit. Data were analysed in relation to demographic and clinical characteristics of patients and controls. A gender difference was found in the HC group, where females had lower serum Tα1 levels than males ($P < 0.0001$). Patients had lower serum Tα1 levels than HC ($P < 0.0001$), the lowest were observed in PsA group ($P < 0.0001$ versus all the other groups). Among all patients, those who at the time of blood collection were taking disease-modifying anti-rheumatic drugs (DMARD) plus steroids had significantly higher Tα1 levels than those taking DMARD alone ($P = 0.044$) or no treatment ($P < 0.0001$), but not of those taking steroids alone ($P = 0.280$). However, whichever type of treatment was taken by the patients, serum Tα1 was still significantly lower than in HC and there was no treatment-related difference in PsA group. Further prospective studies are necessary to confirm and deepen these observations. They might improve our understanding on the regulatory role of Tα1 in health and disease and increase our knowledge of the pathogenesis of chronic inflammatory autoimmune diseases.

Podda MV, Cocco S, Mastrodonato A, Fusco S, Leone L, Barbati SA, Colussi C, Ripoli C, Grassi C. Anodal transcranial direct current stimulation boosts synaptic plasticity and memory in mice via epigenetic regulation of Bdnf expression. *Sci Rep.* 2016 Feb 24;6:22180.

The effects of transcranial direct current stimulation (tDCS) on brain functions and the underlying molecular mechanisms are yet largely unknown. Here we report that mice subjected to 20-min anodal tDCS exhibited one-week lasting increases in hippocampal LTP, learning and memory. These effects were associated with enhanced: i) acetylation of brain-derived neurotrophic factor (Bdnf) promoter I; ii) expression of Bdnf exons I and IX; iii) Bdnf protein levels. The hippocampi of stimulated mice also exhibited enhanced CREB phosphorylation, pCREB binding to Bdnf promoter I and recruitment of CBP on the same regulatory sequence. Inhibition of acetylation and blockade of TrkB receptors hindered tDCS effects at molecular, electrophysiological and behavioral levels. Collectively, our findings suggest that anodal tDCS increases hippocampal LTP and memory via chromatin remodeling of Bdnf regulatory sequences leading to increased expression of this gene, and support the therapeutic potential of tDCS for brain diseases associated with impaired neuroplasticity.

Rodio DM, Anzivino E, Mischitelli M, Bellizzi A, Scrivo R, Scribano D, Conte G, Prezioso C, Trancasini M, Valesini G, Palamara AT, Pietropaolo V. Increased Prevalence of Human Polyomavirus JC Viruria in Chronic Inflammatory Rheumatic Diseases Patients in Treatment with Anti-TNF α : A 18 Month Follow-Up Study. *Front Microbiol.* 2016 May 10;7:672. eCollection 2016.

Chronic inflammatory rheumatic diseases (CIRDs) are immune-mediated pathologies involving joints. To date, TNF α -blocking agents administration is the most promising therapy, although these treatments are associated with an increased Polyomavirus JC (JCPyV) reactivation, the etiological agent of the Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (PML). The aim of this study was the recruitment and the analysis of a CIRDs cohort in order to investigate a possible correlation between JCPyV presence and the influence of anti-TNF- α agents on viral loads. Blood and urine samples were collected from 34 CIRDs subjects prior the first anti-TNF- α infusion (T0) and after 3 (T3), 6 (T6), 12 (T12), and 18 (T18) months. Results showed persistent JC viruria significantly higher than JC viremia throughout the 18 month follow-up study ($p = 0.002$). In JCPyV positive samples, the non-coding control region (NCCR) was analyzed. Results evidenced archetypal structures (type II-S) in all isolates with the exception of a sequence isolated from a plasma sample, that corresponds to the type II-R found in PML subjects. Finally, the viral protein 1 (VP1) genotyping was performed and results showed the

prevalence of the European genotypes 1A, 1B, and 4. Since only few studies have been carried out to understand whether there is a PML risk in CIRDs population infected by JCPyV, this study contributes to enrich literature insight on JCPyV biology in this cluster. Further investigations are necessary in order to recognize the real impact of biologics on JCPyV life cycle and to identify possible and specific viral variants related to increased virulence in CIRDs patients.

Laboratorio di patologia molecolare e cellulare

Carnevale I, Pellegrini L, D'Aquila P, Saladini S, Lococo E, Polletta L, Vernucci E, Foglio E, Coppola S, Sansone L, Passarino G, Bellizzi D, Russo MA, Fini M, Tafani M.

SIRT1-SIRT3 Axis Regulates Cellular Response to Oxidative Stress and Etoposide.
J Cell Physiol. 2016 Dec 7. [Epub ahead of print]

Sirtuins are conserved NAD⁺-dependent deacylases. SIRT1 is a nuclear and cytoplasmic sirtuin involved in the control of histones a transcription factors function. SIRT3 is a mitochondrial protein, which regulates mitochondrial function. Although, both SIRT1 and SIRT3 have been implicated in resistance to cellular stress, the link between these two sirtuins has not been studied so far. Here we aimed to unravel: i) the role of SIRT1-SIRT3 axis for cellular response to oxidative stress and DNA damage; ii) how mammalian cells modulate such SIRT1-SIRT3 axis and which mechanisms are involved. Therefore, we analyzed the response to different stress stimuli in WT or SIRT1-silenced cell lines. Our results demonstrate that SIRT1-silenced cells are more resistant to H₂O₂ and etoposide treatment showing decreased ROS accumulation, γ -H2AX phosphorylation, caspase-3 activation and PARP cleavage. Interestingly, we observed that SIRT1-silenced cells show an increased SIRT3 expression. To explore such a connection, we carried out luciferase assays on SIRT3 promoter demonstrating that SIRT1-silencing increases SIRT3 promoter activity and that such an effect depends on the presence of SP1 and ZF5 recognition sequences on SIRT3 promoter. Afterwards, we performed co-immunoprecipitation assays demonstrating that SIRT1 binds and deacetylates the transcription inhibitor ZF5 and that there is a decreased interaction between SP1 and ZF5 in SIRT1-silenced cells. Therefore, we speculate that acetylated ZF5 cannot bind and sequester SP1 that is free, then, to increase SIRT3 transcription. In conclusion, we demonstrate that cells with low SIRT1 levels can maintain their resistance and survival by increasing SIRT3 expression.

Frustaci A, Letizia C, Verardo R, Grande C, Calvieri C, Russo MA, Chimenti C.

Atrogin-1 Pathway Activation in Cushing Syndrome Cardiomyopathy.
J Am Coll Cardiol. 2016 Jan 5;67(1):116-117.

Leone AM, D'Amario D, Teofili L, Basile E, Cannata F, Graziani F, Marzilli M, Russo MA, Tarantini G, Ceconi C, Leone G, Trani C, Rebuzzi AG, Crea F.

The combined effect of subcutaneous granulocyte- colony stimulating factor and myocardial contrast echocardiography with intravenous infusion of sulfur hexafluoride on post-infarction left ventricular function, the RIGENERA 2.0 trial: study protocol for a randomized controlled trial.
Trials. 2016 Feb 19;17(1):97.

Several clinical trials and recent meta-analyses have demonstrated that administration of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) is safe and, only in patients with large acute myocardial infarction (AMI), is associated with an improvement in left ventricular ejection fraction. Moreover, the mobilization and engraftment of the bone marrow-derived cells may differ significantly among patients, interfering with the restoration of left ventricular function after treatment. Therefore, the clinical potential application of the G-CSF has not yet been fully elucidated. The RIGENERA 2.0 trial is a multicenter, phase II, placebo-controlled, randomized, open-label, with blinded evaluation of endpoints (PROBE) trial in which 120 patients with an acute ST-elevation myocardial infarction (STEMI) undergoing successful revascularization but with residual myocardial dysfunction

will be enrolled. In cases where there is a left ventricular ejection fraction (LVEF) $\leq 45\%$ the patient will be electronically randomized (1:1 ratio) to receive either subcutaneous recombinant human G-CSF (group 1) or placebo (group 2) both added on top of optimal standard of care. Both groups will undergo myocardial contrast echocardiography with intravenous infusion of sulfur hexafluoride (MCE) whilst undergoing the echocardiogram. The primary efficacy endpoint is the evaluation of the LVEF at 6 months after AMI assessed by cardiac magnetic resonance. Secondary efficacy endpoints are the evaluation of LVEF at 6 months after AMI assessed by echocardiography, left ventricular end-diastolic volume (LVEDV) and left ventricular end-systolic volume (LVESV) assessed by cardiac magnetic resonance and echocardiography at 6 months, together with the incidence of major adverse clinical events (MACE) defined as death, myocardial infarction, sustained cardiac arrhythmias, cardiogenic shock, stroke and re-hospitalization due to heart failure at 1 year.

The RIGENERA 2.0 trial will test whether G-CSF administration and MCE, through the enhancement of the bone marrow-derived cells homing in the myocardium, determines an improvement in regional and global contractile function, myocardial perfusion and infarct extension in patients with large AMI. The results of the present study are expected to envision routine clinical use of this safe, affordable and reproducible approach in patients with successful revascularization after AMI.

Trial registration: ClinicalTrials.gov: NCT02502747 (29 June 2015); EudraCT: 2015-002189-21 (10 July 2015).

Magrone T, Russo MA, Jirillo E.

Role of Immune Cells in the Course of Central Nervous System Injury: Modulation with Natural Products.

Curr Pharm Des. 2016;22(6):701-708.

Immune cells actively participate to the central nervous system (CNS) injury either damaging or protecting neural tissue with release of various mediators. Residential microglia and monocyte-derived macrophages play a fundamental role within the injured CNS and, here, special emphasis will be placed on M1 and M2 macrophages for their different functional activities. On the other hand, peripheral T regulatory (Treg) cells exert antiinflammatory activities in the diseased host. In this respect, activation of Treg cells by nutraceuticals may represent a novel approach to treat neuroinflammation. Omega-3 fatty acids and polyphenols will be described as substances endowed with antioxidant and anti-inflammatory activities. However, taking into account that Treg cells act in the later phase of CNS injury, favoring immune suppression, manipulation of host immune system with both substances requires caution to avoid undesired side effects.

Mari E, Mardente S, Morgante E, Tafani M, Lococo E, Fico F, Valentini F, Zicari A.

Graphene Oxide Nanoribbons Induce Autophagic Vacuoles in Neuroblastoma Cell Lines.

Int J Mol Sci. 2016 Nov 29;17(12).

Since graphene nanoparticles are attracting increasing interest in relation to medical applications, it is important to understand their potential effects on humans. In the present study, we prepared graphene oxide (GO) nanoribbons by oxidative unzipping of single-wall carbon nanotubes (SWCNTs) and analyzed their toxicity in two human neuroblastoma cell lines. Neuroblastoma is the most common solid neoplasia in children. The hallmark of these tumors is the high number of different clinical variables, ranging from highly metastatic, rapid progression and resistance to therapy to spontaneous regression or change into benign ganglioneuromas. Patients with neuroblastoma are grouped into different risk groups that are characterized by different prognosis and different clinical behavior. Relapse and mortality in high risk patients is very high in spite of new advances in chemotherapy. Cell lines, obtained from neuroblastomas have different genotypic and phenotypic features. The cell lines SK-N-BE(2) and SH-SY5Y have different genetic mutations and tumorigenicity. Cells were exposed to low doses of GO for different times in order to investigate whether GO was a good vehicle for biological molecules delivering individualized therapy. Cytotoxicity in both cell lines was studied by

measuring cellular oxidative stress (ROS), mitochondria membrane potential, expression of lysosomal proteins and cell growth. GO uptake and cytoplasmic distribution of particles were studied by Transmission Electron Microscopy (TEM) for up to 72 h. The results show that GO at low concentrations increased ROS production and induced autophagy in both neuroblastoma cell lines within a few hours of exposure, events that, however, are not followed by growth arrest or death. For this reason, we suggest that the GO nanoparticle can be used for therapeutic delivery to the brain tissue with minimal effects on healthy cells.

Mariani S, Di Rocco G, Toietta G, Russo MA, Petrangeli E, Salvatori L.

Sirtuins 1-7 expression in human adipose-derived stem cells from subcutaneous and visceral fat depots: influence of obesity and hypoxia.

Endocrine. 2016 Nov 14. [Epub ahead of print]

The sirtuin family comprises seven NAD⁺-dependent deacetylases which control the overall health of organisms through the regulation of pleiotropic metabolic pathways. Sirtuins are important modulators of adipose tissue metabolism and their expression is higher in lean than obese subjects. At present, the role of sirtuins in adipose-derived stem cells has not been investigated yet. Therefore, in this study, we evaluated the expression of the complete panel of sirtuins in adipose-derived stem cells isolated from both subcutaneous and visceral fat of non-obese and obese subjects. We aimed at investigating the influence of obesity on sirtuins' levels, their role in obesity-associated inflammation, and the relationship with the peroxisome proliferator-activated receptor delta, which also plays functions in adipose tissue metabolism. The mRNA levels in the four types of adipose-derived stem cells were evaluated by quantitative polymerase chain reaction, in untreated cells and also after 8 h of hypoxia exposure. Correlations among sirtuins' expression and clinical and molecular parameters were also analyzed. We found that sirtuin1-6 exhibited significant higher mRNA expression in visceral adipose-derived stem cells compared to subcutaneous adipose-derived stem cells of non-obese subjects. Sirtuin1-6 levels were markedly reduced in visceral adipose-derived stem cells of obese patients. Sirtuins' expression in visceral adipose-derived stem cells correlated negatively with body mass index and C-reactive protein and positively with peroxisome proliferator-activated receptor delta. Finally, only in the visceral adipose-derived stem cells of obese patients hypoxia-induced mRNA expression of all of the sirtuins. Our results highlight that sirtuins' levels in adipose-derived stem cells are consistent with protective effects against visceral obesity and inflammation, and suggest a transcriptional mechanism through which acute hypoxia up-regulates sirtuins in the visceral adipose-derived stem cells of obese patients.

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. 2016 Mar;23(3):668-679

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 inflam

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- κ B 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 MAP1LC3B, 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.

Ravenna L, Salvatori L, Russo MA.

HIF3 α : the little we know.

FEBS J.2016 Mar;283(6):993-1003. [Epub ahead of print 2015 Oct 28]

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, Ravenna L, Pellegrini L, Petrangeli E, Salvatori L, Magrone T, Fini M, Tafani M.

Hypoxia and Inflammation in prostate cancer progression. Cross-talk with androgen and estrogen receptors and cancer stem cells.

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2016 Nov 30. [Epub ahead of print]

Tumors are complex tissues in which transformed cells communicate with the surrounding microenvironment and evolve traits promoting their own survival and malignancy. Hypoxia and inflammation are constant characteristics of prostate tumor microenvironment influencing both cancer stem cells and differentiated tumor cells. HIFs and NF- κ B are the key regulators of the transcriptional response to hypoxic and inflammatory stresses, respectively, and a crosstalk between HIFs and NF- κ B pathways has been widely documented. Similarly, androgen and estrogen signaling, that play important roles in the growth and function of normal prostate gland, when deregulated, have a significant part in the acquisition of evolution of malignant diseases. Moreover, androgen and estrogen receptors have been shown to intersect with the HIF/NF- κ B signaling in prostate cancer. Aim of this review is to present the current knowledge regarding the crucial role, in prostate cancer progression, of a molecular network linking hypoxia, pro-inflammatory response and steroid receptors.

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. 2016;2016:3907147.

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.

Area di Ricerca Biomarkers and Advanced Biotechnologies

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.* 2016 Feb;19(1):79-89.

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.

Betsou F, Bulla A, Cho SY, Clements J, Chuaqui R, Coppola D, De Souza Y, De Wilde A, Grizzle W, Guadagni F, Gunter E, Heil S, Hodgkinson V, Kessler J, Kiehnopf M, Kim HS, Koppandi I, Shea K, Singh R, Sobel M, Somiari S, Spyropoulos D, Stone M, Tybring G, Valyi-Nagy K, Van den Eynden G, Wadhwa L.

Assays for Qualification and Quality Stratification of Clinical Biospecimens Used in Research: A Technical Report from the ISBER Biospecimen Science Working Group. *Biopreserv Biobank.* 2016 Oct;14(5):398-409.

This technical report presents quality control (QC) assays that can be performed in order to qualify clinical biospecimens that have been biobanked for use in research. Some QC assays are specific to a disease area. Some QC assays are specific to a particular downstream analytical platform. When such a qualification is not possible, QC assays are presented that can be performed to stratify clinical biospecimens according to their biomolecular quality.

Capuani B, Pacifici F, Pastore D, Palmirotta R, Donadel G, Arriga R, Bellia A, di Daniele N, Rogliani P, Abete P, Sbraccia P, Guadagni F, Lauro D, Della-Morte D.

The Role of Epsilon PKC in Acute and Chronic Diseases: Possible Pharmacological Implications of its Modulators. *Pharmacol Res.* 2016 Sep;111:659-67.

Epsilon Protein kinase C (ϵ PCK) is a particular kinase that, when activated, is able to protect against different stress injuries and therefore has been proposed to be a potential molecular target against acute and chronic diseases. Particular attention has been focused on ϵ PCK for its involvement in the protective mechanism of Ischemic Preconditioning (IPC), a powerful endogenous mechanism characterized by subthreshold ischemic insults able to protect organs against ischemic injury. Therefore, in the past decades several ϵ PCK modulators have been tested with the object to emulate

ϵ PCK mediate protection. Among these the most promising, so far, has been the $\Psi\epsilon$ RACK peptide, a homologous of RACK receptor for ϵ PKC, that when administrated can mimic its effect in the cells. However, results from studies on ϵ PCK indicate controversial role of this kinase in different organs and diseases, such as myocardial infarct, stroke, diabetes and cancer. Therefore, in this review we provide a discussion on the function of ϵ PCK in acute and chronic diseases and how the different activators and inhibitors have been used to modulate its activity. A better understanding of its function is still needed to definitively target ϵ PCK as novel therapeutic strategy.

Curcio F, Ferro G, Basile C, Liguori I, Parrella P, Pirozzi F, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Tocchetti CG, Bonaduce D, Abete P.

Biomarkers in sarcopenia: A multifactorial approach.

Exp Gerontol. 2016 Sep 12;85:1-8.

The slow and continuous loss of muscle mass that progresses with aging is defined as “sarcopenia”. Sarcopenia represents an important public health problem, being closely linked to a condition of frailty and, therefore, of disability. According to the European Working Group on Sarcopenia in Older People, the diagnosis of sarcopenia requires the presence of low muscle mass, along with either low grip strength or low physical performance. However, age-related changes in skeletal muscle can be largely attributed to the complex interactions among factors including alterations of the neuromuscular junction, endocrine system, growth factors, and muscle proteins turnover, behavior-related and disease-related factors. Accordingly, the identification of a single biomarker of sarcopenia is unreliable, due to its “multifactorial” pathogenesis with the involvement of a multitude of pathways. Thus, in order to characterize pathophysiological mechanisms and to make a correct assessment of elderly patient with sarcopenia, a panel of biomarkers of all pathways involved should be assessed.

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.2016, Jan 26;7(4):4048-4061.

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.

Della-Morte D, Pacifici F, Rundek T.

Genetic susceptibility to cerebrovascular disease.

Curr Opin Lipidol. 2016 Apr;27(2):187-195.

Cerebrovascular disease (CeVD) remains a major cause of death and a leading cause of disability worldwide. CeVD is a complex and multifactorial disease caused by the interaction of vascular risk

factors, environment, and genetic factors. In the present article, we discussed genetic susceptibility to CeVD, with particular emphasis on genetic studies of the associations between lipid traits and CeVD.

Several animal and clinical studies clearly defined genetic predisposition to atherosclerosis and CeVD, and particularly to ischemic stroke. Recent evidence has shown that traditional vascular risk factors explain only a small proportion of variance in atherosclerosis, suggesting that additional nontraditional factors and novel genetic determinants impact CeVD. With the help of genome-wide technology, novel genetic variants have been implicated in CeVD and lipid metabolism such as those in protein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) gene in stroke and familial hypercholesterolemia. These studies are important as they contribute to our understanding of the genetic mechanisms underlying CeVD and to developing more effective CeVD prevention strategies.

CeVD is a complex and multifactorial disease and genetics likely plays an important role in its pathogenesis. The gene-gene and gene-environment interactions of genes involved in biology of vascular disease, including the lipid metabolism are important factors for individual susceptibility to CeVD. Accounting for individual variation in genes, environment and lifestyle will bring us closer to precision medicine, which is an emerging and recently introduced new approach for disease treatment and prevention in clinical practice.

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. 2016 Jun;28(3):407-412.

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, 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.

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 ± 20.8 mm² 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.

Dong C, Della-Morte D, Rundek T, Wright CB, Elkind MS, Sacco RL.

Evidence to Maintain the Systolic Blood Pressure Treatment Threshold at 140 mmHg for Stroke Prevention: The Northern Manhattan Study.

Hypertension. 2016 Mar;67(3):520-526.

In 2014, the Eighth Joint National Committee revised the target maximum systolic blood pressure (SBP) from 140 to 150 mmHg in patients aged ≥ 60 years without diabetes mellitus or chronic kidney disease. The evidence from cohort studies supporting this change was sparse, particularly among US minority populations. In the Northern Manhattan Study, 1750 participants aged ≥ 60 years and free of stroke, diabetes mellitus, and chronic kidney disease had SBP measured at baseline and were annually followed up for incident stroke. Mean age at baseline was 72 ± 8 years, 63% were women, 48% Hispanic, 25% non-Hispanic white, and 25% non-Hispanic black. Among all participants, 40% were on antihypertensive medications; 43% had SBP < 140 mmHg, 20% had 140 to 149 mmHg, and 37% had ≥ 150 mmHg. Over a median follow-up of 13 years, 182 participants developed stroke. The crude stroke incidence was greater among individuals with SBP ≥ 150 mmHg (10.8 per 1000 person-years) and SBP 140 to 149 (12.3) than among those with SBP < 140 (6.2). After adjusting for demographics, vascular risk factors, diastolic BP, and medication use, participants with SBP 140 to 149 mmHg had an increased risk of stroke (hazard ratio, 1.7; 95% confidence interval, 1.2-2.6) compared with those with SBP < 140 mmHg. The increased stroke risk was most notable among Hispanics and non-Hispanic blacks. Raising the SBP threshold from 140 to 150 mmHg as a new target for hypertension treatment in older individuals without diabetes mellitus or chronic kidney disease could have a detrimental effect on stroke risk reduction, especially among minority US populations.

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

Prognostic value of glycated hemoglobin in colorectal cancer.

World J Gastroenterol. 2016 Dec 7;22(45):9984-9993.

To investigate the clinical significance of routinely used glycemic parameters in a cohort of colorectal cancer (CRC) patients.

Pre-treatment fasting blood glucose, insulin, HbA1c and homeostasis model of risk assessment (HOMA-IR) were retrospectively evaluated in a case-control study of 224 CRC and 112 control subjects matched for sex, obesity and diabetes frequency and blood lipid profile. Furthermore, the prognostic value of routinely used glycemic parameters towards progression-free (PFS) and overall survival (OS) was prospectively evaluated.

Fasting blood glucose, insulin, HOMA-IR and HbA1c (all $P < 0.0001$) levels were higher in non

diabetic CRC patients compared with obesity-matched controls. All parameters were associated with increased CRC risk at ROC analysis, but no relationship with clinical-pathological variables or survival outcomes was observed for glycemia, insulinemia or HOMA-IR. Conversely, advanced CRC stage ($P = 0.018$) was an independent predictor of increased HbA1c levels, which were also higher in patients who had disease progression compared with those who did not ($P = 0.05$). Elevated HbA1c levels showed a negative prognostic value both in terms of PFS (HR = 1.24) and OS (HR = 1.36) after adjustment for major confounders, which was further confirmed in a subgroup analysis performed after exclusion of diabetic patients.

HbA1c might have a negative prognostic value in CRC, thus suggesting that glycemic metabolic markers should be carefully monitored in these patients, independently of overt diabetes.

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.* 2016 Jan;115(1):143-151.

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, Guadagni F, Roselli M. VEGF and VTE Risk in Cancer Patients-Letter. *Clin Cancer Res.* 2016 Mar 1;22(5):1295.

Ferroni P, Riondino S, Laudisi A, Portarena I, Formica V, Alessandrini J, D'Alessandro R, Orlandi A, Costarelli L, Cavaliere F, Guadagni F, Roselli M. Pretreatment Insulin Levels as a Prognostic Factor for Breast Cancer Progression. *Oncologist.* 2016 Sep;21(9):1041-1049

Based on the hypothesis that impaired glucose metabolism might be associated with survival outcomes independently of overt diabetes, we sought to investigate the prognostic value of routinely used glycemic parameters in a prospective study of breast cancer (BC) patients.

Fasting blood glucose, insulin and HbA1c levels, and insulin resistance (assessed by the Homeostasis Model Assessment [HOMA] index) at diagnosis were evaluated in 286 nondiabetic BC patients (249 with primary cancer, 37 with metastatic) with respect to those parameters' possible associations with clinicopathological features and survival outcomes. As a control group, 143 healthy women matched in a 2:1 ratio for age, blood lipid levels, and body mass index were also investigated.

Fasting blood glucose level (mean \pm SD: 99 ± 26 vs. 85 ± 15 mg/dL), insulin level (median: 10.0 vs. 6.8 μ U/mL), and HOMA index (median: 2.2 vs. 1.4), but not HbA1c level, were significantly elevated in BC patients compared with control subjects. Receiver operating characteristics analysis showed comparable areas for blood glucose and insulin levels, and HOMA index (ranging from 0.668 to 0.671). Using a cutoff level of 13 μ U/mL, insulin had the best specificity (92%) and sensitivity (41%), was significantly associated with disease stage, and acted as a negative prognostic marker of progression-free survival (hazard ratio: 2.17; 95% confidence interval: 1.13-4.20) independently of menopausal status, disease stage, hormone receptor status, and human epidermal growth factor receptor 2 and Ki67 expression.

These results suggest that insulin determination might provide prognostic information in BC and support the hypothesis that lifestyle and/or pharmacological interventions targeting glucose metabolism could be considered to improve survival outcome of selected BC patients.

Pretreatment insulin levels may represent a biomarker of adverse prognosis in nondiabetic women with breast cancer, independently of other well-established prognostic factors (i.e., stage, hormone receptors, HER2/neu, and Ki67). This finding has important implications, because it provides the rationale for lifestyle or insulin-targeting pharmacologic interventions as a means of improving breast cancer outcomes not only in early stages, but also in advanced-stage breast cancer patients with aggressive tumor phenotypes (HER2-negative hormone-resistant, or triple-negative breast cancer), in which treatments are still challenging. The possibility of using insulin as a biomarker to guide insulin-targeted interventions also should be taken into account.

Ferroni P, Roselli M, Riondino S, Cavaliere F, Guadagni F.

Insulin resistance as a predictor of venous thromboembolism in breast cancer.

Endocr Relat Cancer. 2016 Jun;23(6):L25-8.

Ferroni P, Santilli F, Cavaliere F, Simeone P, Costarelli L, Liani R, Tripaldi R, Riondino S, Roselli M, Davi G, Guadagni F.

Oxidant stress as a major determinant of platelet activation in invasive breast cancer.

Int J Cancer. 2016 Oct 26. Epub 2016 Nov 7

The hypothesis that increased oxidative stress in breast cancer (BC) patients could induce enhanced lipid peroxidation, which, in turn, would contribute to platelet activation and poor clinical outcome is attractive. To address this issue, we investigated pre-surgical urinary 8-iso-prostaglandin (PG)F₂ α (marker of in vivo oxidative stress) and 11-dehydro-thromboxane (TX)B₂ (marker of in vivo platelet activation) levels in patients with primary BC (n = 115) compared with control women paired for comorbidities and their association with patients' metabolic profile and clinical prognostic factors. The results obtained showed that presurgical urinary excretion of both biomarkers was enhanced in BC patients compared to controls and was associated with patients' estrogen receptor (ER) expression, but not HER2 status or Ki67 proliferation index. Accordingly, both urinary biomarkers were increased in patients with luminal-like BC molecular subtypes compared with triple negative or HER2-enriched tumors. ER status was an independent predictor of 8-iso-PGF₂ α urinary levels, which, in turn, significantly predicted 11-dehydro-TXB₂ urinary levels together with disease stage and ER status. The prognostic value of 11-dehydro-TXB₂ was then evaluated showing a significant correlation with BC pathological response to neoadjuvant treatment. Furthermore, among relapsing patients, those with elevated urinary biomarker levels were more likely to develop distant metastasis rather than local recurrence. In conclusion, we may speculate that enhanced oxidative stress due to estrogen-related mechanisms might cause a condition of persistent platelet activation capable of sustaining BC growth and progression through the release of bioactive stored molecules, ultimately contributing to tumor invasiveness. Further studies specifically addressing this hypothesis are presently needed.

Formica V, Morelli C, Ferroni P, Nardecchia A, Tesauro M, Pellicori S, Cereda V, Russo A, Riondino S, Guadagni F, Roselli M.

Neutrophil/lymphocyte ratio helps select metastatic pancreatic cancer patients benefitting from oxaliplatin.

Cancer Biomark. 2016 Sep 26;17(3):335-345.

High Neutrophil/Lymphocyte ratio (NLR), as a measure of enhanced inflammatory response, has been negatively associated with prognosis in patients with localized pancreatic ductal adenocarcinoma (PDA).

In the present study, we aimed at investigating the prognostic value of NLR in two homogeneous groups of chemotherapy-naïve metastatic PDA patients. Patients were treated with either gemcitabine (GEM) or gemcitabine/oxaliplatin (GEMOXA). We also assessed whether NLR could identify patients benefitting from the use of oxaliplatin.

Consecutive PDA patients treated at the Medical Oncology Unit of Tor Vergata University Hospital of Rome with either GEM or GEMOXA were included (n= 103). NLR was assessed before and during chemotherapy and correlated with outcome together with common clinical and biochemical variables.

Among 17 analyzed variables NLR, Karhofskey Performance Status (KPS), d-dimer and erythrocyte sedimentation rate were found to be significantly associated with median Overall Survival (mOS) at the univariate analysis. Only NLR and KPS were independent prognosticator at multivariate analysis, with NLR displaying the highest statistical significance. NLR was also predictive of oxaliplatin activity, as only patients with NLR > 2.5 (cutoff determined upon ROC analysis) derived benefit from GEMOXA over GEM.

NLR is both an independent prognostic and predictive factor in metastatic PDA, since only patients with high NLR seem to benefit from the addition of oxaliplatin. NLR may help select patients for whom a particularly poor prognosis might justify more intensive, yet less tolerable, combination regimens.

Gaignaux A, Ashton G, Coppola D, De Souza Y, De Wilde A, Eliason J, Grizzle W, Guadagni F, Gunter E, Koppandi I, Shea K, Shi T, Stein JA, Sobel ME, Tybring G, Van den Eynden G, Betsou F.

A Biospecimen Proficiency Testing Program for Biobank Accreditation: Four Years of Experience.

Biopreserv Biobank. 2016 Oct;14(5):429-439.

Biobanks produce and distribute biospecimens, ensuring their fitness for purpose and accurately qualifying them before distribution. In their efforts toward professionalization, biobanks can nowadays seek certification or accreditation. One of the requirements of these standards is regular participation in Proficiency Testing (PT) programs. An international PT program has been developed and provided to biobanks and other laboratories that perform specific tests to qualify different types of biospecimens. This PT program includes biospecimen testing schemes, as well as biospecimen processing interlaboratory exercises. This PT program supports the development of biobank quality assurance by providing the possibility to assess biobank laboratory performance and useful insights into biobank laboratory method performance characteristics and thus fulfill the demands from accreditation authorities.

Hamilton DH, Roselli M, Ferroni P, Costarelli L, Cavaliere F, Taffuri M, Palena C, Guadagni F.

Brachyury, a vaccine target, is overexpressed in triple-negative breast cancer.

Endocr Relat Cancer. 2016 Oct;23(10):783-796.

Patients diagnosed with triple-negative breast cancer (TNBC) have a high rate of tumor metastasis and a poor prognosis. The treatment option for these patients is currently chemotherapy, which results in very low response rates. Strategies that exploit the immune system for the treatment of cancer have now shown the ability to improve survival in several tumor types. Identifying potential targets for immune therapeutic interventions is an important step in developing novel treatments for TNBC. In this study, in silico analysis of publicly available datasets and immunohistochemical analysis of primary and metastatic tumor biopsies from TNBC patients were conducted to evaluate the