

expression of the transcription factor brachyury, which is a driver of tumor metastasis and resistance and a target for cancer vaccine approaches. Analysis of breast cancer datasets demonstrated a predominant expression of brachyury mRNA in TNBC and in basal vs luminal or HER2 molecular breast cancer subtypes. At the protein level, variable levels of brachyury expression were detected both in primary and metastatic TNBC lesions. A strong association was observed between nuclear brachyury protein expression and the stage of disease, with nuclear brachyury being more predominant in metastatic vs primary tumors. Survival analysis also demonstrated an association between high levels of brachyury in the primary tumor and poor prognosis. Two brachyury-targeting cancer vaccines are currently undergoing clinical evaluation; the data presented here provide rationale for using brachyury-targeting immunotherapy approaches for the treatment of TNBC.

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.

The functional aspects of programmed death 1 (PD-1) and PD ligand 1 (PD-L1) immune checkpoints in malignant mesothelioma have not been studied.

Tumor samples from 65 patients with mesothelioma were evaluated for PD-L1 expression by immunohistochemistry, and its prognostic significance was examined. Malignant effusions from patients with pleural and peritoneal mesothelioma were evaluated for PD-1-positive and PD-L1-positive infiltrating lymphocytes and their role in inducing PD-L1 expression in tumor cells. Antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) of avelumab, a fully humanized immunoglobulin G1 anti PD-L1 antibody against primary mesothelioma cell lines, was evaluated in presence of autologous and allogeneic natural killer cells.

Of 65 pleural and peritoneal mesothelioma tumors examined, 41 (63%) were PD-L1-positive, which was associated with slightly inferior overall survival compared to patients with PD-L1-negative tumors (median 23.0 versus 33.3 months, $p = 0.35$). The frequency of PD-L1 expression was similar in patients with pleural and peritoneal mesothelioma, with 62% and 64% of samples testing positive, respectively. In nine mesothelioma effusion samples evaluated, the fraction of cells expressing PD-L1 ranged from 12% to 83%. In seven patients with paired malignant effusion and peripheral blood mononuclear cell (PBMC) samples, PD-L1 expression was significantly higher on CD3-positive T cells present in malignant effusions as compared with PBMCs ($p = 0.016$). In addition, the numbers of CD14-positive PD-1-positive cells were increased in malignant effusions compared with PBMCs ($p = 0.031$). The lymphocytes present in malignant effusions recognized autologous tumor cells and induced interferon- γ -mediated PD-L1 expression on the tumor cell surface. Of the three primary mesothelioma cell lines tested, two were susceptible to avelumab-mediated ADCC in the presence of autologous natural killer cells.

Most pleural as well as peritoneal mesotheliomas express PD-L1. Malignant effusions in this disease are characterized by the presence of tumor cells and CD3-positive T cells that highly express PD-L1. In addition, mesothelioma tumor cells are susceptible to ADCC by the anti-PD-L1 antibody avelumab.

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.

In Italy, each year 500,000 couples refer to specialized centers due to reproductive problems. Among them, recurrent pregnancy loss (RPL) represents a problem of great importance, given that it affects

up to 5% of women of childbearing age. Infertility, on the other hand, is a condition that currently covers 10-20% of couples of reproductive age, being idiopathic in 20% of cases. Accumulating evidence support the concept that changes of blood coagulation, generically defined as the presence of a thrombophilic state (congenital or acquired), are the basis of 40-70% of cases of multiple abortions or infertility. Several evidences support the hypothesis that endothelial dysfunction, a hallmark of a condition of low-grade inflammation, is one of the earliest manifestations of thrombotic phenomena. To date, it's believed that, while the antiinflammatory Th2 cytokines (i.e. interleukin-10) can exert a protective role in pregnancy, the pro-inflammatory Th1 ones (i.e. interferon- γ , tumor necrosis factor- α ,) have deleterious effects on pregnancy outcome, including fertilization and implantation failure. Moreover, development of many pregnancy complications, first and foremost venous thromboembolism (VTE), recognizes similar mechanism(s). As VTE is the main preventable cause of mortality during pregnancy, thromboprophylaxis is mandatory according to individual VTE risk, influenced by the presence of thrombophilic conditions. In this review, we will analyze the relationship between thrombophilia and pregnancy complications, with particular focus on the role of inflammation. Subsequently, we will consider some issues related to the thromboembolic risk in pregnancy. Finally, the role of thromboprophylaxis in pregnancy will be discussed.

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.

The human sirtuins (SIRT1-SIRT7) enzymes are a highly conserved family of NAD(+)-dependent histone deacetylases, which play a critical role in the regulation of a large number of metabolic pathways involved in stress response and aging. Cancer is an age-associated disease, and sirtuins may have a considerable impact on a plethora of processes that regulate tumorigenesis. In particular, growing evidence suggests that sirtuins may modulate epithelial plasticity by inducing transcriptional reprogramming leading to epithelial-mesenchymal transition (EMT), invasion, and metastases. Though commonly regarded as EMT inducers, sirtuins may also suppress this process, and their functional properties seem to largely depend on the cellular context, stage of cancer development, tissue of origin, and microenvironment architecture. Here, we review the role of sirtuins in cancer biology with particular emphasis on their role in EMT.

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.

Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) are characterized by mutations of KIT (v-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog) or PDGFRA (platelet-derived growth factor receptor α) that may be efficiently targeted by tyrosine kinase inhibitors (TKI). Notwithstanding the early responsiveness to TKI, the majority of GISTs progress, imposing the need for alternative therapeutic strategies. DOG1 (discovered on GIST-1) shows a higher sensitivity as a diagnostic marker than KIT, however its prognostic role has been little investigated.

We evaluated DOG1 expression by immunohistochemistry (IHC) in 59 patients with GISTs, and correlated its levels with clinical and pathological features as well as mutational status. Kaplan-Meier analysis was also applied to assess correlations of the staining score with patient recurrence-free survival (RFS).

DOG1 was expressed in 66% of CD117(+) GISTs and highly associated with tumor size and the rate

of wild-type tumors. Kaplan-Meier survival analysis showed that a strong DOG1 expression demonstrated by IHC correlated with a worse 2-year RFS rate, suggesting its potential ability to predict GISTs with poor prognosis.

These findings suggest a prognostic role for DOG1, as well as its potential for inclusion in the criteria for risk stratification.

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.

An impairment of the activated protein C (APC) system has been occasionally reported in breast cancer (BC). However, the clinical significance and prognostic value of an impaired APC functionality in BC patients is still poorly understood. Thus, the present study was aimed at investigating the prognostic value of altered APC functionality for progression-free (PFS) and overall survival (OS) in a cohort study of BC patients. APC functionality was retrospectively analyzed by a coagulation inhibition assay (ThromboPath) in 290 consecutive patients with primary (n=246) or relapsing/recurrent (n=44) BC. All patients were prospectively followed for a median time of 3.5 years (14% recurrence rate). As control group, 145 age-matched healthy women were also investigated. The results obtained demonstrated that APC function was impaired in roughly 20% of all BC at baseline. BC women with stage I/II had a significantly lower rate of APC impairment (13%) than women with stage III (22%) or distant metastases (44%, p=0.001). At univariate analyses, an impairment of APC function had a negative prognostic impact in terms of PFS (5-year PFS rates 53% vs. 70%; HR=2.5; p<0.001) and OS (5-year OS rates 79% vs. 93%; HR=3.9; p=0.005). However, prognostic significance was retained in multivariate models only for PFS (HR=2.0; p=0.017). We may, thus, conclude that BC patients are in a prothrombotic condition, which could play a role in the progression of the disease. Monitoring coagulation changes in BC women could provide important prognostic information especially in patients with advanced stages.

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.

The first-line standard of care for patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) is FOLFIRI (irinotecan, levo-leucovorin, 5-fluorouracil (5-FU)) plus bevacizumab. With the renewed interest in cancer immunotherapy with agents such as vaccines, checkpoint inhibitors and immune modulators, the possibility exists for the use of one or more of these immunotherapeutics in the first-line setting and thus in combination with the FOLFIRI and bevacizumab regimen. Studies were undertaken to study the effects of FOLFIRI and bevacizumab therapy on peripheral T-cell subsets, and to determine if there are any associations between these subsets and response to therapy. Peripheral blood mononuclear cell subsets of patients with mCRC (n = 23) were analyzed prior to and during therapy. While there were differences among patients, the majority of patients showed either a minimal change or an increase in CD4(+) T cell to regulatory T cell (Treg) ratios during therapy, as well as either minimal change or a decrease in Treg suppressive activity during therapy. There was also an association (p = 0.036) between a decrease in Treg frequency during FOLFIRI therapy and overall survival, and an association (p = 0.037) between the frequency of Tregs prior to therapy and progression-free survival. Responders to the chemotherapy by RECIST criteria also had a greater decrease in Tregs during therapy vs. pre-therapy (p = 0.0064) as compared to non-responders. While the number of mCRC patients undergoing chemotherapy in this study is relatively small, it provides the rationale for the use of immunotherapeutics in this first-line metastatic setting.

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.

Recent drug trials have challenged the high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) antiatherosclerotic hypothesis, suggesting that total level of HDL-C may not be the best target for intervention. HDL-C subfractions may be better markers of vascular risk than total levels of HDL-C. The objective of this cross-sectional study was to investigate the relationship between HDL2-C and HDL3-C fractions and carotid intima-media thickness (cIMT) in the population-based Northern Manhattan Study.

We evaluated 988 stroke-free participants (mean age, 66±8 years; 60% women; 66% Hispanic, and 34% non-Hispanic) with available data on HDL-C subfractions using precipitation method and cIMT assessed by a high-resolution carotid ultrasound. The associations between HDL-C subfractions and cIMT were analyzed by multiple linear regression models.

The mean HDL2-C was 14±8 mg/dL, HDL3-C 32±8 mg/dL, and the mean total HDL-C was 46±14 mg/dL. The mean cIMT was 0.90±0.08 mm. After controlling for demographics and vascular risk factors, HDL2-C and total HDL-C were inversely associated with cIMT (per 2 SDs, β =-0.017, P =0.001 and β =-0.012, P =0.03, respectively). The same inverse association was more pronounced among those with diabetes mellitus (per 2SDs, HDL2-C: β =-0.043, P =0.003 and HDL-C: β =-0.029, P =0.02). HDL3-C was not associated with cIMT.

HDL2-C had greater effect on cIMT than HDL3-C in this large urban population. The effect of HDL2-C was especially pronounced among individuals with diabetes mellitus. More research is needed to determine antiatherosclerotic effects of HDL-C subfractions and their clinical relevance.

Area Epidemiologica 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.

Various metals have demonstrated genotoxic and carcinogenic potential via different mechanisms. Until now, biomonitoring and epidemiological studies have been carried out to assess the genotoxic risk to exposed human populations. In this sense, the use of the micronucleus assay in peripheral blood lymphocytes has proven to be a useful tool to determine increased levels of DNA damage, as a surrogate biomarker of cancer risk. Here we review those biomonitoring studies focused on people exposed to arsenic, chromium, nickel, vanadium and complex mixtures of metals. Only those studies that used the frequency of micronuclei in binucleated (BNMN) cells have been taken into consideration, although the inclusion of other biomarkers of exposure and genotoxicity are also reflected and discussed. Regarding arsenic, most of the occupational and environmental biomonitoring studies find an increase in BNMN among the exposed individuals. Thus, it seems conclusive that arsenic exposure increases the risk of exposed human populations. However, a lack of correlation between the level of exposure and the increase in BNMN is also common, and a limited number of studies evaluated the genotype as a risk modulator. As for chromium, a BNMN increase in occupationally exposed subjects and a correlation between level of exposure and effect is found consistently in the available literature. However, the quality score of the studies is only medium-low. On the other hand, the studies evaluating nickel and vanadium are scarce and lacks a correct characterization of the individual exposure, which difficult the building of clear conclusions. Finally, several studies with

medium-high quality scores evaluated a more realistic scenario of exposure which takes into account a mixture of metals. Among them, those which correctly characterized and measured the exposure were able to find association with the level of BNMN. Also, several genes associated with DNA damage repair such as OGG1 and XRCC1 were found to influence the exposure effect.

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.

Lung cancer risk associated with occupational cleaning activities has been investigated in the population-based case-control study ICARE.

Occupational history was collected by standardized interviews. Jobs were first defined according to the International Standard Classification of Occupations (ISCO) codes and then categorized according to activity sectors. Adjusted odds ratios (ORs) were estimated by unconditional logistic regression, separately for women (619 cases and 760 controls) and men (2265 and 2780).

Thirty percent of women and 2.3% of men controls ever held a cleaner or care job. Women who worked as housemaids longer than 7 years showed an OR of 1.76 [95% confidence interval (95% CI) 1.09 to 2.87] with respect to controls. Women employed in domestic service sector for a long time had an OR of 2.06 (95% CI 1.15 to 3.66). We confirmed and redefined the association of lung cancer with occupational cleaning, which concerns a considerable proportion of women workers.

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, Wünsch-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.

Cigarette smoking is a major risk factor for head and neck cancer (HNC). To our knowledge, low cigarette smoking (<10 cigarettes per day) has not been extensively investigated in fine categories or among never alcohol drinkers.

We conducted a pooled analysis of individual participant data from 23 independent case-control studies including 19660 HNC cases and 25566 controls. After exclusion of subjects using other tobacco products including cigars, pipes, snuffed or chewed tobacco and straw cigarettes (tobacco product used in Brazil), as well as subjects smoking more than 10 cigarettes per day, 4093 HNC cases and 13416 controls were included in the analysis. The lifetime average frequency of cigarette consumption was categorized as follows: never cigarette users, >0-3, >3-5, >5-10 cigarettes per day.

Smoking >0-3 cigarettes per day was associated with a 50% increased risk of HNC in the study population [odds ratio (OR)= 1.52, 95% confidence interval (CI): (1.21, 1.90)]. Smoking >3-5 cigarettes per day was associated in each subgroup from OR=2.01 (95% CI: 1.22, 3.31) among never alcohol drinkers to OR=2.74 (95% CI: 2.01, 3.74) among women and in each cancer site, particularly laryngeal cancer (OR=3.48, 95% CI: 2.40, 5.05). However, the observed increased risk of HNC for low smoking frequency was not found among smokers with smoking duration shorter than 20 years.

Our results suggest a public health message that low frequency of cigarette consumption

contributes to the development of HNC. However, smoking duration seems to play at least an equal or a stronger role in the development of HNC.

Bolognesi C, Knasmueller S, Nersesyan A, Roggieri P, Ceppi M, Bruzzzone 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]

The buccal micronucleus cytome (BMNcyt) assay in uncultured exfoliated epithelial cells from oral mucosa is widely applied in biomonitoring human exposures to genotoxic agents and is also proposed as a suitable test for prescreening and follow-up of precancerous oral lesions. The main limitation of the assay is the large variability observed in the baseline values of micronuclei (MNI) and other nuclear anomalies mainly related to different scoring criteria. The aim of this international collaborative study, involving laboratories with different level of experience, was to evaluate the inter- and intra-laboratory variations in the BMNcyt parameters, using recently implemented guidelines, in scoring cells from the same pooled samples obtained from healthy subjects (control group) and from cancer patients undergoing radiotherapy (treated group). The results indicate that all laboratories correctly discriminated samples from the two groups by a significant increase of micronucleus (MN) and nuclear bud (NBUD) frequencies and differentiated binucleated (BN) cells, associated with the exposure to ionizing radiation. The experience of the laboratories was shown to play an important role in the identification of the different cell types and nuclear anomalies. MN frequency in differentiated mononucleated (MONO) and BN cells showed the greatest consistency among the laboratories and low variability was also detected in the frequencies of MONO and BN cells. A larger variability was observed in classifying the different cell types, indicating the subjectivity in the interpretation of some of the scoring criteria while reproducibility of the results between scoring sessions was very good. An inter-laboratory calibration exercise is strongly recommended before starting studies with BMNcyt assay involving multiple research centers.

Bolognesi C, Migliore L, Lista F, Caroli S, Patriarca M, De Angelis R, Capocaccia R, Amadori S, Puliero 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.

Leukemia/lymphoma cases reported in 2001 among United Nation soldiers or peacekeepers deployed to the Balkans aroused alert on the exposure to depleted uranium. Recent epidemiological studies carried out in different European countries among peacekeepers who served in the Balkans failed to demonstrate a higher than expected risk of all cancers but, mostly due to their limitations in size and follow up time, leave open the debate on health risk of depleted uranium. The aim of SIGNUM (Study of the Genotoxic Impact in Military Units) was to identify potential genotoxic risk associated with the exposure to depleted uranium or other pollutants in the Italian Army military personnel deployed in Iraq.

Blood and urine samples were collected before and after the deployment from 981 Italian soldiers operating in Iraq in 2004-2005. As, Cd, Mo, Ni, Pb, U, V, W, and Zr were determined in urine and serum. DNA-adducts, 8-hydroxy-2'-deoxyguanine and micronuclei frequency were evaluated in blood lymphocytes. Three different genetic polymorphisms, GSTM1, XRCC1, OGG1 were analyzed.

Significant T0-T1 reduction in the total concentration of uranium, increases for Cd, Mo, Ni, Zr, and decreases for As, Pb, W, and V in urine and plasma were observed. Increases in oxidative alterations and in micronuclei frequency, included in the range of values of non-occupationally exposed

populations, were observed at the end of the period of employment.

Our results did not detect any toxicologically relevant variation of DNA-damage biomarkers related to the deployment in the operational theater.

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.

Airborne particles are small, solid particles projected into the air either by natural forces, or by mechanical or man-made processes, and include fibers and dusts. Their toxicity is usually subsequent to inhalation and can lead to pulmonary dysfunctions and diseases, including cancer. Cytochalasin B blocked micronucleus assay in lymphocytes (L-CBMN) has been shown as a sensitive and reliable technique in assessing genotoxic exposure. An extensive search of the PubMed and Web of Science databases allowed retrieval of 18 articles on occupational or environmental exposure evaluating L-CBMN in subjects exposed to fibers or dusts (asbestos, silica, rockwool, beryllium, tobacco, and wood). For each study, mean L-CBMN levels were compared in exposed subjects vs. unexposed controls providing a point estimate, the Mean Ratio (MR). The high heterogeneity among retrieved studies and their relatively limited number did not allow a quantitative meta-analysis. However, the inter-quartile range of all MRs fell within the interval between 1.25 and 2.23, supporting the hypothesis that exposure to airborne particles increases DNA damage, although mechanisms of genotoxicity should be further investigated. A borderline significant correlation was found with SCE, but not with chromosome aberrations or comet assay. Future research should focus on exposure assessment, in order to perform proper dose-response studies and disentangle the effect of different compounds in mixed exposures. To fully exploit the cytome assay, L-CBMN frequency should be integrated with other endpoints, such as nucleoplasmic bridges and nuclear buds. The use of alternative tissues, such as nasal and buccal mucosa, and the implementation of other cytogenetic assay, may help to understand the effects of this exposure.

Chiappetta M, Rosella F, Dall'armi V, Pomes LM, Petracca Ciavarella L, Nachira D, Pirronti 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.

To evaluate variables that could predict diagnosis during CT-guided fine-needle aspiration.

Data from 249 patients who underwent FNAB from January 2010 to December 2012 were analyzed in a retrospective observational study.

Mean age was 66.7 ± 11.5 years, male/female ratio 158/91 (63 vs. 37 %). The nodules were in right lung in 123 patients (49 %), in left lung in 126 patients (51 %), the upper, lower and middle lobe localizations were, respectively in 122 (49 %), 100 (40 %) and 17 (6 %) patients. Mean nodule-chest wall distance was 63.89 ± 21.38 mm. The tumor location, the needle diameter, the presence of necrosis or cavitation, the node-chest wall distance and the number of passages were not related to the diagnostic outcome ($p = \text{NS}$). The nodule diameter was predictive of diagnosis. Odds ratio for a 10-30 mm tumor was 2.51 (95 % OR: 1.24-5.08, p value = 0.011), the odds ratio for a 30-50 mm tumor was 2.39 (95 % OR: 1.22-4.69, p value = 0.011), and the odds ratio for a tumor larger than 50 mm was 4.44 (95 % OR: 1.89-10.44, p value = 0.001). Post-procedure pneumothorax occurred in 62 cases (25 %). The determinant factors for pneumothorax occurrence were emphysema, odds ratio 6.87 (95 % CI 1.07-44.10, p value = 0.04), and the number of pleural passages, odds ratio of 5.47 (95 % OR: 1.92-15.58), 7.44 (95 % OR: 2.58-21.5), 6.13 (95 % OR: 2.07-18.11) p value = 0.001 for one, two, three or more of three passages, respectively.

In our experience, nodule size is the most important diagnostic factor during fine-needle aspiration,

while the number of passages and the presence of emphysema constitute risk factors for pneumothorax occurrence.

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.

Styrene is a building-block of several compounds used in a wide array of materials and products. The most important human exposure to this substance occurs in industrial settings, especially among reinforced-plastics industry workers. The effect of occupational exposure to styrene on cytogenetics biomarkers has been previously reviewed with positive association observed for chromosomal aberrations, and inconclusive data for the micronucleus assay. Some limitations were noted in those studies, including inadequate exposure assessment and poor epidemiological design. Furthermore, in earlier studies micronuclei frequency was measured with protocols not as reliable as cytokinesis-block micronucleus (CBMN) assay. Aim of the present systematic review and meta-analysis is to investigate genomic instability and DNA damage as measured by the CBMN assay in lymphocytes of subjects exposed to styrene. A total of 11 studies published between 2004 and 2012 were included in the meta-analysis encompassing 479 styrene-exposed workers and 510 controls. The quality of each study was estimated by a quality scoring system which ranked studies according to the consideration of major confounders, exposure characterization, and technical parameters. An overall increase of micronuclei frequencies was found in styrene-exposure workers when compared to referents (meta-MR 1.34; 95% CI 1.18-1.52), with significant increases achieved in six individual studies. The consistency of results in individual studies, the independence of this result from major confounding factors and from the quality of the study strengthens the reliability of risk estimates and supports the use of the CBMN assay in monitoring genetic risk in styrene workers.

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.

The purpose of this review is to summarise current knowledge on the molecular mechanisms by which in vivo exposure to exogenous chemical genotoxins in humans induces micronuclei (MNI) and other nuclear anomalies in lymphocytes in vivo and ex vivo after nuclear division in vitro. MNI originate from acentric chromosome fragments and/or whole chromosomes that are unable to engage with the mitotic spindle and/or fail to segregate properly to the daughter nuclei during anaphase. The lagging fragments or whole chromosomes are surrounded by membrane and become MNI. Acentric fragments are caused by failure of repair or mis-repair of DNA strand breaks which may be induced by chemicals that (i) damage the phosphodiester backbone of DNA, and/or (ii) inhibit the DNA damage response mechanisms or repair of DNA strand breaks and/or (iii) cause DNA replication stress due to DNA adduct or cross-link formation. MNI originating from lagging whole chromosomes may be induced by chemicals that cause defects in centromeres or the mitotic machinery. Mis-repair of chemically-induced DNA breaks may also cause formation of dicentric chromosomes and nucleoplasmic bridges (NPBs) between daughter nuclei in mitosis. NPBs may break and initiate recurring breakage-fusion-bridge cycles and chromosomal instability. The review also explores knowledge on (i) the routes by which lymphocytes in the human body may be exposed to genotoxic chemicals, (ii) kinetics of MNI expression in lymphocytes in vivo and ex vivo in the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus (L-CBMN) assay and (iii) current evidence on the efficiency of the L-CBMN assay in detecting in vivo exposure to chemical genotoxins and its concordance with MNI expression in epithelial tissues. The review also identifies important knowledge gaps (e.g. effect of nanomaterials;

interactions with nutritional deficiencies etc.) regarding mechanisms by which in vivo chemical genotoxin exposure may cause MNi formation in lymphocytes in vivo and ex vivo in lymphocytes.

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.

Biomonitoring is currently applied in the estimation of health risks after overexposure to ionizing radiation (IR). The aim of this study was to compare the association of dicentric chromosomes and acentric fragments (AF) with cancer risk in subjects exposed to IR, as well as in control subjects.

The study was performed on 3,574 subjects (2,030 subjects exposed to IR and 1,544 control subjects). The mean follow-up period was 8 years.

In subjects reporting exposure to IR, the presence of AFs and dicentric chromosomes was associated with a significant increase in cancer risk, hazard ratio (HR)=1.78 (95% confidence interval (CI)=1.01-3.13) and HR=1.73 (95% CI=1.03-2.90), respectively.

AFs are associated with cancer risk and have a similar sensitivity to dicentric chromosomes in subjects exposed to IR. Because automated AF scoring can be easily introduced using fast flow cytometry combined with the pan-centromere staining, this biomarker may hold promise as a potential sensitive biomarker of exposure to IR and cancer risk.

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.

Most patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) share many risk factors and similar aetiological agents with erectile dysfunction (ED). Both conditions also cause serious interference with quality of life and sexual relationships. In general, ageing and chronic illness decrease sexual interest, sexual function, and testosterone levels. This observational study included 66 male patients referred to our centre with different grades of COPD. We studied the different correlations between COPD and ED. The data collected from each patient regarded the following features: demographic and social condition; smoking status; clinical status; spirometric measurements. In this group, COPD was diagnosed in 78.8% and ED was present in 83.3% with increased severity in presence of LUTS and nicotineism.

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.

Most patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) share many risk factors and similar aetiological agents with erectile dysfunction (ED). Both conditions also cause serious interference with quality of life and sexual relationships. In general, ageing and chronic illness decrease sexual interest, sexual function, and testosterone levels. This observational study included 66 male patients referred to our centre with different grades of COPD. We studied the different correlations between COPD and ED. The data collected from each patient regarded the following features: demographic and social condition; smoking status; clinical status; spirometric measurements. In this group, COPD was diagnosed in 78.8% and ED was present in 83.3% with increased severity in presence of LUTS and nicotineism.

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.

Frailty is a geriatric syndrome characterized by multi system dysregulation. It has been suggested that chronic inflammation may be involved in the pathogenesis of frailty. No study so far has identified accurate, specific and sensitive molecular biomarkers for frailty. High-temperature requirement serine protease A1 (HtrA1) is a secreted multidomain serine protease implicated in the inhibition of signaling of active transforming growth factor- β (TGF- β)1, a cytokine which has an important anti-inflammation role. The aim of the present study was to investigate the association of circulating levels of HtrA1 with frailty in a sample of older adults. The study was performed in 120 older adults aged >65years and admitted to a geriatric outpatient clinic. The frailty status of participants was assessed by both the Fried's criteria (physical frailty, PF) and a modified Rockwood's frailty index (FI). Plasma HtrA1 concentration was measured using commercial ELISA kit. Frailty was identified in 61/120 participants (50.8%) using PF, and in 60/118 subjects (50.8%) using FI. Plasma levels of HtrA1 were significantly higher in individuals classified as frail according to PF (75.9ng/mL, 95% CI 67.4-85.6) as compared with non-frail participants (48.4ng/mL, 95% CI 42.5-54.6, $p < 0.001$). A significant association was also observed between frailty, assessed by FI, and HtrA1 levels (72.2ng/mL, 95% CI 63.4-82.3, vs. 50.4ng/mL, 95% CI 44.3-58.0, $p < 0.001$). These associations were confirmed after adjusting for potential confounders. This study demonstrates for the first time the association of plasma levels of HtrA1 with frailty status. Future investigations are needed to validate the potential value of HtrA1 as possible biomarker for frailty.

Nersesyanyan A, Fenech M, Bolognesi C, Mišik M, Setayesh T, Wultsch 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.

This article concerns the use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus (CBMN) assay in biomonitoring of occupational and environmental exposures to genotoxic agents. Furthermore, we evaluated the use of this method in different exposure scenarios, in comparison to other DNA damage biomarkers and its regional distribution. So far ca. 400 studies have been published and the number increased substantially in the last years. The most frequently investigated groups are hospital personnel, followed by workers in the chemical industry and agricultural workers. The lymphocyte CBMN assay is more frequently used in occupational studies than MN assays with epithelial cells and other methods, such as chromosomal aberration analyses, Comet assay and DNA-adduct measurements. The use of probes which enable the discrimination between MN containing chromosome fragments and whole chromosomes allows the identification of the molecular mechanisms of MN formation. Most studies were performed in Europe and Asia (ca. 65% and 25%, respectively). Important future developments will be the evaluation of the biological consequences of formation of additional nuclear endpoints (e.g. nucleoplasmic bridges), the improvement of the understanding of the health consequences of their formation, and the use of automated scoring devices. Future applications of the CBMN assay should address new emerging problems, e.g. the potential genotoxic damage induced by the use of nanoparticles and mobile phones. The control of occupational exposures to chemical genotoxins is currently based on chemical measurements which do not reflect interactions of individual factors and the inclusion of the lymphocyte CBMN assay in routine surveillance of workers could contribute substantially to the prevention of adverse health effects.

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.

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma are lung inflammatory diseases that represent major public health problems. The primary, and often unique, method to evaluate lung function is spirometry, which reflects disease severity rather than disease activity. Moreover, its measurements strictly depend on patient's compliance, physician's expertise and data interpretation. The limitations of clinical history and pulmonary function tests have encouraged focusing on new possible tracers of diseases. The increase of the inflammatory response in the lungs represents an early pathological event, so biological markers related to inflammation may play key roles in earlier diagnosis, evaluation of functional impairment and prognosis. Biomarkers are measurable indicators associated with the presence and/or severity of a biological or pathogenic process, which may predict functional impairment, prognosis and response to therapy. The traditional approach based on invasive techniques (bronchoalveolar lavage and biopsies) may be replaced, at least in part, by using less invasive methods to collect specimens (sputum and blood), in which biomarkers could be measured. Proteomics, by the association between different protein profiles and pathogenic processes, is gaining an important role in pulmonary medicine allowing a more precise discrimination between patients with different outcomes and response to therapy. The aim of this review was to evaluate the use of biomarkers of airway inflammation in the context of both research and clinical practice.

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.

Clinical practice requires an accurate psychological assessment of subjects with clinical history of alcohol abuse and/or substance abuse (abuse history [AH]) for therapeutic choice. This study aims to identify significant correlations between the Minnesota Multiphasic Personality Inventory (MMPI)-2 scales in patients awaiting liver transplantation.

We evaluated a personality questionnaire containing MMPI-2 scales in the sample of 308 patients (81.8% males and 18.2% females) awaiting liver transplantation. The AH group composed 44.49% of patients and in the abuse free (AF) group, 55.51%. Scales were compared using Shapiro-Wilk test and Mann-Whitney U test. Interrelationships were examined using Spearman's correlation.

This analysis found 27 scales of the MMPI-2 that were statistically different between 2 groups (AF and AH). In the AH group, we found a significant correlation between the following pairs of scales: Schizophrenia Scale (Sc) with the Addictions Potential Scale, Social Introversion scale (Si) with the Psychopathic Deviate scale (Pd), and Social Discomfort scale with Pd; the ES scale was negatively correlated with the Sc and Si scales. This interim study showed that the understanding of these indicators is crucial both for the assessment accuracy and for a prediction of the degree of therapy compliance after the transplantation.

The scales of the MMPI-2 indicated a marked tendency to emotional rigidity, a lack of self-esteem and susceptibility judgment. Social introversion and social discomfort trends lead to impulsive behavior and deviant actions that combine poorly with good compliance with treatment.

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.

Nella pratica clinica dei trapianti d'organo un accurato assessment psicologico-clinico in soggetti con storie di abuso di alcol e/o sostanze (Abuse History, AH) risulta indispensabile per una efficace scelta terapeutica.

L'individuazione di fattori di rischio nella fase di screening, al fine di una valutazione dell'idoneità psicologica al trapianto di fegato e al successivo inserimento in lista d'attesa, appare fondamentale per ridurre la probabilità di incorrere in esiti clinici avversi, che potrebbero portare ad un fallimento

dell'intervento effettuato.

Lo studio pilota condotto da Rocco et al. (2016) presso la U.O.S.D. di Psicologia – Area Trapianti – della A.O. S. Camillo-Forlanini di Roma, è nato dalla necessità di identificare, all'interno di una popolazione di pazienti in attesa di trapianto di fegato, con o senza una storia di dipendenza in anamnesi (AF e AH), possibili indicatori clinici in grado di predire il livello di compliance dei pazienti al trapianto e alle terapie successive, mediante il questionario di personalità Minnesota Multiphasic Personality Inventory-II (MMPI-II).

I punteggi delle scale MMPI-II sono stati sottoposti ai test statistici di Shapiro-Wilk, Mann-Whitney e correlazione di Spearman.

27 scale dell'MMPI-2 hanno mostrato valori statisticamente differenti tra i due gruppi AF e AH.

Nel gruppo AH sono risultate correlate, in modo significativo, le seguenti coppie di scale: Sc e APS, Si e Pd, SOD e Pd; inoltre la scala ES ha mostrato una correlazione negativa con le scale Sc e Si.

Le correlazioni evidenziate indicano nei soggetti AH una tendenza alla rigidità emotiva, una carenza dell'autostima e suscettibilità al giudizio. Inoltre, le tendenze all'introversione sociale e al disagio sociale portano tali soggetti a mettere in atto comportamenti impulsivi e devianti che mal si combinano con una buona compliance alle terapie.

Lo studio condotto ha evidenziato come la valutazione di tali indicatori psicologici risulti necessaria sia per l'accuratezza dell'assessment psicologico-clinico, nell'ottica di una medicina Predittiva, Personalizzata, Preventiva, Partecipatoria e Psico-cognitiva (5P), e sia come predittore del grado di compliance alla terapia dopo il trapianto di fegato.

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]

Cholinergic transmission loss is one of the major features in Alzheimer's Disease (AD). Acetylcholinesterase inhibitors (AChEI) are moderately active in AD. $\alpha 7$ nAChR (nicotinic acetylcholine receptor), encoded by CHRNA7, is involved in the cholinergic neurotransmission and AD pathogenesis. $\alpha 7$ nAChR is a putative receptor of amyloid beta (A β). The complex $\alpha 7$ nAChR-A β is found in neuritic plaques and AD cortical neurons. In normal physiologic conditions, $\alpha 7$ nAChR-A β interaction leads to receptor activation. Genetic polymorphisms (SNPs) of CHRNA7 and/or CHRFAM7A (fusion gene containing CHRNA7 partial duplication) may be a possible susceptibility trait to dementia, potentially useful to identify high risk or responder individuals. CHRFAM7A-2-bp deletion or CHRNA7 SNPs (rs1514246, rs2337506, rs8027814) seem protective factors in different forms of dementia including AD. Among the leading AD therapeutics, Donepezil (DP) and galantamine (AChEI) induce upregulation of $\alpha 7$ nAChR protein levels, protecting neurons from degeneration. Patients carrying rs8024987 (C/G) or rs6494223 (C/T) respond better to AChEI. In the caucasian population rs6494223 TT subjects are 7-15% of the total. $\alpha 7$ nAChR upregulation induced by DP is higher in lymphocytes from TT subjects than in CC or CT as well as calcium uptake. The correlation between genetic and functionality data may have an impact on several aspects of disease presentation and therapy, helping in prediction pattern of AD presentation and treatment efficacy. As a consequence it may lead to better patients quality of life and longer periods of self-sufficiency. Moreover, may contribute to clarify AChEI mechanisms of action.



LINEA 3

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

Validazione di biomarcatori molecolari di danno cromosomico e di suscettibilità genetica come predittori di malattia, di sopravvivenza e di efficacia nel trattamento riabilitativo

La misurazione del micronucleo (MN) frequenza nei linfociti del sangue periferico e nelle cellule esfoliate è una tecnica ampiamente utilizzata in epidemiologia molecolare e citogenetica per valutare la presenza e l'entità del danno cromosomico in popolazioni umane esposte ad agenti genotossici o con un profilo genetico di suscettibilità. I MN si formano da frammenti di cromosoma o da cromosomi interi che non rimangono inclusi nei nuclei figli durante la divisione nucleare. La formazione di MN nelle cellule in divisione è il risultato di rotture cromosomiche dovute a lesioni del DNA, non riparate o mal riparate, o di una segregazione anomala dei cromosomi a causa di un malfunzionamento mitotico. Tutti questi eventi possono provocare la formazione di MN, un'alterata espressione dei geni o aneuploidia. Tali effetti sono associati al fenotipo d'instabilità cromosomica spesso osservato nel cancro (Bonassi et al., 2007). La maggior parte di queste evidenze nascono dallo studio della formazione di MN nei linfociti, ma la stretta associazione tra questo endpoint e lo stesso evento studiato in cellule esfoliate, permette di applicare gli stessi modelli di entrambe le condizioni.

Lo studio è condotto per valutare l'ipotesi che la frequenza di MN in cellule esfoliate della mucosa buccale sia predittiva del rischio di cancro. L'ipotesi in studio sarà testata tramite la conduzione di uno studio di coorte storico. La definizione della coorte è ottenuta tramite l'avvio di progetti collaborativi internazionali che permettono il raggiungimento delle dimensioni necessarie.

Circa 50 laboratori coinvolti attivamente nella prima parte del progetto HUMNxl sono stati invitati a contribuire con individui da inserire nello studio di coorte, in attesa di verificare la disponibilità di dati che permettano l'identificazione personale, e che venga verificata l'esistenza di un collegamento con i registri tumore a livello locale o nazionale. Una dimensione arbitrariamente scelta di almeno 50 soggetti analizzati nello stesso laboratorio (anche in diversi studi) è stata identificata come requisito minimo del contributo di ogni laboratorio per essere incluso nella coorte. Una descrizione dettagliata del protocollo, utilizzato per la misurazione della frequenza di MN in cellule esfoliate della mucosa boccale, è stata raccolta per ciascun laboratorio, contribuendo a costituire un database che sarà prossimamente valutato dal comitato direttivo HUMNxl per valutare la conformità con la metodologia standard. Solo frequenze di MN basate sulla lettura di almeno 1000 cellule sono state prese in considerazione per l'inserimento nella coorte. I soggetti candidati per l'inclusione sono selezionati da studi ad hoc o di sorveglianza, oppure sono stati inseriti negli studi come popolazione di controllo non esposta.

Tutti i soggetti inclusi nella coorte HUMNxl sono classificati in base ad un codice valido di identificazione personale, devono avere almeno 15 anni, e devono essere liberi da cancro al momento del test citogenetico. Il protocollo dello studio è stato approvato dai comitati etici dell'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma e dell'Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro di Genova, che si occupa dell'analisi statistica dei dati.

Una volta completata la coorte, l'effetto dell'instabilità genetica sull'incidenza del cancro è valutata confrontando i tassi di incidenza del cancro con la frequenza di MN, dopo aggiustamento per gli effetti confondenti di età, sesso, abitudine al fumo ed esposizione professionale ad agenti cancerogeni o mutageni. I software statistici utilizzati per la creazione e gestione della coorte sono Excel, Access, SPSS e STATA.

Applicazione di un approccio di systems medicine nelle malattie croniche non trasmissibili: Implementazione di una piattaforma integrata di dati clinici, epidemiologici e biologici. Già: Piattaforma San Raffaele per le Malattie Non Trasmissibili

Le malattie croniche non trasmissibili (NCDs) sono multifattoriali e sono causate da complesse interazioni gene-ambiente che agiscono lungo l'intero corso della vita dallo stadio fetale all'età senile. In questo contesto, il termine "ambiente" include fattori di rischio e protettivi associati con l'ambiente e lo stile di vita, come il consumo di tabacco, alcool, droghe, la dieta, la sedentarietà, l'inquinamento atmosferico. Anche i determinanti socio-economici sono interconnessi con l'esordio, la progressione, la gravità ed il controllo delle NCDs. La systems medicine accoglie la prospettiva della systems biology allo studio delle patologie, avendo come obiettivo quello di integrare una varietà di dati a tutti i livelli dell'organizzazione cellulare con i dati clinici, ambientali e quelli riguardanti i biomarcatori e a tal fine utilizza la potenza del modeling computazionale e matematico per rendere possibile la comprensione dei meccanismi delle malattie e migliorarne diagnosi, trattamento e prognosi.

Oggi in Italia e in Europa, le malattie del sistema respiratorio costituiscono la terza causa di morte dopo i tumori e le malattie cardiocircolatorie. Per la loro elevata incidenza e prevalenza, rappresentano una delle più frequenti cause di malattia e invalidità, comportando un notevole carico assistenziale per la società. Nel 2020, 11.9 milioni di decessi su 68 milioni a livello mondiale saranno causati da malattie polmonari (4.7 da BPCO, 2.5 da polmonite, 2.4 da TB e 2.3 da carcinoma polmonare).

In termini di mortalità, incidenza, prevalenza e costi, le patologie polmonari si trovano al secondo posto a livello globale dopo le malattie cardiovascolari. In alcuni paesi (ad esempio il Regno Unito), esse costituiscono già la principale causa di decesso (fonte: European Lung Foundation, <http://www.it.european-lung-foundation.org/425-patologie-polmonari.htm>). Per quanto riguarda in particolare la situazione italiana, nel mese di gennaio 2008 il Ministero della Salute pubblica la "Relazione sullo stato Sanitario del Paese 2005-2006", nella quale dichiara che le malattie respiratorie "rappresentano per numerosità la 3° causa di morte in Italia, dopo le malattie dell'apparato circolatorio e le neoplasie. La bronchite cronica e l'asma colpiscono più del 20% della popolazione di età superiore ai 65 anni e rappresentano per questa fascia di popolazione la terza causa di patologia cronica, dopo l'artrosi/artrite e l'ipertensione (ISTAT, 2003)". Il 50% dei decessi per cause respiratorie è attribuibile alla Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO) (ISTAT, Cause di Morte, 2002, 2005), ma l'effetto più drammatico che questa patologia si evince quando si considera che nei prossimi decenni essa sia destinata a divenire la quinta causa di disabilità a livello mondiale, valutata in termini di DALYs -disability-adjusted life years (OMS, Ginevra). "In età geriatrica infatti la BPCO grave si associa a comorbidità e contribuisce in maniera significativa alla perdita di autosufficienza ed alla fragilità dell'anziano, specialmente a causa di importanti limitazioni dello stato funzionale, deterioramento cognitivo, problemi comportamentali e alterazioni del tono dell'umore. È evidente, quindi, che la patologia respiratoria cronica ostruttiva ha un grande impatto socio-economico sull'individuo ma anche sull'intera società soprattutto a causa dei ricoveri ospedalieri e di terapie complesse e costose (compresa l'ossigenoterapia domiciliare a lungo termine e la nider standing 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 Salute, "Relazione sullo stato Sanitario del Paese 2005-2006").

Inoltre, in base al documento http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1690_allegato.pdf del Ministero della Salute nel 2011 (Pubblicazione a cura di Dir. Gen. Della Programmazione sanitaria, Ufficio VI – Federalismo) in Italia ci sono stati 111.700 DRG attribuiti ad Insufficienza Respiratoria (quinto posto fra le cause di ricovero). Il fenomeno dell'invecchiamento della popolazione e l'aumentata esposizione ai principali fattori di rischio, quali il fumo di sigaretta e i componenti dell'inquinamento atmosferico, rendono l'incidenza delle malattie respiratorie in continua crescita. In questo contesto si colloca l'importanza di attuare programmi di riabilitazione respiratoria, universalmente accettati come parte integrante del trattamento clinico dei pazienti affetti da patologie respiratorie

in continua crescita. In questo contesto si colloca l'importanza di attuare programmi di riabilitazione respiratoria, universalmente accettati come parte integrante del trattamento clinico dei pazienti affetti da patologie respiratorie croniche, che, nonostante il trattamento medico standard, rimangono sintomatici e spesso limitati nelle attività della vita quotidiana. La riabilitazione respiratoria consiste, infatti, in un intervento globale e multidisciplinare basato sull'evidenza dei benefici sui pazienti in base a parametri di efficacia oggettivi e quantificabili, volto a ridurre i sintomi, ottimizzare lo stato funzionale, aumentare la partecipazione e ridurre il consumo di risorse sanitarie attraverso la stabilizzazione o il miglioramento della malattia. Evidenze scientifiche dimostrano la capacità dei programmi di riabilitazione respiratoria di apportare effetti benefici sulla dispnea e di migliorare il controllo di determinate patologie, come la BPCO.

Obiettivo del presente studio è la prevenzione delle complicanze infettive e riduzione dei tempi di degenza, favorendo quindi la transizione verso reparti a più basso livello assistenziale. I mezzi con cui si cerca di raggiungere ciò sono i cambiamenti di postura, le manovre di reclutamento alveolare, le tecniche di disostruzione bronchiale, l'allenamento dei muscoli respiratori, il ricondizionamento allo sforzo, lo svezzamento dalla ventilazione meccanica. La complessità delle patologie trattate nei reparti rende necessario un approccio di tipo sistemico che consente di tenere in considerazione e di integrare una molteplicità di fattori. Raramente, infatti, un singolo fattore è implicato come unico predittore dello sviluppo della patologia, piuttosto questa si evolve proprio dall'integrazione di più fattori concomitanti. Di conseguenza, in tali casi, si rivela maggiormente adatta una prospettiva sistemica che permette di prendere in esame una mole di dati notevole, provenienti da diverse fonti, al fine di formulare modelli computazionali che tengono conto di informazioni di diversa natura.

Sono stati inclusi pazienti afferenti al reparto di Pneumologia Riabilitativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana. Sono stati somministrati questionari epidemiologici, scale cliniche, oltre ad una dettagliata anamnesi prossima e remota. Tutti i soggetti inclusi hanno donato campioni di sangue (aliquotato in plasma, sangue intero, plasma e linfociti isolati e di urina).

Nella piattaforma sono stati inseriti 106 pazienti con dati completi, relativi all'ammissione e alla dimissione dopo tre settimane di trattamento riabilitativo (Tabelle 1-5). Il primo passaggio condotto sui pazienti inseriti nell'analisi, dopo le valutazioni descrittive riportate in precedenti report, è stata l'identificazione di criteri univoci che permettessero di identificare i pazienti rispondenti al trattamento. A questo scopo è stato utilizzato un articolo scientifico i cui risultati sono regolarmente utilizzati anche da agenzie e associazioni come l'European Respiratory Society, per l'identificazione di livelli di riferimento (Polkey et al. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013, 187:382-6). Per garantire una valutazione della risposta basata su un parametro più globale rispetto alla FEV1, è stato utilizzato il 6 minutes walking test (6MWT). Per ogni paziente sono stati raccolti come da protocollo alcune centinaia di items. Sono stati considerati responders al trattamento riabilitativo, condotto nel corso di tre settimane presso la struttura dell'IRCCS San Raffaele Pisana, coloro che aumentavano la loro performance nel 6MWT dopo il trattamento di almeno 30 metri, come indicato nel paper succitato. La suddivisione fra pazienti responders (>30 metri dopo riabilitazione) e non responders (soggetti con minor beneficio, che includeva anche pazienti con ausili e inizialmente allettati) è risultata in due gruppi rispettivamente di 57 e 37 pazienti. L'età media del gruppo era di 74.2 anni, con i maschi più vecchi di circa due anni, 75.2 contro 73.3 (Non statisticamente significativo). Per consentire una visione complessiva del profilo dei soggetti responders, nelle tabelle successive vengono sintetizzati i principali parametri caratterizzanti dei pazienti in riabilitazione.

Table 1. Caratteristiche demografiche al Baseline dei pazienti afferenti alla Piattaforma del San Raffaele

Subjects	Male	Female
106	48 (45.3%)	58 (54.7%)
Age (years)	72.24 ± 8.57	72.83 ± 8.78
Diagnosis	COPD 90 (84.9%) Others Respiratory disease 13 (12.3%) ILL-Defined Conditions 3 (2.8%)	
Education (years) 9.08 ± 3.96	9.2 ± 4.1	9.04 ± 3.96
New BMI	27.25 ± 4.86 (Light Overweight)	
Marital Status and Family Nucleus		
Never	5.7%	24.5%
Married	52.8%	55.7%
Widow	26.4%	19.9%
Divorced	15.1%	
Smoking Habits Subjects		
Current smokers		16%
Ex smokers		66%
Non smokers		12%
No Reply		6%
Corticosteroids		
Yes 93.3%	No 6.7%	
Oxygen		
Yes 33%	No 77%	
Comorbidity (ICD-9-CM Code)		
Diseases Of The Circulatory System	390-459	77.67%
Endocrine, Nutritional And Metabolic Diseases, And Immunity Disorders	240-279	42.72%
Obesity	278	16.04%
Diseases Of The Genitourinary System	580-629	12.62%
Neoplasms	140-239	5.83%
Mental Disorders	290-319	5.82%

Table 2. Scale Cliniche con valori IN/OUT and Δ (Differenza Valore OUT verso valore IN)

San Raffaele Platform Clinical Scales	Media	SD
SIXMinutesWalkingTest_Admission_DISTANCE mt	88,48	85,02
SIXMinutesWalkingTest_Dismission_DISTANCE mt	176,73	135,44
SixminutesWalkinTest Δ (ValueAtDismission-ValueAt Admission)mt	89,13	86,03
BarthelIndexl_TotalAdmissionScore(100 NormalValue)	66,29	24,07
BarthelIndex_TotalDismissionScore(100 NormalValue)	84,87	17,64
Barthel Δ DismissionValue-AdmissionValue	18,01	14,27
MRC_Admission	4,00	0,00
MRC_Dismission	3,40	0,58
MRC_ Δ Dismission-Admission	-0,60	0,58
BORG_Admission(From0_To10)	7,98	0,94
BORG_Dismission(From0_To10)	5,40	2,55
BORG_ Δ Dismission-Admission	-2,57	2,04
MRF-26_Total Score_Admission	74,01	13,91
MRF-26_Total Score_Dismission	49,48	18,26
Δ MRF-26	-24,26	14,12
StGeorgeScore%_Admission	48,90	15,61
StGeorgeScore%_Dismission	43,71	14,59
Δ StGeorge	-4,65	15,74
ADL_Total Score_Admission	4,93	1,76
ADL_Total Score_Dismission	5,45	1,23
ADL Δ _Dismission-Admission_TotalScore	0,43	1,36
IADL_Total Score_Admission	5,42	2,39
IADL_Total Score_Dismission	6,16	2,18
Δ IADL_Dismission-AdmissionScore	-5,20	2,13
CIRS_Severity	1,62	0,24
CIRS_Comorbidity	2,71	1,49
MMSE (Score_Raw)	27,53	2,65
MOCA_Score	26,31	3,55
BDI-II	13,92	8,42
CES-D	10,55	10,11
ZUNG	28,59	8,30
SF-36_GeneralHealth_From0(poorest QoL)To100(full QoL)		
100 full QoL	72,40	12,03
SF-36_MentalHealth(poorest QoL)To100(full QoL)	62,72	10,08

Table 3. BriefCope Test eseguito all'ammissione (IN)

BRIEFCOPE	Media	SD
BRIEFCOPE_PositiveReframing	4,89	1,75
BRIEFCOPE_Self-distraction	5,00	1,71
BRIEFCOPE_Venting	4,51	1,38
BRIEFCOPE_Use of instrumental support	4,54	1,34
BRIEFCOPE_Active coping	6,53	1,69
BRIEFCOPE_Denial	3,84	1,52
BRIEFCOPE_Religion	4,58	1,69
BRIEFCOPE_Humor	3,75	1,32
BRIEFCOPE_Behavioral disengagement	3,41	1,68
BRIEFCOPE_Use of emotional support	4,36	1,30
BRIEFCOPE_Substance use	2,32	0,84
BRIEFCOPE_Acceptance	5,04	1,61
BRIEFCOPE_Planning	6,32	1,86
BRIEFCOPE_Self-blame	4,42	1,61

Table 4. Parametri ematochimici IN/OUT and Δ

Blood Parameters	Media	St. Dev
RBC_Red Blood Cells_10 ⁶ / μ L_Admission	4,35	0,66
RBC_Red Blood Cells_10 ⁶ / μ L_Dismission	4,27	0,73
Δ	-0,09	0,67
PLT_Platelets_10 ³ / μ L_Admission	517,46	756,06
PLT_Platelets_10 ³ / μ L_Dismission	249,11	428,17
Δ	-24,26	356,42
WBC_White blood Cells_10 ³ / μ L_admission	10,11	3,93
WBC_White blood Cells_10 ³ / μ L_Dismission	9,79	3,32
Δ	-0,36	3,62
Neutrophils_%_Admission	72,82	16,09
Neutrophils_%_dismission	68,52	11,66
Δ	-4,71	12,11
Lymphocytes_%_Admission	17,03	7,80
Lymphocytes_%_Dismission	21,90	9,91
Δ	4,57	14,32
Monocytes_%_Admission	7,75	3,02
Monocytes_%_Dismission	7,63	3,84
Δ	0,09	3,47
Eosinophils_%_Admission	1,25	1,73
Eosinophils_%_Dismission	1,47	1,39
Δ	0,23	1,92
Basophils_%_Admission	0,21	0,23
Basophils_%_Dismission	0,35	0,38
Δ	0,04	0,41
VES_mm/h_Admission	33,07	27,86
VES_mm/h_Dismission	31,09	30,58
Δ	-5,51	27,21
Hgb_Hemoglobin_g/dl_Admission	12,57	1,88
Hgb_Hemoglobin_g/dl_Dismission	12,74	1,63
Δ _Hgb	-0,46	2,12
BloodAstermita.ova_mg/dl_Admission	55,05	28,56
Creatine_mg/dl_Admission	1,83	23,59
Ca ²⁺ _mmol/l_Admission	141,20	3,06
Ca ²⁺ _mmol/l_Admission	4,75	3,95
ALT_GTP_U/l_Admission	17,80	8,01
AST_GOT_U/l_Admission	23,24	14,40
gGT_U/l_Admission	39,95	37,58

Table 5. Parametri ematochimici IN/OUT and Δ

Cardio- Respiratory Parameters	Media	St. Dev
FEV1/FVC%_Admission	48,79	24,03
pH_Admission	7,42	0,03
pH_Dismission	7,43	0,03
Δ pH	0,01	0,04
pO ₂ (mmHg)_Admission	80,60	19,11
pO ₂ (mmHg)_Dismission	79,79	10,69
Δ pO ₂	-1,28	20,84
pCO ₂ (mmHg)_Admission	44,27	7,97
pCO ₂ (mmHg)_Dismission	42,58	8,26
Δ pCO ₂	-1,42	9,14
SpO ₂ %_Admission	95,07	2,57
SpO ₂ %_Dismission	96,03	1,63
Δ SpO ₂	1,95	10,08
HeartRate_bpm_Admission	81,83	12,42
HeartRate_Bpm_dismission	80,12	8,12
Δ HeartRate	-1,59	13,37
BloodPressure_Systolic_mm/hg_Admission	124,47	16,06
BloodPressure_Systolic_mm/Hg_Dismission	123,59	8,78
Δ _BloodPressure_Systolic	0,82	15,87
BloodPressureDiastolic_mm/hg_Admission	73,51	9,39
BloodPressureDiastolic_mm/Hg_Dismission	75,27	6,85
Δ _BloodPressureDiastolic	1,34	12,21

LE ANALISI DEI DATI SONO IN FASE DI COMPLETAMENTO E NEL CORSO DEL 2017 VERRANNO PUBBLICATI.

Caratterizzazione fenotipica dei deficit cognitivi e delle alterazioni metaboliche nei disturbi del neurosviluppo in età evolutiva e confronti con le psicosi in età adulta

Le gravi psicosi sia dell'età evolutiva (autismo) che di quella adulta (schizofrenia) presentano delle sovrapposizioni fenomenologiche, sia a livello fenotipico (deficit cognitivo) che nei possibili modelli fisiopatologici (deficit di connettività neurale). Pertanto appare utile studiare entrambe le patologie sia da un punto di vista genetico che da quello della ricerca di biomarcatori periferici, al fine sia di effettuare una diagnosi sempre più precoce sia di individuare nuovi bersagli terapeutici.

Lo studio si prefigge di indagare il contributo della configurazione genetica alla patogenesi dell'autismo e della schizofrenia con particolare riferimento alle abilità cognitive. Intende inoltre individuare i possibili biomarcatori periferici sia nell'autismo che nella schizofrenia, utili sia per una diagnosi precoce che per una personalizzazione del trattamento.

Vengono effettuati: revisioni sistematiche e meta-analisi sul ruolo del danno ossidativo nell'autismo; analisi sul genoma di soggetti autistici e confronto con controlli sani; analisi di metaboliti periferici in autistici e controlli.

Si procede inoltre con il reclutamento dopo consenso informato di pazienti affetti da schizofrenia, raccolta di campioni ematici, e di informazioni clinico-demografiche, estrazione ed analisi del DNA, sequenziamento genomico ed analisi di eventuali relazioni con le caratteristiche cliniche.

Si è concluso il reclutamento dei pazienti schizofrenici (totale 144). Per ciascun paziente è stato ottenuto un campione di sangue che è stato aliquotato e conservato a -80 C° ; da una di queste aliquote per ogni paziente è stato estratto il DNA. Inoltre tutti i pazienti sono stati caratterizzati secondo un approccio multidimensionale che prevede la raccolta di informazioni socio-demografiche, anamnestiche e sintomatologiche, con particolare riferimento alla funzionalità cognitiva.

Sono state realizzate collaborazioni con università a livello nazionale ed internazionale:

- Istituto di Psichiatria dell'Università di Bologna e Dipartimento di Neuroscienze dell'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri di Milano; nello specifico, sono state inviate, in forma anonimizzata aliquote di DNA di pazienti con psicosi schizofrenica corredate, sempre in forma anonimizzata, da informazioni clinico-epidemiologiche; ciò allo scopo di effettuare una genotipizzazione relativa ad alcuni geni candidati e ad individuare eventuali relazioni con dimensioni sintomatologiche e funzionalità cognitiva. I campioni di DNA di pazienti schizofrenici entreranno in un pool internazionale di campioni che verranno analizzati tramite PsychChip, una nuova piattaforma per analisi genome-wide sviluppata da Illumina in collaborazione con Psychiatric Genetics Consortium (PGC). PsychChip è disegnato individuare le varianti genetiche sia rare che comuni, specifiche per la genetica psichiatrica.

- Laboratorio del Department of Psychiatry and Human Behaviour della University of California, Irvine, CA-USA; nello specifico sono state inviate, in forma anonimizzata, aliquote di DNA di pazienti con psicosi schizofrenica; questi campioni sono stati avviati alla genotipizzazione per mezzo della Illumina Express platform.

- È stata avviata una collaborazione con il Laboratorio di Biogerontologia - CEMI, Dipartimento di Geriatria, Neuroscienze ed Ortopedia, Università Cattolica del Sacro Cuore per uno studio caso-controllo sui telomeri in pazienti schizofrenici. I telomeri sono dei complessi DNA-proteine cruciali per il mantenimento dell'integrità cromosomica; situati all'estremità cromosomica proteggono dalla perdita di DNA cromosomico e nel mantenimento della stabilità genomica. La lunghezza dei telomeri declina con la divisione cellulare e con l'età. Il DNA dei 139 pazienti schizofrenici (122 valutabili) verrà confrontato con DNA di controlli non psichiatrici appaiati per età e genere al fine di evidenziare differenze nella lunghezza dei telomeri. Per i controlli sono stati ottenuti 144 campioni di sangue intero (122 valutabili) dalla collaborazione con la BioBIM, BioDAT dell'IRCCS San Raffaele Pisana. Completata l'estrazione del DNA e terminata la misurazione delle lunghezze telomeriche, i dati sono attualmente in corso di valutazione.

Sono state condotte revisioni sistematiche di letteratura e meta-analisi sul danno ossidativo nell'autismo infantile, con pubblicazione su riviste internazionali.

Sono state condotte revisioni sistematiche di letteratura su biomarcatori periferici nella schizofrenia (proteina S100B nel siero).

Sono state condotte analisi di letteratura al fine di individuare nuove ipotesi di indagine molecolare sulla schizofrenia in prospettiva di disturbo del neuro-sviluppo, in particolare sui micro-RNA e sui telomeri.

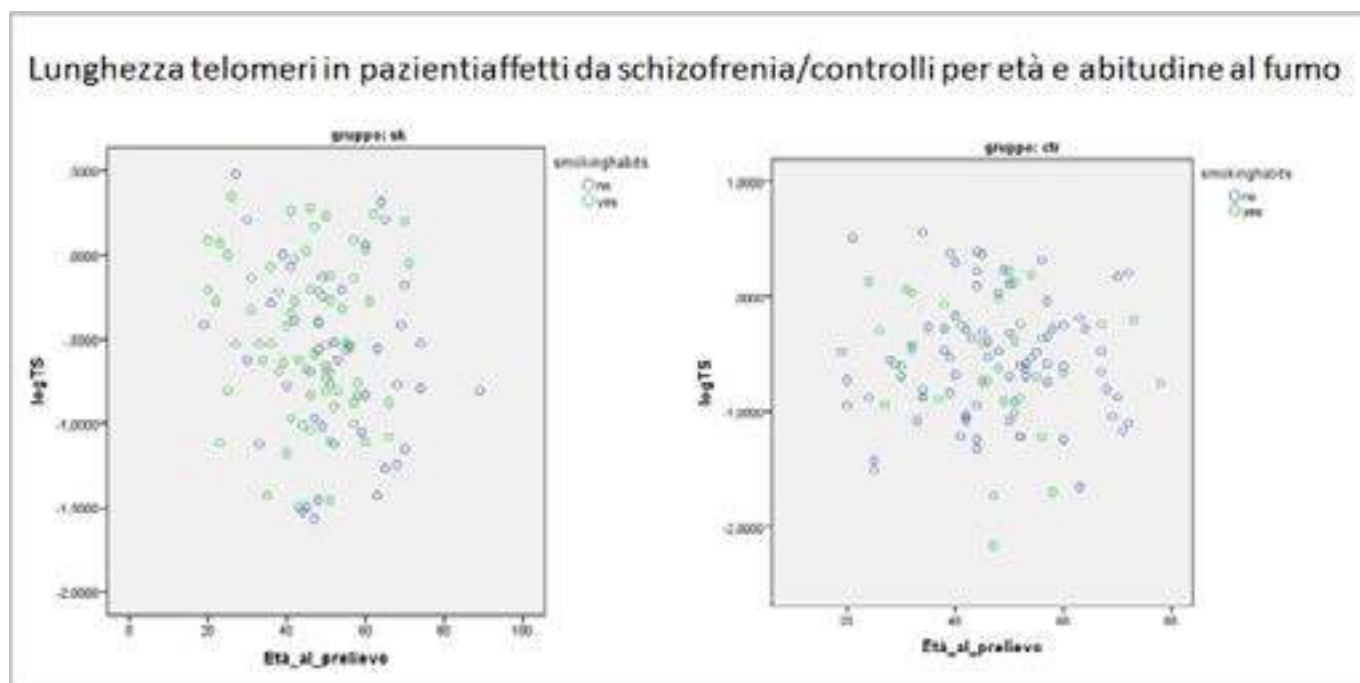
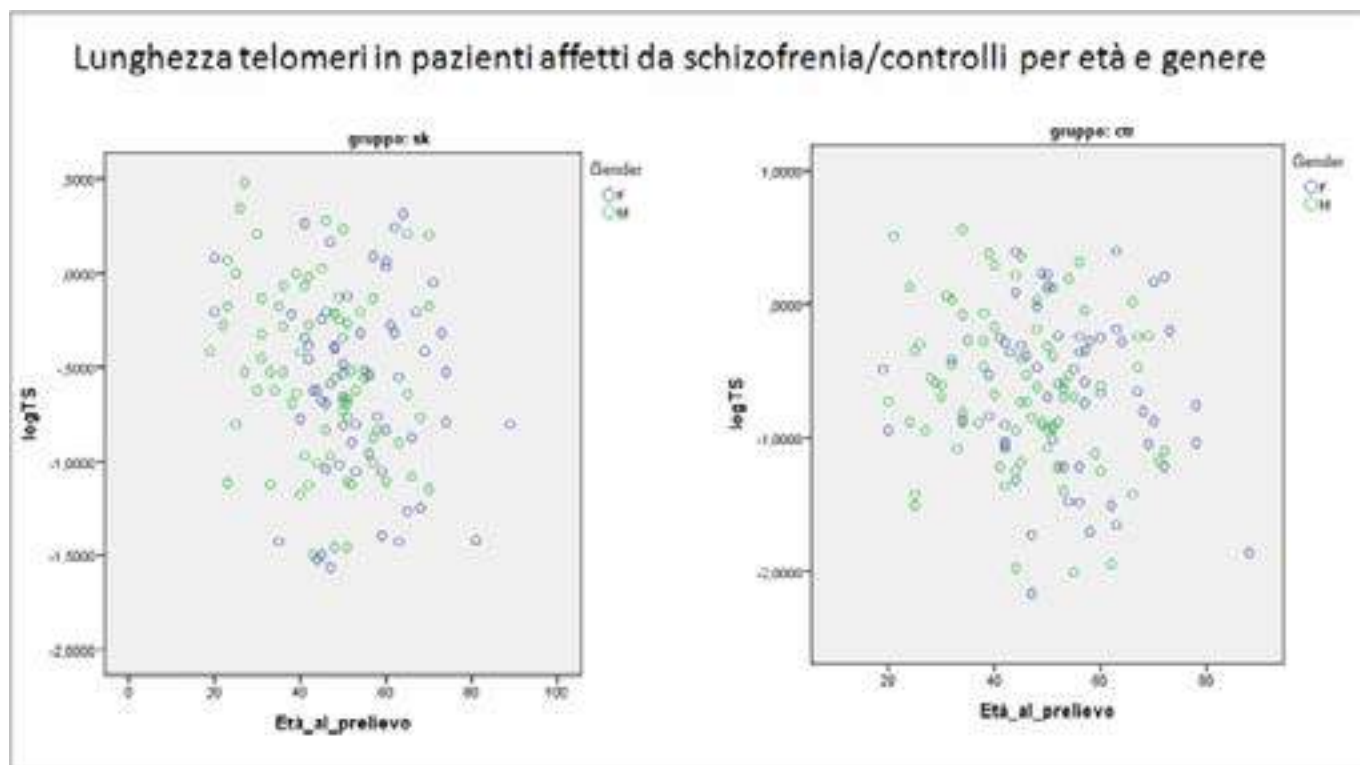
La **Tabella 1** riporta i dati descrittivi della popolazione in esame e il valore medio della lunghezza telomerica nei controlli e nei pazienti con diagnosi di schizofrenia

Variabili	Gruppo	N	Media+SD	p-value
Lunghezza telomerica	sk	133	0.64+0.3	0,263
	ctr	122	0.62+0.34	
Lunghezza telomerica	sk	133	-0.553+0.475	
	ctr	122	-0.63+0.577	
Sesso	M	137 (53.7%)		
	F	118 (46.3%)		
Età al prelievo	sk	133	48.71+13.6	0,974
	ctr	122	48.77+13.4	
Smoking habit	si	107 (42%)		
	no	148 (58%)		
Sigarette al giorno	sk	22.20+10.81		0,001
	ctr	13.56+8.94		
Anni di Scolarità	sk	10.97+3.11		<0.0001
	ctr	13.96+4.36		
Livello istruzione	Elementare e medie	73 (28.6%)		
	Superiori	84 (32.9%)		
	Laurea	54 (21.2%)		
	Non riportato	44 (17.3%)		

La **Tabella 2** riporta i dati grezzi della lunghezza telomerica in soggetti non affetti da schizofrenia e in soggetti affetti da schizofrenia.



Le Figure seguenti riportano in analisi uni-variata il rapporto tra lunghezza dei telomeri ed età o abitudine al fumo stratificato per genere.



Creazione e validazione di una Piattaforma per sviluppare e studiare modelli innovativi di patologia umana non trasmissibili - Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva – BPCO; non small cell lung cancer (NSCLC) e malattie neurologiche geriatriche (Alzheimer)

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

La piattaforma permette di ottimizzare e personalizzare le strategie terapeutiche riabilitative dei pazienti. Vengono studiati metodi per l'individuazione di nuovi farmaci o terapie, marcatori prognostici e di risposta, e test tossicologici e funzionali.

Materiali e Metodi:

- Campioni biologici: è stata organizzata presso il laboratorio di Epidemiologia molecolare dell'IRCCS San Raffaele Pisana la criopreservazione di campioni biologici umani provenienti da pazienti affetti da BPCO e disordini neurologici (quali Parkinson e/o Alzheimer). I campioni sono prelevati in accordo alle normative europee e come da noi descritto in *Curr Pharm Des.* 2014;20(38):5945-56;
- Somministrazione questionario;
- Raccolta dati relativi ai pazienti: età, sesso, diagnosi clinica inclusa presenza di BPCO, diagnosi istologica, tipo intervento, follow-up (in accordo ai centri di provenienza), Terapia, eventuale riabilitazione respiratoria pre o post intervento, risultati del questionario in accordo a *Curr Pharm Des.* 2014;20(38):5945-56;
- La bio-repository è allestita presso l'IRCCS San Raffaele Pisana e provvede alla conservazione ed al management del materiale di provenienza umana in accordo alle Good Laboratory Practices (GLPs) come definite nella Convenzione di Oviedo e regolato dalla normativa nazionale di riferimento. I dati relativi all'identità del paziente vengono anonimizzati. Ad ogni aliquota vengono associati i dati clinici di riferimento in un archivio computerizzato;
- Valutazione critica della letteratura disponibile.

Nel corso del 2016 è stato effettuato quanto segue:

A. Definizione della piattaforma;

B. Costruzione iniziale della rete degli istituti coinvolti (Università Cattolica del Sacro Cuore e AFAR, Roma, IRCCS San Raffaele Pisana, Centro per la cura e la diagnosi del Parkinson);

C. Descrizione delle procedure operative;

D. Raccolta e criopreservazione di 106 campioni provenienti da pazienti affetti da BPCO, prelievi in entrata ed in uscita (plasma, siero, linfociti). Raccolta e criopreservazione di 10 campioni di BAL;

E. Valutazione critica del ruolo delle varianti geniche del recettore nicotinic nell'aumento di rischio per dipendenza, insorgenza di tumore e ruolo nella terapia per la cessazione dal fumo di sigaretta.

Varianti nei geni codificanti le sub-unità alfa 3-5 (rs1051730 e rs16969968) sono specificamente associate alla dipendenza da nicotina, al maggiore rischio di insorgenza di tumore e influiscono la risposta ai farmaci utilizzati per la terapia per la cessazione dal fumo quali Bupropione e Vareniclina;

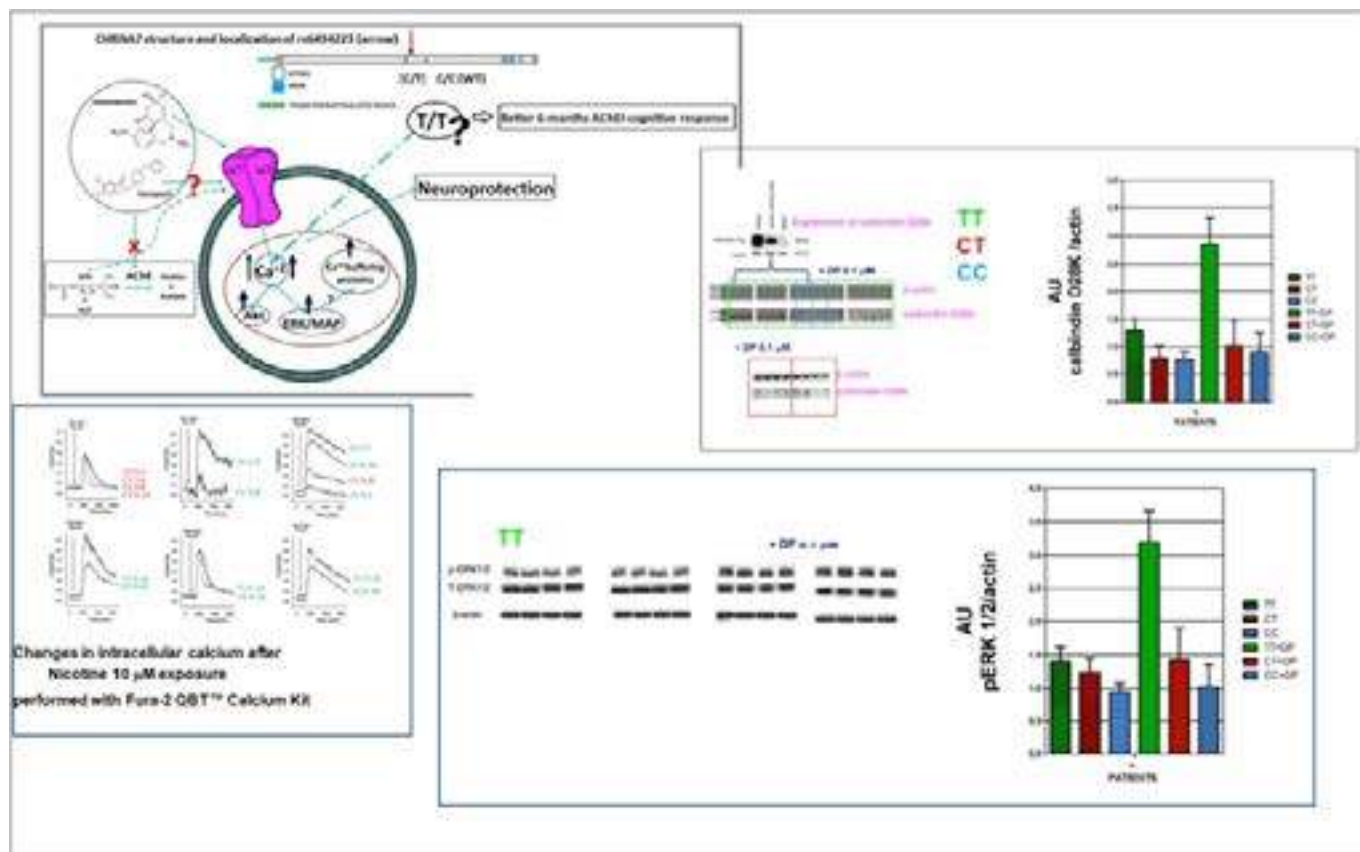
F. Valutazione critica del ruolo della variante rs6494223 del gene codificante per il recettore nicotinic sub-unità alfa-7 e risposta ai farmaci anticolenesterasici donepezil e galantamina in pazienti affetti da Alzheimer. È possibile ipotizzare che la correlazione positiva tra la variante rs6494223 del gene CHRNA7 e la migliore risposta a donepezil o galantamina non è strettamente legata ad un'attività diretta sul recettore alfa7 (anche se per galantamina non può essere escluso un effetto diretto). La tabella riporta le concentrazioni di Donepezil (DP) o galantamina attive in vitro.

Table 1. Dose concentrations [μ M] of Donepezil or galantamine in interactions with α 7-nAChR.

DP	Galantamine	Effects	Relationship to α 7-nAChR	Cell System
10	10	Phosphorylation of Akt, Bcl-2 expression level increase, glutamate toxicity prevention	Mecamylamine protective effect antagonism	Fetal Wistar rats (17-19 days of gestation) cerebral cortex primary cultures
0.3-10	0.3	Protection against okadaic acid-induced toxicity or against A β -induced toxicity	MLA-protective effect antagonism	Neuroblastoma cell line SHSY5Y
10	-	Acute glutamate- or ionomycin-induced neurotoxicity prevention	MLA-protective effect antagonism	Fetal Wistar rats (17-19 days of gestation) cerebral cortex primary cultures
1	1	Glutamate neurotoxicity (apoptosis) prevention	MLA-protective effect antagonism	Fetal Wistar rats (17-19 days of gestation) cerebral cortex primary cultures
-	1	A β -induced toxicity protection	Nicotine-induced neuro-protective enhancement, Akt phosphorylation, MLA-protective effect antagonism	Fetal Wistar rats (17-19 days of gestation) cerebral cortex primary cultures
10	1	[Ca ²⁺] increase, α 4 and α 7 proteins increase, Number of cells expressing α 4 and α 7 increase, α 7 mRNA increase.	-	Fetal Wistar rats (17-19 days of gestation) cerebral cortex primary cultures
10	-	-	Protein up-regulation	Human lymphocytes, Neuronal stem cells
10	-	p-AKT & BCL-2 up-regulation. Up-regulation is higher in T/T than in C/T minimum in CC (WT)	Protein up-regulation-higher in T/T than in C/T minimum in CC	Human lymphocytes

Il picco plasmatico del DP, dopo singola amministrazione di una pastiglia da 23 mg è di 39 ng/ml equivalenti a 0.10 μ M (DP mw = 379.50).

L'osservazione che rs6494223 in soggetti carrier del genotipo TT o CT mostrano una tendenza ad un maggiore "uptake" di Calcio dopo stimolazione con nicotina rispetto ai CC può essere una possibile spiegazione. DP o galantamina inibendo AChE può aumentare la quantità disponibile di ACh che a sua volta attiva nAChR; questo percorso di attivazione può essere più efficiente nei soggetti TT o CT rispetto ai CC e spiegare la risposta migliore a AChEI in questi soggetti in modo indipendente da una interazione diretta di DP o galantamina con il recettore. All'aumento della concentrazione di calcio corrisponde una maggiore fosforilazione di ERK ed un aumento della espressione di calbindina 28K. Questa proteina è coinvolta nella riparazione del danno via attivazione di alfa7-nAChR. Attualmente, la conoscenza delle concentrazioni plasmatiche di un dato AChEI non è noto per ogni paziente in trattamento; solo pochi studi correlano concentrazione del farmaco con l'eterogeneità di risposta alla terapia di AChEI [come da figura].



G. Valutazione critica della letteratura selezionata dell'attività dei farmaci antitumorali di origine marina. I metaboliti secondari prodotti dai Cyanobacteria products sono il prototipo dal quale possono essere sviluppati nuovi farmaci.

H. Valutazione critica della letteratura selezionata dell'attività dei farmaci di origine naturale per terapia Alzheimer. Galantamina e rivastigmina sono attualmente in terapia. Terapia con nicotina ha dato risultati promettenti e studi sono in corso per valutare il suo potenziale terapeutico.

I. Valutazione della letteratura selezionata dei farmaci per terapia Alzheimer aventi come bersaglio il recettore alpha7 nicotinic. Diversi farmaci entrati in Fase II non sono passati alla fase III umana. I risultati sperimentali fin qui ottenuti dimostrano che il Donepezil aumenta l'espressione proteica di alpha7 in linfociti umani e in cellule staminali neuronali umane.

J. Valutazione critica della letteratura selezionata dei farmaci aventi come bersaglio i recettori nicotinici di tipo alpha9 e 10 come antidolorifici. RglA and Vc1.1 due peptidi originati dal Conus (cono peptidi) inducono analgesia sia a breve che a lungo termine attraverso i meccanismi della risposta immune ed infiammatoria.

K. Definizione critica del ruolo della nicotina in angiogenesi, proliferazione e apoptosi. La nicotina stimola gli eventi di angiogenesi e proliferazione ed inibisce i processi di apoptosi interagendo con i recettori nicotinici di tipo alpha-7 presenti anche sulle cellule non neuronali (epiteliali, endoteliali).

L. Valutazione critica di una letteratura selezionata su meccanismi genetici quali varianti geniche coinvolte nell'insorgenza di BPCO, NSCLC e malattie geriatriche, e ruolo nella risposta alla terapia.

M. Valutazione critica della letteratura sul processo di "ageing".

N. Valutazione di Single Nucleotides Polymorphisms (SNPs) associati alla risposta al cortisone in pazienti affetti da BPCO.

Dati preliminari:

1) Identificazione dei parametri della risposta clinica: Per garantire una valutazione della risposta basata su un parametro più globale rispetto alla FEV1, è stato utilizzato il 6 minutes walking test (6MWT). Sono stati considerati responders al trattamento riabilitativo condotto nel corso di tre settimane presso la struttura dell'IRCCS San Raffaele Pisana coloro che aumentavano la loro performance nel 6MWT dopo il trattamento di almeno 30 metri, come indicato in un lavoro di riferimento (Polkey et al., (ECLIPSE) Six-minute-walk test in chronic obstructive pulmonary disease: minimal clinically

clinically important difference for death or hospitalization. Am J Respir Crit Care Med. 2013, 187:382-6).

2) Screening preliminare degli SNPs più interessanti. Lo screening è stato effettuato tra i dati di 6 differenti SNPs noti per la loro associazione con la risposta ai glucocorticoidi. In base ai risultati della tabella 1, si è deciso di proseguire le elaborazioni solamente con i tre SNPs evidenziati in neretto.

Tabella 1. Selezione preliminare degli SNPs di maggiore interesse per predire la risposta alla terapia riabilitativa

Ranking	SNP	$-2 \times \text{Log(Likelihood)}$	Pr > LR	Pr > Score	Pr > Wald	Akaike's AIC	Schwarz's SBC
1	fkbp5 (rs4713916)	68,762	0,002	0,039	0,078	74,762	93,428
2	glcc1 (rs37972)*	67,267	0,005	0,250	0,412	75,267	100,022
3	mdr1 (rs2032582)	67,219	0,010	0,399	0,557	77,219	108,328
4	NR3C1 (rs6190)	71,307	0,011	0,255	0,423	77,307	95,873
5	NR3C1 (rs6189)	71,912	0,016	0,396	0,583	77,912	96,478
6	NR3C1 bcl2 (rs41423247)	70,262	0,024	0,658	0,743	78,262	103,017

Akaike's Information Criterion (AIC) = $-2 \times \text{model log-likelihood} + 2 \times \text{number of model parameters}$ was computed and used to compare each SNP genetic model in responders vs non-responders. The most parsimonious model can be easily identified as that having the lowest AIC value. * Tantisira KG et al. Genomewide association between GLCC1 and response to glucocorticoid therapy in asthma. N Engl J Med. 2011 Sep 29;365(13):1173-83. doi: 10.1056/NEJMoa0911353. Epub 2011 Sep 26.

3) Associazione degli SNPs evidenziati con la risposta clinica. L'unica associazione significativa con Chi2 e confermata con regressione logistica alla risposta clinica è stata quella dello SNP del FKBP5. Va tuttavia evidenziato che i pazienti entravano già in trattamento con glucocorticoidi (quindi non naive) e il percorso clinico includeva una serie di terapie di varia natura. Per cui la risposta al successivo percorso clinico non è una risposta al trattamento con glucocorticoidi, bensì una risposta ad una terapia riabilitativa personalizzata. È interessante notare come (indipendentemente dalla significatività statistica) i 4 portatori del genotipo TT per lo SNP del GLCC1 (notoriamente associato ad una peggiore risposta clinica al trattamento con glucocorticoidi) risultano tutti "responder" alla terapia. Questo dato potrebbe essere importante per definire un trattamento di questi pazienti che da letteratura non rispondono ai glucocorticoidi. Per quanto riguarda le variazioni nelle scale di BORG e MRC in funzione di ciascun polimorfismo, si conferma anche qui un possibile ruolo dello SNP di FKBP5 (delta MRC migliore nei pazienti con genotipo GA) - Tabelle 2-3-4.

Tab.2. χ^2 and logistic regression tests for FKBP5*

FKBP5	Responders	Freq.	χ^2	p value
GA	0	1	4.505	0.034
	1	11		
GG	0	20		
	1	29		
Logistic regression	OR	Std err	95% CI	p value
GA	1	0.142	0.016 - 1.103	0.062
GG	0.132	11.489	1.420 - 85.200	0.022

Tab.3. χ^2 tests for MDR1

MDR1	Responders	Freq.	χ^2	p value
GA	0	0	3.310	0.345
	1	3		
GG	0	10		
	1	12		
GT	0	5		
	1	14		
TT	0	6		
	1	11		

Tab.4. χ^2 tests for GLCCL1

GLCCL1	Responders	Freq.	χ^2	p value
CC	0	7	3.164	0.206
	1	10		
CT	0	14		
	1	10		
TT	0	0		
	1	4		

Tabella 5. Variazione in percentuale delle variabili di dispnea (% Δ BORG e Δ MRC) in relazione a ciascun SNP di interesse.

SNP	Δ BORG (mediana uscita-entrata) %	Δ MRC (mediana uscita-entrata) %
GLCCL1 rs37972		
CC	-42.8	-25.0
CT	-37.5	-25.0
TT	-57.1	-25.0
<i>P value</i>	0.092	0.332
MDR-1 rs2032582		
GG	-30.9	0.0
GT	-44.4	-25.0
GA	57.1	25.0
TT	-28.6	-25.0
<i>P value</i>	0.196	0.244
FKBP5 rs4713916*		
GG	-37.5	0.00
GA	-56.3	-25.0
<i>P value</i>	0.071	0.019

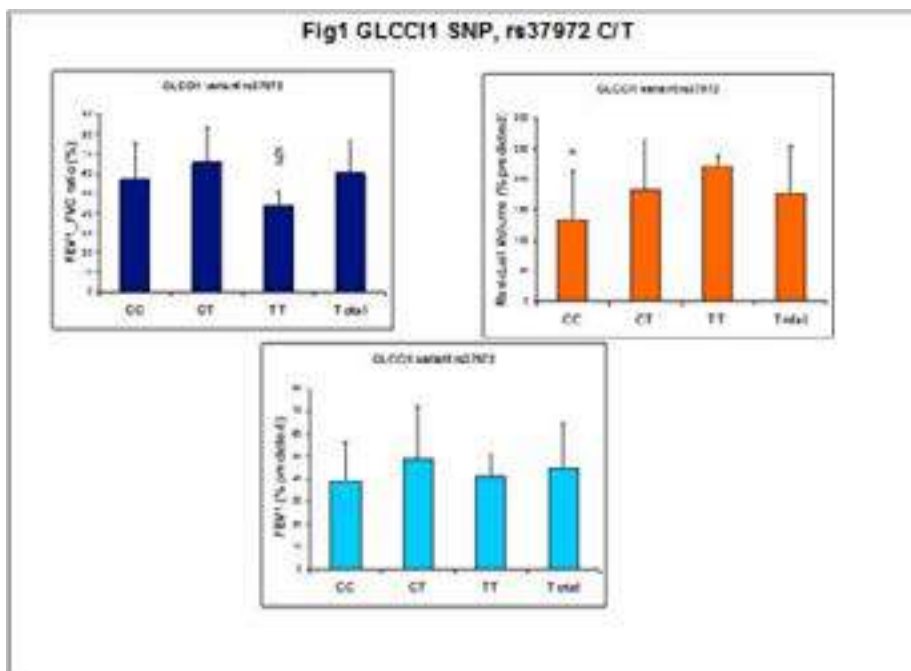
Le significatività sono state valutate con test non parametrici Kruskal-Wallis Test e Mann-Whitney

test.

*Note: La presenza dell'allele FKBP5 rs4713916 A da la risposta migliore al trattamento con glucocorticoidi in Crohn, ma non nella colite ulcerativa. Inoltre, dalle analisi del haplotipo FKBP5 composto da 3 SNPs: rs3800373 T>G - rs4731916 G>A - rs1360780 C>T si evince che quando è presente allele T (haplotipo TAT) non c'è più l'effetto rispondente ai glucocorticoidi. Ref: Maltese P et al. Glucocorticoid resistance in Crohn's disease and ulcerative colitis: an association study investigating GR and FKBP5 gene polymorphisms. Pharmacogenomics J. 2012 Oct;12(5):432-8. doi: 10.1038/tpj.2011.26. Epub 2011 Jul 26.

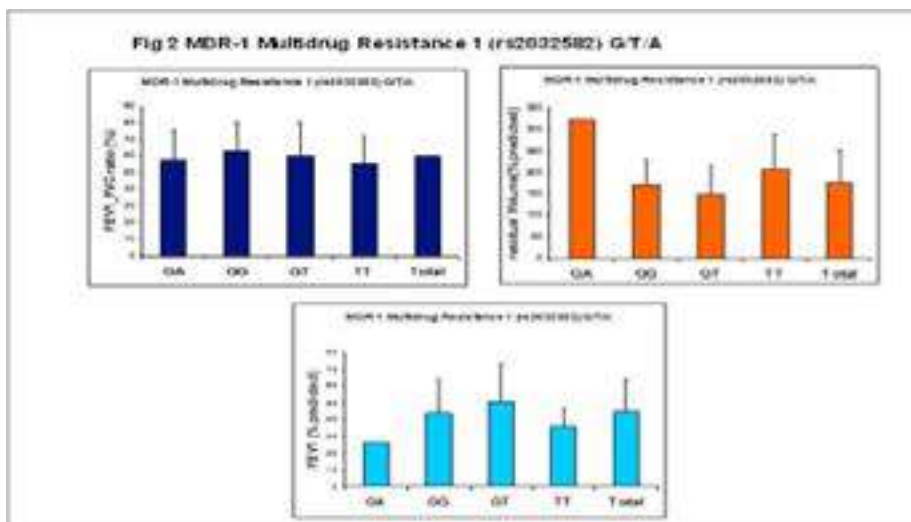
4) Associazione tra SNPs e dati clinici alla baseline ottenuti da 19 pazienti (per dati di spirometria) o 33 pazienti (per dati di 6MWT solo in pazienti in grado di camminare). È di particolare interesse il basso valore di FEV1 nei TT dello SNP di GLCCL1 (Fig.1) e il più basso valore di RV nei CC (Fig.1), con un andamento crescente passando progressivamente dai CC ai CT e infine ai TT. Appare inoltre che i portatori dell'allele T hanno un risultato peggiore al 6MWT rispetto ai CC (Fig.4). In base alla letteratura dovrebbero essere i TT i pazienti che rispondono meno alla terapia con glucocorticoidi (con i CT che mostrano comunque una risposta peggiore dei CC).

5) GLCCL1 SNP e dati spirometrici



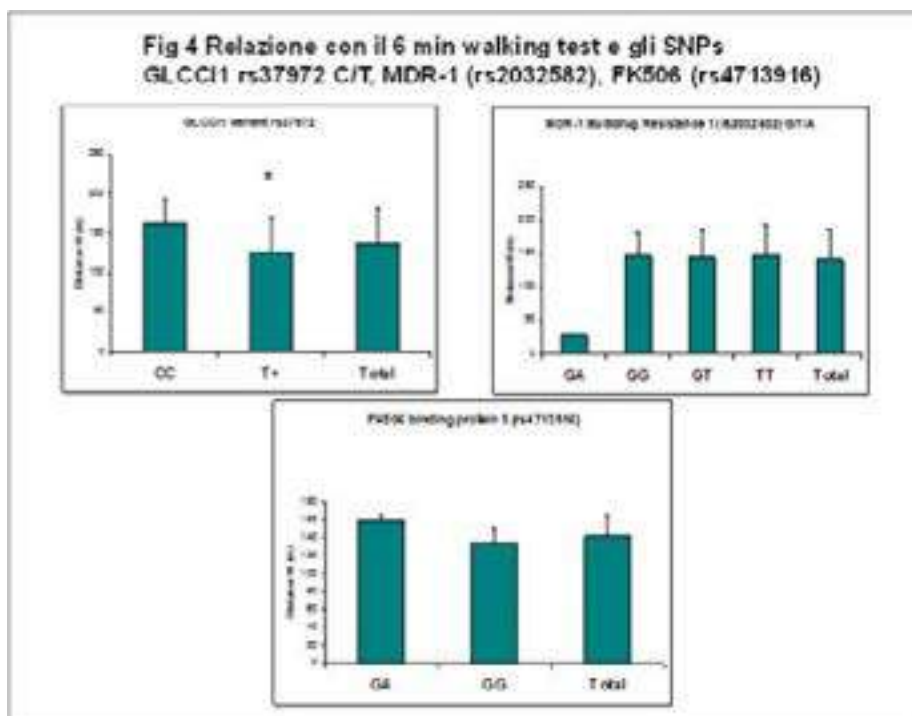
Numero pazienti BCPO =19; §p<0.05 rispetto ai genotipi CC e CT; *p<0.05 rispetto ai genotipi CT and TT dopo un'analisi ANCOVA correggendo per età, sesso, BMI e somministrazione di antibiotici

6) MDR1 e dati spirometrici



Numero pazienti BCPO =19; Analisi ANCOVA correggendo per età, sesso, BMI e somministrazione di antibiotici

7) FKBP5 e dati spirometrici



N=33 pazienti BPCO; *p<0.05; Analisi ANCOVA correggendo per età e sesso

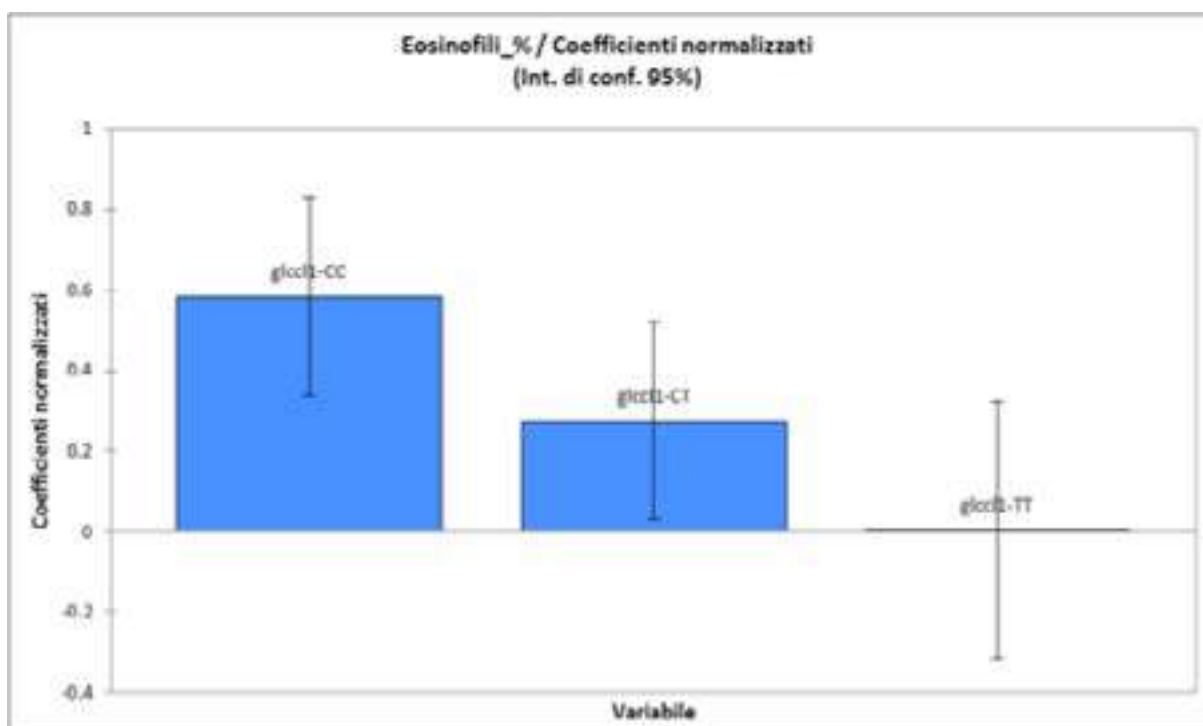
9) Relazioni tra la percentuale di eosinofili e il polimorfismo del gene GLCC1. Poiché in base a studi precedentemente pubblicati i pazienti maggiormente responsivi al trattamento con glucocorticoidi sembrano quelli con la maggiore percentuale di eosinofili nel sangue, si è cercata una potenziale relazione tra le due variabili (% di eosinofili e polimorfismo del GLCC1). Dalle analisi effettuate (Tab.6-7 e Fig.5) emerge effettivamente la possibilità che esista una relazione tra questi due parametri. In base a questi dati preliminari, i TT potrebbero essere meno responsivi ai glucocorticoidi per via della loro ridotta percentuale di eosinofili rispetto agli altri genotipi e i CT avrebbero una % di eosinofili intermedia tra i TT e i CC.

Tab. 6. Confronto della % di eosinofili del sangue tra TT e gli altri genotipi del GLCC1

Variabile	Osservazioni	Minimo	Massimo	Media	Dev. std.
Eosinofili % (CC/CT)	32	0,010	3,700	0,861	1,032
Eosinofili % (TT)	3	0,010	0,010	0,010	0,000

* p = 0.022 con Mann-Whitney U test

Fig. 5. Coefficienti normalizzati da analisi di regressione della variabile eosinofili % nei diversi genotipi



Tab. 7. Analisi di regressione (eosinofili % vs GLCCL1 SNP) con i coefficienti normalizzati:

Fonte	Valore	Errore standard	t	Pr > t	Limite inferiore (95%)	Limite superiore (95%)
glccl1-CC	0,583	0,120	4,840	< 0,0001	0,338	0,829
glccl1-CT	0,275	0,120	2,282	0,029	0,029	0,520
glccl1-TT	0,003	0,156	0,018	0,986	-0,316	0,321

Dalle analisi effettuati FKBP5 non è stato trovato associato con la percentuale di eosinofili.

O. Nell'ambito degli studi sulla drug addiction è stata valutata in pazienti con una storia di abuso/dipendenza da alcol, la loro idoneità psicologica al trapianto di fegato ed al successivo inserimento in lista d'attesa. La difficoltà del processo prognostico – ampiamente discussa in letteratura – è dovuta a fattori come la durata della storia di alcolismo, la storia familiare, l'età, il sesso, la comorbilità con l'uso di sostanze e disturbi psichiatrici, la non compliance e, infine, l'instabilità sociale. In tale contesto risulta rilevante un'analisi sia dell'impatto che l'intervento di trapianto può avere sul paziente, sia dell'efficacia di un monitoraggio psicologico nel corso dell'intero iter trapiantologico, soprattutto se si considerano le difficoltà relative all'accettazione della condizione di "nuova vita" con quella di "malato cronico". Si auspica che gli studi futuri siano orientati verso questa direzione, non essendoci ancora in letteratura studi sull'argomento. La popolazione presa in esame in questo studio era composta da 308 pazienti (81,8% maschi e 18,2% femmine) in attesa di trapianto di fegato, afferenti Area Trapianti della A.O. San Camillo-Forlanini di Roma nel periodo compreso tra il 2011 e il 2014, di cui 137 soggetti (44, 49%) presentavano una storia di dipendenza da alcol e/o sostanze psicoattive (Abuse History, AH), mentre 171 soggetti (55,51%) non presentavano in anamnesi tali dipendenze (Abuse Free, AF). Il trapianto d'organo rappresenta un'esperienza complessa e comporta problematiche psichiche e psicosociali che possono rendere difficoltoso l'intero iter trapiantologico, il quale non è confinato all'intervento chirurgico ed ai riflessi psichici che esso comporta, ma ogni sua fase, dalla prima valutazione per l'intervento fino alla riabilitazione successiva, va affrontata in maniera adeguata e rigorosa secondo criteri metodologici ed applicativi consolidati in campo medico e psicologico.

Riabilitazione cardiaca: medicina riparativa nello scompenso cardiaco

Diversi studi hanno ipotizzato che l'EMT sia un processo fondamentale nell'epicardio sia embrionale che adulto. In particolare nel cuore adulto dopo infarto del miocardio (MI), l'EMT permette la formazione di cellule staminali in grado poi di differenziare nelle tre linee cellulari cardiache necessarie per la rigenerazione del tessuto miocardico ovvero nelle cellule endoteliali, muscolari lisce e cardiomiociti. E' stato già dimostrato che la clusterina (CLU) è contenuta negli esosomi dei liquidi pericardici dopo infarto acuto del miocardio e la sua somministrazione nel sacco pericardico di cuori murini in assenza di infarto è già in grado di attivare l'EMT nelle cellule epicardiche come evidenziato dall'aumentato numero di cellule epicardiche esprimenti la alfa SMA, noto marcatore dell'EMT. Questo processo risulta amplificato in seguito ad MI e sembra coinvolgere anche le cellule epicardiche ckit+ determinando quindi un aumento del pool di precursori cardiaci in grado di partecipare al riparo cardiaco. Quali sono i meccanismi coinvolti nell'EMT delle cellule epicardiche indotto dalla CLU in presenza di MI?

Il presente progetto di ricerca si prefigge di raggiungere 3 obiettivi:

1. Messa a punto di colture cellulari di cellule epicardiche murine per effettuare studi in vitro di induzione di EMT. Per questo primo obiettivo, è stato messo a punto un sistema in vitro di cellule epicardiche embrionali murine in cui indurre l'EMT utilizzando noti induttori di questo fenomeno quali il TGF b1.
2. Studio del ruolo dei miRNAs nell'EMT mediato dalla CLU in colture cellulari. Per questo secondo obiettivo si è verificato quali miRNAs fossero coinvolti nel processo di EMT indotto utilizzando colture di cellule epicardiche embrionali murine.
3. Sintesi di nanovesicole lipidiche contenenti la clusterina e studio del loro effetto in vitro. Per questo terzo obiettivo sono state preparate nanovesicole in grado di mimare gli esosomi isolati dai liquidi pericardici.

Per questi studi sono state utilizzate cellule epicardiche murine embrionali.

Specificamente, queste cellule sono state messe in coltura e trattate a tempi diversi e con diverse concentrazioni di induttori noti dell'EMT quali il TGF b1. La presenza di EMT in queste cellule è stata valutata mediante analisi di real time PCR a 48, 72 e 96h per noti marcatori di questo processo sia di natura epiteliale che mesenchimale. Inoltre, si è anche verificata l'espressione dei geni della staminalità quali ckit, Sox2, Oct4 e Nanog trovando un'aumentata espressione di questi marcatori dopo induzione dell'EMT in assenza di proliferazione.

Successivamente, si è andati a verificare, utilizzando cellule epicardiche murine embrionali trattate con TGF b1 e mediante real time PCR, la modulazione di circa 15 miRNAs, già dimostrato essere coinvolti nel processo di EMT in altri sistemi quali il miR200c e il miR34a. I risultati sembrano dimostrare il coinvolgimento nel processo di EMT indotto dal TGF b1 del miR-200c. Essendo la follistatina-like1 un target del miR200c, è stata verificata la sua espressione dopo induzione dell'EMT e i risultati in RT_PCR hanno dimostrato un'aumentata espressione a livello di mRNA di questo marcatore a tutti e tre gli intervalli di tempo. Nessuna variazione, invece, è stata osservata per altri due noti target di questo miR, ovvero ZEB1 e ZEB2.

Nell'ultima parte del progetto sono state sintetizzate delle nanovesicole lipidiche aventi una struttura più possibile somigliante a quella degli esosomi isolati dai liquidi pericardici di pazienti con infarto

acuto del miocardio e si è cercato di renderle tracciabili all'interno delle cellule utilizzando dei quantum dots fluorescenti. Utilizzando cellule epiteliali umane e trattandole con questi quantum dots per differenti intervalli di tempo, si è riusciti a dimostrare mediante confocale che i quantum dots si integrano nella membrana di queste nanovesicole.

I risultati ottenuti hanno permesso di evidenziare che il processo di EMT indotto dal TGF b1 nelle cellule epicardiche embrionali coinvolge il miR200c e il suo target FLST1 ma non i target ZEB1 e ZEB2. Questo risultato confermerebbe un dato già noto in letteratura secondo il quale la follistatin-like1 a livello epicardico è essenziale per il riparo cardiaco dopo infarto del miocardio.

La preparazione di nanovesicole somiglianti gli esosomi in vivo e la dimostrazione della loro capacità di incorporare marcatori fluorescenti nella loro membrana, permette di preparare nanovesicole contenenti sostanze specifiche e questo avrebbe una grande importanza per: 1) effettuare esperimenti in vitro che consentano di approfondire meccanismi con cui avvengono determinati processi; 2) permettere a sostanze specifiche di raggiungere in vivo determinati distretti in cui svolgere un'azione specifica.

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

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

Il presente studio si prefigge di:

- Studiare i meccanismi di danno irreversibile e reversibile e l'attivazione dei processi di riparazione e rigenerazione cellulare dei cardiomiociti di pazienti affetti da cardiomiopatia dilatativa e miocardite
 - Studiare la struttura e la funzione mitocondriale e il grado di stress ossidativo miocardico in tali pazienti
 - Studiare il ruolo delle sirtuine nel processo di danno e di recupero cellulare dopo opportuna terapia
- Il progetto si propone di reclutare pazienti con le seguenti caratteristiche:
- Dilatazione e disfunzione del ventricolo sinistro (EF<40%) di età compresa tra i 18 e gli 80 anni.
 - Assenza di malattia coronaria o valvolare che possa giustificare la severità della disfunzione cardiaca.
 - Scompenso cardiaco cronico (da più di 6 mesi) refrattario alla terapia antiscompenso standard.

I criteri di esclusione includono: scompenso cardiaco recente (meno di 6 mesi), cause note di insufficienza cardiaca (come ipertensione arteriosa, malattiacoronaria significativa, malattia valvolare significativa, malattie endocrine, malattie renali significative, abuso di alcool o di farmaci).

I pazienti vengono reclutati in ambulatorio o nei reparti clinici di degenza o di terapia subintensiva.

I pazienti vengono sottoposti ad esami cardiologici invasivi (ECG, ecocardiogramma color Doppler con TDI) e, previo consenso informato, ad esami cardiologici invasivi, incluso il cateterismo cardia-

co, la coronarografia, la ventricolografia bi ventricolare e la biopsia endomiocardica bi ventricolare. Alcuni frammenti biotici vengono utilizzati per l'esame istologico con colorazioni di routine per identificare il processo patologico alla base della disfunzione cardiaca. Alcuni frammenti congelati vengono utilizzati per valutare la presenza di virus cardiotropi miocardici, in grado di causare una cardiomiopatia dilatativa virale. In pazienti affetti da miocardite virus-negativa viene intrapreso un trattamento specifico immunosoppressore e verranno eseguite biopsie di controllo dopo sei mesi di trattamento per valutare il grado di recupero cellulare.

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

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

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

Espressione genica pro-infiammatoria nella progressione di tumori umani, suo ruolo nel decadimento di organi e tessuti e strategie per il suo controllo

L'attivazione di una risposta genica infiammatoria coordinata permette alle cellule trasformate ipossiche di acquisire tutte quelle proprietà tipiche del fenotipo maligno. I dati ottenuti dal laboratorio dimostrano che l'ambiente ipossico può essere responsabile dell'espressione de novo dei recettori delle allarmine, attivando una risposta genica coordinata detta risposta riparativa infiammatoria (IRR). Questo fenomeno indurrebbe un fenotipo maligno. L'ipossia a sua volta induce due fenomeni: a) necrosi delle cellule che sono più distanti dai vasi del tessuto ospite. Il danno necrotico porta alla frammentazione della membrana plasmatica e al rilascio di allarmine o DAMPS (Damage-Associated Molecular Patterns); b) attivazione di HIF-1a con nuova espressione genica, che permette alle cellule tumorali di sopravvivere e crescere.

I risultati sperimentali dimostrano anche che l'attivazione di HIF-1a upregola i recettori delle allarmine come RAGE (per HMGB1), P2X7 (per ATP/ADP), alcuni toll-like. Tutti questi recettori, quando stimolati dalle allarmine, attivano NFkB che a sua volta upregola i geni dell'IRR, inducendo così cambiamenti nelle proprietà biologiche delle cellule tumorali.

L'ipotesi di lavoro suggerisce che l'attivazione di una coordinata risposta genica infiammatoria in cellule ipossiche e precedentemente trasformate, permette l'acquisizione delle proprietà cellulari tipiche del fenotipo maligno.

Lo studio si prefigge di:

- Studiare il ruolo di HIF1alfa NFkBeta e IRR nel Ca papillare di tiroide, nel Ca di vescica e nel Ca di colon. In questi tumori sarà confermata la presenza dell'ambiente ipossico, saranno descritti alcuni aspetti cruciali della sequenza di adattamento all'ipossia e sarà dimostrata la presenza di espressione genica coordinata proinfiammatoria dipendente dall'attivazione di NFkB.
- Identificare quali allarmine/DAMPs sono più efficaci nell'indurre la IRR. Dati preliminari condotti dal laboratorio mostrano che la linea cellulare MCF7 quando pretrattata in ipossia per 48-72 h, presenta una più forte attivazione della IRR se un omogenato cellulare è aggiunto al mezzo.
- Identificare quale sottopopolazione di cellule tumorali si adatta più facilmente all'ipossia e attiva più facilmente la IRR. E' noto che tessuti umani tumorali sono costituiti da cellule per lo più in avanzato differenziamento e da una piccola popolazione (1-2%) di cellule staminali e progenitori (CS/P). Uno degli obiettivi è quello di studiare il ruolo delle SC/P nell'attivazione di una più forte espressione genica della IRR come adattamento all'ipossia, sia in tumori solidi che in linee cellulari. Gli effetti dell'ipossia e delle allarmine sarà studiato su queste popolazioni cellulari effettuando esperimenti descritti già nel secondo obiettivo.
- Esplorare in modelli sperimentali in vitro e in vivo il meccanismo di homing specifico delle cellule di cancro attivate dall'ipossia. Per raggiungere tale obiettivo effettueremo esperimenti di cocultura tra cellule di cancro di controllo e HUVEC preattivate con LPS (0.3µg/ml) o da una mix di citochine di tipo Th1 or Th2. Alternativamente saranno creati dei siti di infiammazione in topi nudi per studiare il pattern metastatico (numero e specificità del sito).
- Studiare la possibilità di bloccare o rallentare la progressione tumorale inibendo NFkB e/o HIF1a in vitro e in vivo.

Campioni di biopsie umane di Ca di vescica sono stati sezionati e sottoposte a laser capture microdissection (LCMD) per separare le cellule tumorali, da quelle peritumorali e da quelle del tessuto ospite normali. L'espressione di mRNA di 48 geni proinfiammatori (inflammocard) è stata studiata mediante Real-time PCR; l'espressione proteica di diversi fattori pro infiammatori quali P2X7, RAGE, COX2, NOS2, SOCS1, TLR2-3-4, e MMP2 è stata studiata mediante Western Blotting; l'attivazione di HIF1a and NF-kB è stata analizzata mediante western blotting o ELISA su frazioni cellulari citosoliche e nucleari. L'ipossia è stata ottenuta incubando le cellule in 1%O2 in una camera ipossica. Le CS/P sono state preparate da: Campioni chirurgici di tumori solidi umani: Le popolazioni CS/P sono state purificate e caratterizzate mediante analisi di citofluorimetria usando diversi markers.

Per studiare gli effetti dell'ipossia sul guadagno di funzione delle MMPs, le linee cellulari MCF7, PC3 e BCPAP sono state trattate con estratti totali di membrane o con frazioni di essi. L'invasione cellulare è stata misurata mediante uno specifico kit della chemicon in grado di discriminare tra cellule che invadono e cellule che non invadono. E' stata valutata l'aumentata abilità di migrare associata al trattamento ipossico e la conseguente over-espressione di CXCR4 sulle linee cellulari sopra descritte. La migrazione cellulare è stata studiata mediante il "wound healing assay". L'homing delle cellule tumorali è stato studiato mediante: cocultura di cellule di cancro attivate da ipossia o di controllo e cellule HUVEC preattivate da LPS o una mix di citochine di tipo Th1 e Th2. Real-time PCR mediante infiammocard di RNA estratto da tessuto granuloso ottenuto da microdissezione. Per gli esperimenti in vivo: a) le cellule CS/P o tumorali isolate da biopsie o da linee cellulari attivate mediante ipossia sono iniettate in topi nudi. Successivamente è valutato il numero e il tipo di metastasi formatesi; b) è creato un sito usando rispettivamente batteri Gram+ o LPS o una ferita. Di nuovo, è valutato il numero e il tipo di metastasi formatesi. Gli studi in vivo sono condotti in topi nudi (4-6 settimane) (Charles River Laboratories) le cellule sono precedentemente trasfettate con GFP. La formazione del tumore è studiata dopo iniezione sottocutanea. La formazione del tumore è seguita in vivo per 3-4 settimane mediante microscopio a fluorescenza. Iniezioni nella vena caudale permettono di osservare il pattern metastatico nei polmoni, nel cervello e i altri siti mediante immunohistochimica, RealTime-PCR e western blotting negli animali sacrificati. E' stato dimostrata, in diverse linee cellulari sottoposte ad ipossia, l'attivazione di HIF-1 α che, a sua volta, regola l'espressione di geni appartenenti alla risposta infiammatoria ripartiva come RAGE, P2X7, SOCS1, ecc. Questi, a loro volta, in presenza di uno stimolo necrotico attivano il pathway che innesca NF κ B. In particolare, è stato dimostrato che per l'attivazione di NF κ B sono particolarmente efficaci le frazioni di membrane rilasciate dalle cellule necrotiche che nelle cellule tumorali stimolano il rilascio di MMPs e la migrazione. Riproducendogli esperimenti descritti sopra sulle cellule staminali tumorali, è stato evidenziato come questa popolazione sia in grado di attivare la stessa risposta infiammatoria ripartiva in modo molto più efficace. Questo permette di ipotizzare che tali cellule siano quelle che si adattano e sopravvivono all'ipossia e alla necrosi presenti nel tumore primario e siano quelle che responsabili, poi della progressione del tumore. Si è anche osservato che le cellule tumorali stimulate da ipossia sono in grado di aderire meglio alle cellule endoteliali. Tale capacità di adesione è ulteriormente incrementata se le cellule endoteliali sono state sottoposte ad uno stimolo infiammatorio come quello di estratti necrotici o da infezione batterica. Questo risultato è stato ottenuto tramite colorazione delle cellule endoteliali e tumorali e analisi al microscopio confocale. Inoltre inibendo farmacologicamente HIF-1 α con digossina la risposta delle cellule tumorali viene meno così come la loro capacità di adesione che risulta notevolmente ridotta. Infine anche silenziando l'espressione dei recettori di membrana come RAGE e P2X7, e quindi la risposta NF κ B-mediata, è possibile inibire l'invasione delle cellule tumorali. L'inibizione farmacologica (digossina) o il silenziamento (shRNA) di HIF-1 α ha permesso di inibire la migrazione, invasione e adesione delle cellule tumorali messe a contatto con cellule endoteliali. In vitro ci si aspetta di osservare diversi gradi di invasione a seconda del trattamento delle cellule tumorali o delle cellule bersaglio come descritto nei metodi. Inoltre il silenziamento di alcuni recettori permetterà di capirne il ruolo primario o secondario per la progressione tumorale. In vivo ci si aspetta che le cellule tumorali attivate da ipossia o da allarmine siano in grado di invadere meglio delle cellule tumorali non trattate. Tale capacità invasiva sarà massima nelle cellule tumorali staminali. Le metastasi formate dalle cellule tumorali potranno essere influenzate tramite creazione di un sito di necrosi con gradiente citochinico. In questo modo ci si aspetta di poter predire il sito in cui le metastasi si formeranno. Da quanto sopra detto risulta chiaro che l'inibizione di HIF-1 α e NF κ B dovrebbe essere maggiormente efficace nel bloccare o ridurre la formazione di metastasi con conseguente aumento della sopravvivenza.

Ruolo dell'attività fisica e delle sirtuine nella prevenzione e nel rallentamento della progressione tumorale

E' noto che l'esercizio fisico previene e riduce il rischio di sviluppare tumori come quello della mammella, del colon, nei tumori ematologici e del polmone. I meccanismi molecolari che regolano questo fenomeno sono del tutto oscuri. Una risposta a tale interrogativo potrebbe derivare dallo studio di una nuova classe di proteine, le Sirtuine, che ha un ruolo centrale nella regolazione della risposta cellulare e tissutale a stimoli di stress di varia natura.

Le Sirtuine (SIRT) comprendono 7 membri (SIRT1-SIRT7) che, tramite la loro attività deacetilasi regolano la funzione di numerosi fattori di trascrizione, la sopravvivenza cellulare a stimoli apoptotici, necrotici e autofagici, il differenziamento cellulare, l'aging e il metabolismo del glucosio e dei lipidi.

L'ipotesi di partenza è che nelle cellule tumorali l'attivazione delle Sirtuine in seguito ad attività fisica potrebbe attivare meccanismi in grado di bloccare o rallentare la formazione e/o la progressione del tumore. Infatti recenti studi hanno evidenziato un ruolo nella formazione e nella progressione tumorale di alcune sirtuine. Altri studi effettuati in modelli murini di cancro invece hanno evidenziato un'azione anti-tumorale di SIRT-1. In questi modelli una ridotta espressione di SIRT-1 coincide con una maggiore insorgenza di tumori e viceversa. Anche per SIRT-3 è stata dimostrata un'azione pro-anti-tumorigenica. SIRT-3 facilita i processi proapoptotici deacetilando proteine coinvolte nell'apoptosi e aumentando l'espressione di enzimi antiossidanti. Inoltre topi KO per SIRT-3 presentano una maggiore instabilità genomica e sviluppano tumori. Allo stesso tempo dati contrastanti derivanti da altri studi indicano che i livelli proteici di SIRT-3 sono aumentati nel tumore della mammella caratterizzato da linfonodi positivi. In altri studi è stata osservata una diminuzione dei livelli proteici di SIRT-3 nel tumore della mammella. Anche SIRT-5, SIRT-6 e SIRT-7 potrebbero avere un ruolo di prevenzione nell'insorgenza del cancro.

Questo progetto si prefigge di:

- Studiare se l'esercizio fisico è in grado di incrementare l'attività delle Sirtuine e conseguentemente di ridurre la produzione di ROS e RNS nei pazienti oncologici.
- Studiare in vivo e in vitro se l'espressione delle Sirtuine e la loro attività sono importanti per facilitare l'apoptosi nelle cellule tumorali in seguito ad attività fisica e/o trattamento con chemioterapici.
- Studiare i livelli di Sirtuine nelle biopsie tumorali dei pazienti e confrontarle con i dati dei follow-up in presenza e assenza di attività fisica.

Lo studio dell'attività delle Sirtuine e della loro espressione è effettuato su campioni di sangue ottenuti da pazienti oncologici prima e dopo (1 mese almeno) di attività fisica moderata. Tali valori sono comparati con quelli ottenuti da pazienti oncologici che non svolgono attività fisica. Ad ogni paziente è prelevato sangue periferico (3-6ml). Dall'anello linfomonocitario ottenuto da ciascun prelievo vengono estratti mRNA per analisi di real time-PCR e proteine per analisi in Western blotting delle varie Sirtuine e dei markers tumorali. Inoltre sono effettuati saggi di attività sirtuinica. I livelli di RNS e ROS sono misurati mediante saggi ELISA o citofluorimetrici con sonde specifiche. Per gli studi in vivo topi nudi in cui sono state iniettate cellule tumorali (MDA-MB-231, PC3 e BCPAP) sottocute e nella vena caudale sono lasciati a riposo o sottoposti ad esercizio fisico (corsa su treadmill ad una velocità costante (10m/min circa) per un periodo di circa 20 minuti per una settimana). Gli animali sono successivamente sacrificati per ottenere sangue e biopsie tumorali da cui estrarre mRNA e proteine per analisi in Real Time-PCR e Western blotting. E' inoltre valutato nei due gruppi la dimensione del tumore primario e il numero delle metastasi in un periodo di tempo di 4-6 settimane. Questi valori numerici sono comparati con l'attività sirtuinica misurata nel sangue e nelle biopsie tumorali. Per gli studi in vitro le linee cellulari MDA-MB231, PC3, BCPAP, HeLa e SW48 sono transfettate per overesprimere o silenziare le diverse Sirtuine. I cloni ottenuti sono studiati per la loro capacità tumorigenica. Inoltre la resistenza agli stress dei vari cloni è testata trattando le cellule con specifici chemioterapici. La valutazione della capacità metastatica è effettuata mediante misurazione dell'attività delle metalloproteasi, della capacità di migrazione e invasione mediante kit specifici della Chemicon e mediante il saggio del wound healing.

Lo studio condotto su ratti ha dimostrato che lo sforzo fisico induce un aumento dell'espressione dell'mRNA e della proteina di SIRT1 e SIRT7 nel cuore e nel muscolo scheletrico. Inoltre è stato osservato un aumento dell'espressione della proteina pro-apoptotica protein bax e una diminuzione dell'espressione della proteina antiapoptotica bcl-2. Analisi statistiche hanno evidenziato che esiste una correlazione significativa tra l'espressione di SIRT1 e SIRT7 e quella di bax e bcl-2.

Lo studio condotto sugli atleti ha mostrato che l'espressione proteica di SIRT1 è bassa nelle cellule dell'anello linfomonocitario dei donatori e diminuisce ulteriormente negli atleti. Al contrario l'espressione proteica di SIRT3, SIRT6 e SIRT7 non mostra una differenza significativa tra controlli e atleti. Anche se non sono state osservate significative differenze per l'espressione delle sirtuine, è stato misurato un significativo aumento della attività acetilasica totale negli atleti rispetto ai donatori.

Ci si aspetta che l'attività fisica nei pazienti oncologici incrementi l'espressione proteica e l'attività delle Sirtuine, che riduca la produzione di ROS e RNS, che abbassi i valori dei markers tumorali, che blocchi o rallenti l'invasione e la meta statizzazione e, in conclusione, aumenti il survival. Ci si aspetta inoltre che nelle biopsie e nel sangue le variazioni misurate per l'espressione delle Sirtuine e per la loro attività correlino con outcomes positivi.

Ci si aspetta che nei topi nudi l'insorgenza del tumore primario e, soprattutto, dell'invasione e delle metastasi sia rallentata dall'attività fisica e/o dall'overespressione/silenziamento di alcune Sirtuine nelle cellule tumorali iniettate.

LINEA 4

**STUDIO DELLE DISABILITÀ DELLO SVILUPPO
E NEURORIABILITAZIONE PEDIATRICA**

Dall'analisi del movimento secondo la prospettiva biomeccanica all'analisi e allo studio del movimento "come funzione cognitiva"

L'attività di ricerca associata alla valutazione del movimento dall'origine del Laboratorio di Gait Analysis presso l'IRCCS San Raffaele Pisana si è tradizionalmente focalizzata sullo studio del movimento da un punto di vista biomeccanico. Infatti, situazioni patologiche quali la Paralisi cerebrale infantile, comportano alterazione nelle forze muscolari, e/o alterazioni delle leve scheletriche e ciò che ne consegue è un movimento alterato.

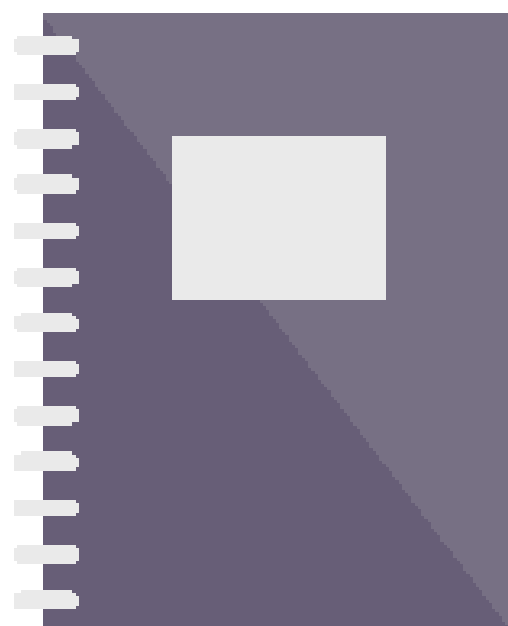
Tuttavia, ultimamente il laboratorio di Gait Analysis ha iniziato a valutare in modo più ampio il movimento, anche in linea con le nuove ricerche internazionali nell'ambito delle Neuroscienze, pensando ad esso come espressione non solo della situazione biomeccanica ma anche della funzione cognitiva. Per fare questo è stato necessario pertanto allontanarsi dal concetto "Gait Analysis" ma piuttosto iniziare a parlare di "movement analysis" per poter studiare atti motori espressione di interazione tra aspetti biomeccanici e funzioni cognitive.

Nella valutazione delle abilità cognitive e motorie vengono comunemente utilizzati dei test nei quali viene chiesto ai soggetti di scrivere un testo o disegnare alcune semplici figure. Questi gesti grafo-motori vengono denominati movimenti fini e prevedono la coordinazione di piccoli movimenti muscolari a livello delle dita e della mano, rappresentano quindi l'integrazione tra task motorio e task cognitivo. Tali movimenti possono caratterizzare la natura di molteplici patologie che comportano disturbi a livello cognitivo e a livello motorio, dando un valido aiuto in fase decisionale per la scelta di una riabilitazione adeguata. Queste analisi, inoltre, permettono ai clinici di misurare il livello della maturazione percettivo-motoria in quanto un gesto grafico poco accurato si può considerare come la manifestazione di un disturbo mentale e comportamentale. Attualmente, nella pratica clinica, la maggior parte di queste valutazioni si basa sull'osservazione del risultato del gesto grafico e quindi su criteri qualitativi, oppure sull'utilizzo di una tavoletta grafica, che permette solamente l'analisi di alcuni elementi relativi alla traccia e non della postura del soggetto durante il gesto grafico. Questo progetto è nato dall'esigenza di analizzare con una valutazione quantitativa ed esaustiva l'esecuzione di un task motorio che coinvolge sia aspetti cognitivi sia aspetti motori dei bambini con disturbi specifici dell'apprendimento (DSA) e disturbi della coordinazione motoria (DCM).

In questo studio, sono stati analizzati 58 soggetti, suddivisi in cinque sottogruppi per disturbo specifico rilevato, di età compresa tra i 6 e i 14 anni. I cinque sottogruppi considerati sono stati formati rispettivamente da soggetti: disgrafici, dislessici, con più disturbi specifici concomitanti, con DSA e DCM contemporaneamente e un quinto gruppo formato dai dislessici ed i disgrafici insieme. Tali soggetti sono stati confrontati con 13 bambini con un normale sviluppo mentale e motorio di età compresa tra i 6 e i 12 anni. Inoltre, è stato condotto un confronto tra il gruppo dei bambini disgrafici e quello dei bambini dislessici per poter al meglio caratterizzare i due disturbi. Nel set-up sperimentale è stata chiesta ai soggetti l'esecuzione di tre tipologie di task differenti che riguardavano il disegno di tre semplici figure geometriche: un cerchio, una croce ed un quadrato. La scelta del tipo di test è stata determinata dai test clinici che normalmente vengono proposti. Per l'acquisizione del movimento del soggetto è stato utilizzato un sistema optoelettronico (SMART D BTS, IT). Tale sistema ha permesso l'acquisizione delle coordinate tridimensionali dei marker posizionati in particolari punti di repere del soggetto e sulla penna, questo ha consentito di rilevare il loro movimento, così da ricostruire la traccia del disegno ed anche il movimento dell'arto superiore e del capo del soggetto durante il gesto grafico. Ogni prova è composta da due fasi: un'acquisizione statica ed un'acquisizione dinamica. Nella prima fase sono stati acquisiti i marker posti secondo un determina-

to modello sulla penna e sul foglio. Durante questa fase viene determinata la posizione della punta della penna rispetto al sistema di riferimento locale della penna stessa, costruito mediante i marker posti sul suo cappuccio. Nella seconda fase i marker sono stati posizionati sulla testa, sulle spalle e sul braccio dominante del soggetto in modo tale da acquisire il suo movimento durante il gesto ed è stata ricostruita la traccia del disegno mediante le informazioni provenienti dalla prima fase sulla posizione della punta della penna. Le acquisizioni della statica e della dinamica sono state caricate in un software dedicato, SMART Analyzer (BTS IT), insieme alle informazioni personali del paziente. Mediante questo software è stato sviluppato un protocollo ad hoc per ognuno dei tre task motori, al fine di caratterizzare le grandezze specifiche di interesse relative al controllo motorio nei soggetti e di calcolare parametri d'interesse relativi alla figura considerata.

Il risultato ottenuto per ogni task motorio è contenuto in un Report composto da tre pagine, nelle quali vengono indicate le caratteristiche dimensionali, identificate per caratterizzare le diverse strategie impiegate nel disegno e per valutare la correttezza esecutiva, le caratteristiche cinematiche, che sono state valutate per caratterizzare il meccanismo di controllo durante il movimento, i parametri del movimento della testa e dell'arto superiore dominante. Per correlare la traccia del disegno ottenuto e la strategia posturale utilizzata, è stata realizzata l'analisi dei movimenti del braccio superiore per valutare le possibili differenze negli angoli articolari tra i due gruppi in analisi. Inoltre, per caratterizzare il livello di attenzione del soggetto durante l'esecuzione della prova è stata fatta l'analisi del movimento della testa rispetto al foglio. Per verificare la significatività e l'attendibilità dei risultati ottenuti e per individuare eventuali differenze significative nei parametri analizzati tra i due gruppi sono stati effettuati vari test statistici. Generalmente a livello motorio grossolano la caratteristica peculiare dei soggetti con disturbi della coordinazione motoria è la loro goffaggine e lentezza esecutiva. Durante il movimento analizzato in questo progetto il comportamento di questi bambini è totalmente diverso, infatti essi si muovono più velocemente rispetto al gruppo di controllo. Questo risultato è emerso in maniera molto evidente anche nel gruppo Dislessia in cui, vista la velocità di esecuzione, risulta compromessa l'accuratezza del disegno del quadrato. Si ipotizza quindi che, per il gesto grafico, il disturbo coinvolga aspetti cognitivi, come ad esempio la minor attenzione nel movimento stesso oppure il minor interesse al raggiungimento di un risultato corretto e non sembra causato da disturbi a livello biomeccanico e motorio. Concludendo, il metodo di analisi utilizzato ha permesso di valutare e caratterizzare quantitativamente i disturbi nel gesto grafico di bambini con DSA e DCM in modo più completo. In futuro, questa metodologia potrebbe dare un valido aiuto nella caratterizzazione dei movimenti fini di altre patologie che comportano disturbi cognitivi e motori e potrebbe anche essere integrata con altri tipi di analisi come quella dell'EEG per l'individuazione di marcatori precoci di rischio di disturbi specifici del linguaggio e dell'apprendimento in età neonatale



PUBBLICAZIONI

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.

Accurate and convenient measurement of upper limb volume is an important clinical tool to measure incidence of lymphedema and response to treatments. There are several methods used to evaluate arm volumes. The most commonly used methods include water displacement and circumferential method (CM), but these techniques have some limitation in use and accuracy that needs the use of a new technique for volume and swelling detection: laser scanner 3D method (LS3D). The aim of the study was to compare, in terms of intra- and interreliability, the CM and LS3D methods for the upper limb measure in a healthy subject group.

Twelve healthy adults (average age, 29 ± 5.39 years; average weight, 63.88 ± 7.97 kg; and average height, 168.38 ± 7.29 cm) participated. Arm measurements were done using both CM and LS3D methods. Statistical analysis was conducted, and intra- and inter-reliability was investigated. CM and LS3D methods were also compared in terms of level of agreement.

Both CM and LS3D methods have a high inter- and intrarater reliability and a satisfactory level of agreement, but we found a statistically significant difference in terms of volume. The laser scanner is a more accurate volume instrument, and our results shown a statistically significant difference of volumes between methods.

Our findings provide LS3D is an innovative method of measuring the upper limb volume that could be used instead of CM. It combines precision, reproducibility, ease of use, and the ability to measure geometrical parameters and shape information of the scanned limb.

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.

This study aimed to characterize the effect of obesity on foot-type and plantar pressure distribution in adolescents. Ten obese adolescents (obese group; BMI: 35.45 ± 4.73 kg/m) and eight normal-weighted adolescents (control group; BMI: 18.67 ± 2.46 kg/m) were recruited. Both groups were evaluated while standing using the Pedar-X in-shoe system. Foot-ground contact was characterized using contact area, peak of force and pressure calculated for the subareas of the foot. The analysis showed that obese participants had significantly higher area of contact in forefoot and midfoot (only in medial area) regions in comparison with the control group, whereas no statistically significant differences were observed for the rearfoot region. As far as the maximum pressure and force was concerned, similar results were obtained for both groups. Obese participants showed higher values for all the regions, with the exception of medial rearfoot area, for which the values were similar between the two groups. The analysis of foot-type distribution displayed that in the obese group high percentage of participants presented flat foot (70%) respect to cavus foot (20%) and normal foot (10%); on the contrary, in the control group, foot-types were markedly different, with 25% of participants with flat foot, 25% with cavus foot and 50% with normal foot. These results are important from a clinical perspective to develop and enhance the rehabilitative options in these patients and to avoid a worsening of their foot abnormalities. Untreated flat foot can in fact be disabling and over time can result in significant difficulties for the patient.

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]

In recent years, the availability of low-cost equipment capable of recording kinematic data during walking has facilitated the outdoor assessment of gait parameters, thus overcoming the limitations of three-dimensional instrumented gait analysis (3D-GA). The aim of this study is twofold: firstly, to investigate whether a single sensor on the lower trunk could provide valid spatio-temporal parameters in level walking in normal-weight and obese adolescents compared to instrumented gait analysis (GA); secondly, to investigate whether the inertial sensor is capable of capturing the spatio-temporal features of obese adolescent gait. These were assessed in 10 obese and 8 non-obese adolescents using both a single inertial sensor on the lower trunk and an optoelectronic system. The parameters obtained were not statistically different in either normal-weight or obese participants between the two methods. Obese adolescents walked with longer stance and double support phase compared to normal-weight participants. The results showed that the inertial system is a valid means of evaluating spatio-temporal parameters in obese individuals.

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.

Nurses are exposed to the risk of injury while handling patients. This is particularly true for obese patients.

The goal of this paper is to estimate the spinal loads and the related risk of injury to nurses while lifting obese patients from the floor with a bariatric sheet during a hospital emergency.

Six male nurses participated in this study. The biomechanical analysis focused on the lifting strategy. Thirty obese in-patients were enrolled to take part in the experimental study and divided into three groups according to their Body Mass Index (BMI). Three-dimensional motion analysis was conducted using an optoelectronic system. The trunk kinematics and the loading on the spines of the operating nurses were computed.

Our data showed that when the nurse was operating from the central handle, his trunk was more flexed at the end of the lift with a reduced range of motion. The values were higher when the nurse lifted patients with higher BMIs. All kinetic parameters and tension in the lumbar muscles at the end of the movement were characterised by lower values for the nurse placed beside the patient's head or feet if compared to the operator positioned beside the central handle in all patient groups.

Our preliminary data suggest that only the reaction load on the spine of the nurse holding the central handle, closest to the patient's centre of mass, seems to exceed the recommended safety limits.

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]

A review of the literature was performed to answer the following questions: Does motor cortex excitability correlate with motor function? Do motor cortex excitability and cortex activation change after a rehabilitation program that results in improvements in motor outcomes? Can the 10-20 electroencephalography (EEG) system be used to locate the primary motor cortex when employing transcranial direct current stimulation? Is there a bihemispheric imbalance in individuals with cerebral palsy similar to what is observed in stroke survivors? The authors found there is an adaptation in the geometry of motor areas and the cortical representation of movement is variable following a brain lesion. The 10-20 EEG system may not be the best option for locating the primary motor cortex and positioning electrodes for noninvasive brain stimulation in children with cerebral palsy.

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.

The aim of this study was to assess static and dynamic balance related to rotational movements en pointe and en demi pointe in ballet dance students. The study group consisted of 13 people – students of one of the ballet schools in Poland: 9 dancers from the junior class (14 years old) and 4 dancers from the senior class (18 years old). For the purpose of statistical analysis, the group was divided into 4 subgroups. Each person took part in a static balance test which included a 30s trial with eyes opened and 30s trial with eyes closed. The examination of dynamic balance related to rotational movements was also performed to compare movements en pointe vs. movements en demi pointe. Analyses were performed using the Kistler 9286BA platforms, which are the module of BTS Smart DX 7000. Data processing was performed with the use of BTS Sway and Statistica 10. Accepted level of significance was $\alpha = 0.05$.

Increase in the following center of pressure parameters was observed in the examination with eyes closed: maximal radius, longitudinal range, equivalent area and velocity. Participants from the senior class did not show these differences. There were no differences found between movements en demi pointe in comparison with movements en pointe. Static balance deteriorated with eyes closed in the entire examined group. Participants from the senior class showed more stable parameters of static balance. There were no differences in dynamic balance when the base of support was decreased.

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.

Ankle foot orthoses (AFOs) are often used in children with Cerebral Palsy (CP) to facilitate and optimise their impaired gait pattern. The aim of this study was to assess quantitatively the effects of AFOs on gait in CP using a summary measure obtained by Gait Analysis (GA): the Gait Profile Score (GPS) with its Gait Variable Scores (GVSs).

A total of 21 children with CP (hemiplegic group: 11 children; diplegic group: 10 children) were evaluated barefoot and wearing AFOs using GA; GPS with its GVSs were calculated from GA data. The results evidenced that in diplegic children significant improvements when wearing AFOs were observed at pelvic tilt and ankle dorsi-plantarflexion GVS values; no changes were found as for GPS. The plegic side of hemiplegic children improved significantly globally with AFO, as displayed by the reduction of GPS value; in addition, some reductions were observed in terms of pelvic rotation and obliquity, knee flex-extension and ankle dorsi-plantarflexion GVSs. Significant changes appeared at some GVS values of the non-plegic side, too.

Our results showed that, compared with barefoot gait, AFOs enhanced gait strategy in diplegic and hemiplegic children with CP. While GPS, together with GVSs, seems to be a useful method for evaluating immediate effects of AFOs in hemiplegia, in diplegia the improvements are evident only in some GVSs (pelvic tilt and ankle dorsi-plantarflexion) but not in GPS.

Galli M, Cimolin V, Rigoldi C, Kleiner A, Condoluci C, Albertini G.

Use of the gait profile score for the quantification of gait pattern in down syndrome.

Journal of Developmental and Physical Disabilities. 2015 05/27:1-7. [Epub ahead of print]

Gait Analysis can characterize alterations in walking patterns, but results in a considerable amount of data that requires complex interpretation. The literature proposes some global indexes that represent the deviation of pathological gait from healthy gait pattern. In this study, the Gait Profile Score (GPS) and the Gait Variable Scores (GVS) were selected among the summary indexes for describing gait pattern of individuals with Down Syndrome (DS). Twenty-four participants with DS and 15 healthy individuals took part in this study. From their gait analysis data, the GPS and the GVSs were computed. The Mann-Whitney U test compared data of DS group and control group ($p < 0.05$). In participants with DS, the GPS presented global statistical difference in the gait pattern in comparison with the control group ($p < 0.05$). Moreover, all the GVSs pointed out statistical differences ($p < 0.05$),

Moreover, all the GVSs pointed out statistical differences ($p < 0.05$), displaying abnormal gait pattern at all lower limb joints. In this study, the GPS and GVSs revealed to be suitable in detecting the typical features of gait pattern of DS participants. Thus, the GPS seems to have validity as a summary measure of functional limitation during walking in DS individuals.

Pacifici I, Galli M, Kleiner AFR, Corona F, Coghe G, Marongiu E, Loi A, Crisafulli A, Cocco E, Marrosu 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.

Required Coefficient of Friction (RCOF) is one of the most critical gait parameters associated to the occurrence of slipping in individuals affected by neurological disorders characterized by balance impairments. This study aims to calculate RCOF in people with Multiple Sclerosis (MS) on the basis of three-dimensional Gait Analysis (GA) data.

This study enrolls 22 people with MS (pwMS) who were characterized by an Expanded Disability Status Score in the range 1.5-6 and 10 healthy controls (HC). All participants underwent to three-dimensional GA from which we extracted kinematic and kinetic data (i.e. the Ground Reaction Forces, GRF, and joint moments and powers in the sagittal plane). RCOF was calculated as the ratio of the shear to normal GRF components during the stance phase of gait cycle, and normalized by the walking velocity. Thus, the following variables were extracted: first peak (named P1COF), valley (named V1COF), and second peak (named P2COF) in RCOF curve; also computing the maximum ankle dorsi-plantarflexion moment (MOMmax) and the maximum ankle joint power (PWRmax).

Our data revealed that P2COF results are significantly lower in pwMS when compared to HC ($p = 0.043$; $Z = -2.025$). In pwMS, the study found a moderate, positive correlation between V1COF and MOMmax ($r = 0.558$; $p < 0.001$) and a moderate, positive correlation between EDSS score and MOMmax ($\rho = 0.622$; $p = 0.001$). While, in HC group, the study detected a moderate positive correlation between P1COF and MOMmax ($r = 0.636$; $p = 0.008$).

Friction during mid stance and push off phases is critically important to determine whether the frictional capabilities of foot/floor interface are sufficient to prevent slips in pwMS. The impaired ankle moment in MS group causes increased P2COF in comparison to HC, increasing the risk of slipping in the critical phase of transmission of the developed forces to kinematic chain. Also, the correlation analysis among RCOF values and kinetic variables describe the interplay between V1COF and MOMmax: the higher V1COF is, the higher is MOMmax; and the different correlation the study found between COF and kinetic parameters in MS and HC group highlights the different gait patterns of the two classes of subjects.

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.

The development of motor control in people affected by motor and cognitive pathologies leads to different behaviors in approaching everyday life activities. Understanding the origin of the differences in motor control between people with Down syndrome and those typically developing is very important for the definition of early and late intervention in rehabilitation. The aim of this study was to explore the stretch reflex and preprogrammed reactions as the origin of motor control development in a population of participants with Down syndrome. Eight subjects with Down syndrome (5 males, 3 females; mean age 23.11 ± 8.96) and 21 typically developing persons (7 males, 14 females; mean age 28.95 ± 9.56) were evaluated. The participants were seated on a chair with their dominant arm flexed at approximately 90° . Holding the handle of a bucket in his/her dominant hand, the participant was told to maintain the position after an unexpected load perturbation, produced by throwing a

The aim of this study was to assess static and dynamic balance related to rotational movements en pointe and en demi pointe in ballet dance students. The study group consisted of 13 people – students of one of the ballet schools in Poland: 9 dancers from the junior class (14 years old) and 4 dancers from the senior class (18 years old). For the purpose of statistical analysis, the group was divided into 4 subgroups. Each person took part in a static balance test which included a 30s trial with eyes opened and 30s trial with eyes closed. The examination of dynamic balance related to rotational movements was also performed to compare movements en pointe vs. movements en demi pointe. Analyses were performed using the Kistler 9286BA platforms, which are the module of BTS Smart DX 7000. Data processing was performed with the use of BTS Sway and Statistica 10. Accepted level of significance was $\alpha = 0.05$.

Increase in the following center of pressure parameters was observed in the examination with eyes closed: maximal radius, longitudinal range, equivalent area and velocity. Participants from the senior class did not show these differences. There were no differences found between movements en demi pointe in comparison with movements en pointe. Static balance deteriorated with eyes closed in the entire examined group. Participants from the senior class showed more stable parameters of static balance. There were no differences in dynamic balance when the base of support was decreased.

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.

Ankle foot orthoses (AFOs) are often used in children with Cerebral Palsy (CP) to facilitate and optimise their impaired gait pattern. The aim of this study was to assess quantitatively the effects of AFOs on gait in CP using a summary measure obtained by Gait Analysis (GA): the Gait Profile Score (GPS) with its Gait Variable Scores (GVSs).

A total of 21 children with CP (hemiplegic group: 11 children; diplegic group: 10 children) were evaluated barefoot and wearing AFOs using GA; GPS with its GVSs were calculated from GA data. The results evidenced that in diplegic children significant improvements when wearing AFOs were observed at pelvic tilt and ankle dorsi-plantarflexion GVS values; no changes were found as for GPS. The plegic side of hemiplegic children improved significantly globally with AFO, as displayed by the reduction of GPS value; in addition, some reductions were observed in terms of pelvic rotation and obliquity, knee flex-extension and ankle dorsi-plantarflexion GVSs. Significant changes appeared at some GVS values of the non-plegic side, too.

Our results showed that, compared with barefoot gait, AFOs enhanced gait strategy in diplegic and hemiplegic children with CP. While GPS, together with GVSs, seems to be a useful method for evaluating immediate effects of AFOs in hemiplegia, in diplegia the improvements are evident only in some GVSs (pelvic tilt and ankle dorsi-plantarflexion) but not in GPS.

Galli M, Cimolin V, Rigoldi C, Kleiner A, Condoluci C, Albertini G.

Use of the gait profile score for the quantification of gait pattern in down syndrome.

Journal of Developmental and Physical Disabilities. 2015 05/27:1-7. [Epub ahead of print]

Gait Analysis can characterize alterations in walking patterns, but results in a considerable amount of data that requires complex interpretation. The literature proposes some global indexes that represent the deviation of pathological gait from healthy gait pattern. In this study, the Gait Profile Score (GPS) and the Gait Variable Scores (GVS) were selected among the summary indexes for describing gait pattern of individuals with Down Syndrome (DS). Twenty-four participants with DS and 15 healthy individuals took part in this study. From their gait analysis data, the GPS and the GVSs were computed. The Mann-Whitney U test compared data of DS group and control group ($p < 0.05$). In participants with DS, the GPS presented global statistical difference in the gait pattern in comparison with the control group ($p < 0.05$). Moreover, all the GVSs pointed out statistical differences ($p < 0.05$),

displaying abnormal gait pattern at all lower limb joints. In this study, the GPS and GVSs revealed to be suitable in detecting the typical features of gait pattern of DS participants. Thus, the GPS seems to have validity as a summary measure of functional limitation during walking in DS individuals.

Pacifici I, Galli M, Kleiner AFR, Corona F, Coghe G, Marongiu E, Loi A, Crisafulli A, Cocco E, Marrosu 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.

Required Coefficient of Friction (RCOF) is one of the most critical gait parameters associated to the occurrence of slipping in individuals affected by neurological disorders characterized by balance impairments. This study aims to calculate RCOF in people with Multiple Sclerosis (MS) on the basis of three-dimensional Gait Analysis (GA) data.

This study enrolls 22 people with MS (pwMS) who were characterized by an Expanded Disability Status Score in the range 1.5-6 and 10 healthy controls (HC). All participants underwent to three-dimensional GA from which we extracted kinematic and kinetic data (i.e. the Ground Reaction Forces, GRF, and joint moments and powers in the sagittal plane). RCOF was calculated as the ratio of the shear to normal GRF components during the stance phase of gait cycle, and normalized by the walking velocity. Thus, the following variables were extracted: first peak (named P1COF), valley (named V1COF), and second peak (named P2COF) in RCOF curve; also computing the maximum ankle dorsi-plantarflexion moment (MOMmax) and the maximum ankle joint power (PWRmax).

Our data revealed that P2COF results are significantly lower in pwMS when compared to HC ($p=0.043$; $Z=-2.025$). In pwMS, the study found a moderate, positive correlation between V1COF and MOMmax ($r=0.558$; $p<0.001$) and a moderate, positive correlation between EDSS score and MOMmax ($\rho=0.622$; $p=0.001$). While, in HC group, the study detected a moderate positive correlation between P1COF and MOM max ($r=0.636$; $p=0.008$).

Friction during mid stance and push off phases is critically important to determine whether the frictional capabilities of foot/floor interface are sufficient to prevent slips in pwMS. The impaired ankle moment in MS group causes increased P2COF in comparison to HC, increasing the risk of slipping in the critical phase of transmission of the developed forces to kinematic chain. Also, the correlation analysis among RCOF values and kinetic variables describe the interplay between V1COF and MOMmax: the higher V1COF is, the higher is MOMmax; and the different correlation the study found between COF and kinetic parameters in MS and HC group highlights the different gait patterns of the two classes of subjects.

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.

The development of motor control in people affected by motor and cognitive pathologies leads to different behaviors in approaching everyday life activities. Understanding the origin of the differences in motor control between people with Down syndrome and those typically developing is very important for the definition of early and late intervention in rehabilitation. The aim of this study was to explore the stretch reflex and preprogrammed reactions as the origin of motor control development in a population of participants with Down syndrome. Eight subjects with Down syndrome (5 males, 3 females; mean age 23.11 ± 8.96) and 21 typically developing persons (7 males, 14 females; mean age 28.95 ± 9.56) were evaluated. The participants were seated on a chair with their dominant arm flexed at approximately 90° . Holding the handle of a bucket in his/her dominant hand, the participant was told to maintain the position after an unexpected load perturbation, produced by throwing a weight inside the bucket. The evaluation of primitive mechanisms of motor control revealed that no basic

abnormality was present in the early motor control mechanisms of subjects with Down syndrome. The results provide evidence to the hypothesis that peripheral control in Down syndrome is comparable to that of typically developing persons, permitting the development of motor control throughout their sensorial exploration of the external world. However, the difference in central nervous system structure between people with Down syndrome and controls could probably produce different shaping of the higher elaboration centers causing a delayed or a different neuromotor response.

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.

The aim of this study was to investigate the characteristic pattern of age-related cortical thinning in patients with Down Syndrome (DS), as assessed by MRI and automatic cortical thickness measurements.

Ninety-one non-demented subjects with DS (range 11-53 years) were examined using a 1.5 T scanner. MRI-based quantification of cortical thickness was performed using FreeSurfer software package. The Pearson product-moment correlation coefficient between age and mean cortical thickness was evaluated for all subjects participating in the study.

A significant negative correlation between cortical thickness and age was found bilaterally in the frontal, temporal, parietal and cingulate gyrus. Specific investigation of cerebral lobes showed a more evident involvement of the frontal one, compared to others. Moreover, the age related reduction of cortical thickness appeared to be more significant and rapid in patients between 20 and 30 years of age.

Our findings showed that Down Syndrome subjects are affected by a diffuse cortical thinning. The involvement of cortical structures can be observed at an earlier age than previous studies have reported.

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.

Prader-Willi syndrome (PWS) is the most frequent type of syndromic obesity and major clinical features include muscular hypotonia, early onset of obesity, short stature, scoliosis, developmental delays, reduced spontaneous physical activity, gait and postural disorders. Improving balance and walking ability in these patients could enhance their health status and quality of life.

The aim of this study was to quantify the effects of an Osteopathic Manipulative Treatment (OMT) session on gait pattern and posture in adults with PWS.

Ten patients with PWS (age: 37.0 + 4.3 years) were evaluated at admission (PRE session) and 24 h after the conclusion of one single 45-min OMT session (POST session), using gait analysis and static posturography. Two control groups were recruited: the first one included 15 obese subjects and the second group included 20 normal weight subjects.

After the OMT treatment, significant effects on posture and on walking were reported. In particular, significant improvements were observed in knee kinematics (knee position at initial contact and in mid-stance) and ankle kinetics (in terms of the peaks of ankle moment and power during terminal stance), with higher value of ground reaction force at push-off. Significant improvements were found in terms of postural analysis of the centre of pressure, which decreased its excursion in antero-posterior and medio-lateral direction and its trace length.

These preliminary results suggest that OMT within a comprehensive rehabilitation program could reduce costs and increase effectiveness of the rehabilitation treatment of these patients.

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

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

Behav Brain Res. 2016 Jan 1;296:35-46.

Our previous study showed an improvement in locomotor deficits after voluntary lifelong running in Ts65Dn mice, an animal model for Down syndrome (DS). In the present study, we employed mouse microarrays printed with 55,681 probes in an attempt to identify molecular changes in the cerebellar transcriptome that might contribute to the observed behavioral benefits of voluntary long-term running in Ts65Dn mice. Euploid mice were processed in parallel for comparative purposes in some analyses. We found that running significantly changed the expression of 4,315 genes in the cerebellum of Ts65Dn mice, over five times more than in euploid animals, up-regulating 1,991 and down-regulating 2,324 genes. Functional analysis of these genes revealed a significant enrichment of 92 terms in the biological process category, including regulation of biosynthesis and metabolism, protein modification, phosphate metabolism, synaptic transmission, development, regulation of cell death/apoptosis, protein transport, development, neurogenesis and neuron differentiation. The KEGG pathway database identified 18 pathways that are up-regulated and two that are down-regulated by running that were associated with learning, memory, cell signaling, proteolysis, regeneration, cell cycle, proliferation, growth, migration, and survival. Of six mRNA protein products we tested by immunoblotting, four showed significant running-associated changes in their levels, the most prominent in glutaminergic receptor metabotropic 1, and two showed changes that were close to significant. Thus, unexpectedly, our data point to the high molecular plasticity of Ts65Dn mouse cerebellum, which translated into humans with DS, suggests that the motor deficits of individuals with DS could markedly benefit from prolonged exercise.

LINEA 5

IDENTIFICAZIONE DI NUOVI MODELLI ORGANIZZATIVI E GESTIONALI PER OTTIMIZZARE LA RISPOSTA RIABILITATIVA NEL PAZIENTE DISABILE

Sviluppo e implementazione di un Network Italiano di Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale, con sottoprogetto dal titolo: La riabilitazione domiciliare con controllo remoto: sistemi innovativi per la somministrazione, la valutazione e la misura dell'esercizio riabilitativo.

In collaborazione con: IRCCS Centro Neurolesi Bonino Pulejo, IRCCS Fondazione Maugeri (Veruno), IRCCS Istituto Mondino, IRCCS Policlinico Ca' Grande, IRCCS Ospedale S. Camillo, IRCCS Don Gnocchi, IRCCS Istituto S. Raffaele, Milano.

L'incremento della popolazione anziana fragile, l'aumentata incidenza di condizioni cliniche croniche e le crescenti richieste di cure più personalizzate, richiedono nuovi approcci nell'erogazione dell'assistenza sanitaria. I Servizi Sanitari di numerosi Paesi chiedono una limitazione delle degenze ospedaliere per motivi clinici ed economici. Questo ha un effetto soprattutto sugli aspetti del recupero di buone capacità funzionali all'arto superiore e delle funzioni neuropsicologiche/cognitive, che richiedono tempi di recupero più lunghi ed approcci innovativi per le limitazioni nei risultati ottenuti con le tecniche classiche. Pertanto, i servizi sanitari territoriali hanno un ruolo sempre più preponderante nella gestione del paziente cronico. Tuttavia, tanti pazienti ancora non usufruiscono di un adeguato trattamento riabilitativo territoriale a causa degli eccessivi costi del trattamento domiciliare e delle difficoltà logistiche per raggiungere le sedi dei servizi ambulatoriali. In questo scenario, sostanzialmente comune a tutti i Sistemi Sanitari mondiali, la Teleriabilitazione potrebbe aiutare a superare molte difficoltà, tramite l'erogazione di trattamenti riabilitativi domiciliari (senza lo spostamento di operatori o di pazienti) e potrebbe divenire la chiave operativa per garantire la continuità assistenziale ospedale-territorio con un equo accesso ai servizi di sanità territoriale. Già da diversi anni vi sono studi che individuano nel trattamento riabilitativo domiciliare eseguito da Fisioterapisti o Terapisti Occupazionali un'alternativa valida per la prosecuzione della terapia riabilitativa in continuità con quella ospedaliera (7,8). Per le patologie neurologiche, che rappresentano la principale causa di disabilità nel mondo occidentale, molti recenti trials ed alcune metanalisi indicano che trattamenti specifici, per lo più basati su sistemi di realtà virtuale, erogati in tele-riabilitazione, producono risultati non inferiori rispetto agli stessi trattamenti erogati in Ospedale e nel contempo assicurano una maggiore assistenza rispetto alla terapia domiciliare convenzionale (9-12). Si tratta tuttavia di esperienze isolate che singolarmente non hanno la forza per incidere sulle correnti modalità di trattamento riabilitativo domiciliare. Oltre all'ambiente in cui è operato il processo di riabilitazione, è di fondamentale importanza l'applicazione di strategie di misura accurate e non invasive per controllo del processo terapeutico. La più accurata sensoristica basata sulle misure accelerometriche e la più ecologica sensoristica video basata sull'acquisizione "touchless" delle grandezze cinematiche, rappresentano le più promettenti e valide strategie attualmente sul mercato per garantire un controllo efficace e non invasivo della performance e della misura del processo riabilitativo. Questo progetto propone un importante salto di qualità in termini di misurazione reale delle variazioni cliniche che possono avvenire nelle persone inserite nello studio. Infatti la valutazione tradizionale in riabilitazione ha da sempre utilizzato scale di tipo ordinale ove l'intervallo tra i diversi livelli non è calcolabile e non è mai lo stesso neanche per lo stesso esaminato o esaminatore. I punteggi sono determinati in maniera arbitraria da chi ha proposto la scala. Gli strumenti che si propone di utilizzare sono invece reali strumenti di misura ove il dato numerico che emerge fornisce un elemento preciso ed oggettivo di quanto si sta valutando. Alcuni IRCCS della Rete di Neuroscienze hanno già esperienza in trattamenti in tele-riabilitazione o che sono dotati di sistemi potenzialmente in grado di effettuare tali trattamenti e questo rappresenta una grande opportunità per proporre la realizzazione di una rete integrata italiana per l'erogazione a distanza, su tutto il territorio nazionale, di trattamenti specifici di neuro riabilitazione motoria cognitiva e logopedia

nell'ambito di un più vasto progetto condiviso.

I sistemi per riabilitazione neuromotoria, logopedica, stabilometrica e cognitiva con tecniche di realtà virtuale consentono l'esecuzione, la misurazione, la valutazione e la registrazione di esercizi riabilitativi in ambiente aumentato. Gli ambienti implementativi inoltre consentono la creazione di scenari intuitivi nei quali poter lavorare in modo sicuro, innescando, tramite strategie di derivazione videoludica, meccanismi motivazionali che concorrono al raggiungimento dell'obiettivo riabilitativo.

Tutti i sistemi sono interfacciati con piattaforme di acquisizione, gestione, controllo, valutazione e riproduzione dei dati e prevedono un sistema di controllo tramite il quale il personale clinico abilitato può accedere al report del paziente e consultare le statistiche sui tempi di esercizio, la qualità, e le caratteristiche cinematiche dell'esercizio svolto, rivedere l'esecuzione dell'esercizio, dare indicazioni, modificare il protocollo riabilitativo.

Sono incluse nello studio persone con esiti di ictus cerebrale, prese in carico in fase sub-acuta, alla dimissione dalle strutture riabilitative che necessitano una continuità assistenziale. Si includono anche persone in fase cronica, che necessitano la prosecuzione del trattamento in quanto o hanno perso capacità motorie prima esistenti o mostrano un potenziale di recupero ancora presente, che in un contesto "positivo", come è il proprio domicilio, ed in un ambiente aumentativo potrebbero mostrare miglioramenti. I pazienti sono valutati all'inizio del trattamento e alla fine. Per alcune valutazioni può essere possibile anche un monitoraggio settimanale. Infatti alcuni aspetti della valutazione sono garantiti dalla strumentazione stessa, quindi fattibili anche in controllo remoto. Altre valutazioni di tipo cinematico ed elettromiografico sono fatte su un numero basso di persone ed presso l'IRCCS San Raffaele Pisana. La valutazione è completata con alcune scale per determinare le problematiche a livello di Body Function (menomazione) di capacità e performance (Disabilità) e di partecipazione e qualità della vita. In particolare si utilizza:

- Motricity Index, a livello del solo arto superiore Fugl Meyer, Range of Motion e Ashworth scale.
- Frenchay Arma test e Barthel Index modificato.
- Rankin modificata
- Sistemi di valutazione analogica visiva per testare la qualità della vita e le possibilità di partecipazione.

Lo studio è un Randomized Controlled Trial (RCT), in cui le persone incluse nel gruppo di controllo ricevono una terapia standard convenzionale a domicilio, se praticabile oppure un trattamento in regime ambulatoriale. Per una garanzia di eticità a coloro che entrano nel gruppo di controllo viene proposto al termine del loro trattamento anche un periodo di terapia con la Realtà Virtuale.

L'evoluzione straordinaria della tecnologia permette tramite il controllo remoto e la misura strumentale, lo svolgimento dell'attività motoria e cognitiva a domicilio ai pazienti senza la necessità di presenza reale di Professionisti della Riabilitazione. In questo ambito, l'utilizzo di un nuovo approccio riabilitativo come la Realtà Virtuale crea un arricchimento dell'ambiente dove il paziente esegue l'attività motoria o cognitiva, e, tale arricchimento può favorire i processi corticali di apprendimento e migliorare le possibilità di recupero successivo ad una lesione focale della corteccia cerebrale. Tale approccio annovera in letteratura parecchie esperienze con evidenze di validi risultati.

Occorre sottolineare inoltre come le innovazioni tecnologiche offerte dalle piattaforme di tele riabilitazione proposte permettono di somministrare il training neuromotorio, cognitivo, logopedico e stabilometrico direttamente a casa del paziente, inoltre le tecniche di misura avanzate consentono di valutare in modo oggettivo e replicabile gli outcome dell'esercizio riabilitativo rendendo possibile l'acquisizione e l'archiviazione dei progressi terapeutici. Un tale design dell'intervento terapeutico mostra quindi diversi aspetti chiave per quanto riguarda la stimolazione del riapprendimento motorio, vanno citati tra questi il coinvolgimento del paziente in ambiente aumentato, la personalizzabilità della proposta riabilitativa la standardizzabilità dell'esercizio. Inoltre lo sviluppo di tecnologie che sfruttano la somministrabilità del processo riabilitativo in ambiente domestico consente una immediata ricaduta sui costi di gestione del progetto terapeutico.

La strumentazione proposta permette di svolgere l'esercizio riabilitativo a casa del paziente senza controllo diretto del personale clinico, diversi sono i criteri di innovazione presenti:

- Ambiente di realtà virtuale personalizzabile;
- Feedback diretto sull'esecuzione dell'esercizio simulando la presenza del terapeuta e permettendo un'immediata correzione dell'esercizio riabilitativo.
- Controllo remoto in tempo reale o differito da parte del terapeuta, il caregiver o il fisiatra del lavoro fatto dal paziente. Intervento correttivo in tempo reale o counseling su qualità dell'esercizio.
- Possibilità di visualizzare da diversi punti di vista l'esecuzione dell'esercizio e la cinematica completa del segmento articolare tramite modello virtuale vettoriale.
- Visualizzazione delle statistiche giornaliere o settimanali con valutazione immediata dei progressi, del tempo di esercizio e dei miglioramenti sulle capacità di movimento.
- Promozione della condivisione dei risultati e la standardizzazione delle procedure sulla struttura condivisa in cloud networking tra gli IRCCS.

Nel 2016 è stato messo punto il protocollo condiviso dai centri inclusi nello studio multicentrico (NetworK IRCCS). E' stata effettuata una prima fase pilota su un campione ridotto per testare la fattibilità e la compliance dei pazienti. Sono stati definiti gli assessment previsti e gli esercizi selezionati per questo studio nell'ambito delle molteplici possibilità che fornisce la strumentazione acquisita. E' stato messo a punto il protocollo definitivo e avviato lo studio randomizzato controllato.

Creazione di un Registro per le Cefalee: l'impatto della cefalea cronica per la sanità pubblica

In collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità e altri Centri Cefalee Italiani

Secondo le recenti stime dell'Organizzazione Mondiale della Sanità i pazienti affetti da emicrania nel mondo sono 1.012.944.000 (Lim et al 2012). L'emicrania è quindi la terza malattia più frequente del genere umano e si conferma la malattia neurologica più disabilitante (2.6 volte più della Sclerosi Multipla, 3.3 volte più dell'Alzheimer, 40.6 volte più del Parkinson).

L'emicrania cronica (EC), cefalea presente >15 giorni al mese da almeno 3 mesi, deriva dall'evoluzione progressiva di un'emicrania episodica (EE). Si calcola che ogni anno approssimativamente il 2.5% dei soggetti affetti da EE presenti una trasformazione in forma cronica (Manack AN et al 2011) e che tale percentuale può raggiungere il 14% se rilevata in centri specialistici (Katsarava et al 2004). La prevalenza della EC nella popolazione generale varia considerevolmente in rapporto all'area geografica ed anche in relazione ai diversi criteri classificativi. Essa oscilla dal 0.5% al 5.1%, con una prevalenza media del 1.4%-2.2%, simile a quella della epilessia (Natoli JL et al 2010).

Esistono dei fattori di rischio riconosciuti per la trasformazione dell'emicrania episodica (EE) in EC: sesso femminile, età, basso livello socioeconomico, separazione o divorzio, eventi stressanti, obesità, russamento, patologie dolorose concomitanti, traumi cranici o cervicali, abuso di caffeina, iperuso di farmaci, ansia, depressione, presenza di allodinia durante l'attacco emicranico ed una frequenza degli attacchi emicranici > 6/mese (Lipton RB et al 2009).

E' dimostrato che i soggetti con EC, rispetto a quelli con EE, hanno maggiori comorbidità (psichiatriche, cardiocerebrovascolari, respiratorie, dolori cronici, osteoartrosi e obesità) (Buse et 2010; Bigal et al 2008) ed imponenti costi economici diretti (spese mediche, farmaci, ospedalizzazione) ed indiretti (mancata produttività, assenteismo); in Italia circa 3.5 miliardi di euro all'anno (Bloudek LM et al 2012). L'EC è una patologia ad alto impatto economico sia per il soggetto sia per il sistema sanitario. Lo studio longitudinale americano AMPP (American Migraine Prevalence and Prevention) ha stimato una media di costi annuali per persona, includendo i costi diretti e quelli indiretti, circa 4.4 volte maggiori per i soggetti affetti da EC rispetto a quelli con EE (7.750\$ vs 1.757\$) (Munakata et al 2009). Le spese mediche, l'accesso al pronto soccorso, le visite mediche generali o specialistiche sono significativamente maggiori nei soggetti con EC rispetto a quelli con EE con costi totali diretti per individuo oltre 10 volte superiori e quasi 50 volte maggiori rispetto a soggetti con altre forme di cefalea episodica (Lantéri-Minet M et al 2003).

I soggetti affetti da EC hanno maggiore disabilità (scala MIDAS: 63.4 EC vs 10 EE) (Lipton 2010), significativa riduzione della qualità della vita (Lantéri-Minet M et al 2011), minore produttività, e minor probabilità di avere impieghi full time (37.8% EC vs EE 52,3%) e circa il doppio di probabilità di essere disoccupati (20% EC vs EE 11.1%) (Buse et al 2010; Blumfeld et al 2011). Più della metà dei pazienti con EC (57.4%) ha riportato una perdita di 5 giorni di lavoro o scuola in più nei precedenti 3 mesi rispetto a quelli affetti da EE (24.3%) ed il 58.1 % una ridotta produttività in confronto al 18.2% nella EE (Buse et al 2012). Malgrado l'alta prevalenza e la disabilità della EC, solo il 6.6% dei soggetti con EC assume un farmaco preventivo antiemicranico, i restanti 84,6% solo farmaci analgesici per l'attacco, in prevalenza antinfiammatori, che per altro risultano efficaci solo nella metà dei casi (Lantéri-Minet M et al 2003). Non stupisce come la metà dei soggetti con EC vada incontro alla medication overuse headache (MOH) con un rischio globale che si aggira tra 31.1%-69.2% (Prencipe M et al 2001; Zwart et al 2004; Castillo et al 1999). Solo ¼ dei pazienti con EC ritorna a forma episodica in un periodo di 2 anni, quelli che continuano ad essere cronici malgrado la profilassi hanno un aumento della disabilità correlato alla cefalea (Manack A et al 2010). L'utilizzo di esami diagnostici e strumentali nei soggetti con CDH è molto alto, nel lavoro di Lantéri-Minet M (Lantéri-Minet M et al 2003) si è stimato che il 53,8% dei soggetti avesse effettuato esami strumentali per la cefalea. Lo scopo del progetto è quello di creare un registro nazionale per le cefalee croniche in collaborazione in rete con altri centri, valutando i seguenti aspetti:

- Clinico-assistenziali
- Garantire identificazione, visibilità ed accesso alle cure per la popolazione affetta da EC.
- Economici
- Consentire la riduzione dell'enorme aggravio economico per il SSN e per la società rappresentato da tali pazienti in termini di costi diretti (visite mediche, procedure diagnostiche o terapeutiche inutili/inadeguate, accessi al PS o ospedalizzazioni) ed indiretti (riduzione della produttività, assenteismo) mediante il controllo del grado di appropriatezza diagnostico-terapeutica dei diversi centri/ospedali, promuovendo l'applicazione delle vigenti linee guida AGENAS (www.agenas.it/agenas_pdf/Cefalea%20nell'adulto%20.pdf)
- Regolamentare l'accesso dei pazienti alle moderne procedure terapeutiche ad alto costo (impianto di neurostimolatori, tossina botulinica, anticorpi monoclonali, ecc)
- Medico-legali
- Definire i criteri di farmacoresistenza nella EC allo scopo di ottenere l'estensione a tutto il territorio nazionale di quanto previsto dalla Circolare Regionale della Lombardia n° 30 del 14/12/06 pubblicata sul BUR regionale il 15/1/07 in tema di invalidità civile per le cefalee croniche farmacoresistenti.
- Scientifici
- Creare il primo database al mondo sulla EC. Al database clinico-epidemiologico sarà associato un database biologico che consentirà lo sviluppo di studi di correlazione fenotipo-biotipo (biobanca, system-medicine).

Materiali e Metodi:

1. interlocutori.

Riferimento del registro saranno i medici operanti nei centri cefalee ospedalieri, universitari e territoriali italiani selezionati.

Figure professionali coinvolte:

Neuroepidemiologo (ISS)

Biostatistico (ISS)

Neurologi (3 dell'IRCCS San Raffaele Pisana) + neurologi dei centri selezionati

Data Manager (ISS)

Biologo (IRCCS San Raffaele Pisana).

2. Strumenti e metodi per la rilevazione dei dati

I dati demografici, epidemiologici e clinici dei pazienti verranno raccolti mediante una apposita scheda su un portale web creato ad hoc

Saranno identificati 2 neurologi di riferimento che saranno disponibili a fornire per via telefonica, web o fax informazioni dettagliate su procedure ecc.

Durata del progetto: 36 mesi.

Attività svolte:

Nella prima fase del progetto, sono stati coinvolti complessivamente 4 centri. Successivamente sarà valutato l'inserimento di altri centri nel progetto.

Elenco dei centri partecipanti:

- Roma: IRCCS San Raffaele Pisana – Centro Cefalee (centro coordinatore)
- Milano: Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta- Centro Cefalee
- Bologna: Alma Mater Studiorum Università di Bologna – Centro Cefalee
- Parma: Università di Parma- Centro Cefalee

Lo fase pilota dello studio si è conclusa. In 4 centri italiani (Roma, Bologna, Parma, Milano). Sono stati arruolati 63 soggetti, (51F:12M) di età media $47.4 \pm 14,6$. Nella nostra casistica, l'analisi descrittiva ha evidenziato che i soggetti affetti da emicrania cronica sono dei soggetti mediamente acculturati, con un impiego nella metà dei casi, con 2 figli, un basso consumo di caffè, scarsa assunzione di alcolici, poca attività fisica, un BMI nella norma. Tra le comorbidità l'insonnia, seguita da depressione e ansia, problemi endocrini (di cui la maggior parte tiroidei), ipertensione, presenza di dislipidemia e traumi sono risultate le più frequenti.

I pazienti hanno avuto un esordio medio dell'emicrania intorno ai 15 anni (con una frequenza di 5 gg emicrania/mese), per poi virare verso una forma cronica intorno ai 36 anni, la maggior parte dei pz riconduce il peggioramento clinico ad un fattore di stress, più spesso nell'area affettiva, a seguire quella lavorativa. In fase cronica hanno presentato una media di 23.6 ± 5.4 gg di emicrania/mese. 5 soggetti soffrivano anche di emicrania con aura, 2 di cefalea di tipo tensivo.

Molto elevato il n medio di triptani/fans/f di associazione in fase cronica, con una prevalenza dei triptani.

L'11%- 22% dei pazienti sono ricorsi a cure ed accertamenti fai da te. Elevato il numero degli accertamenti effettuati, più della metà ha effettuato una RMN encefalo.

In media hanno assunto almeno 2 th di profilassi su 7 nella loro storia clinica, tra queste le più frequenti antiepilettici (maggiormente topiramato) e antidepressivi (maggiormente amitriptilina), a seguire le altre categorie. Botox e agopuntura tra le più frequenti th alternative a quelle per os.

In fase episodica la più frequente terapia di profilassi assunta è stata quella con Ca-antagonisti (>> flunarizina), agopuntura e FKT tra quelle non farmacologiche.

L'analisi univariata è stata effettuata confrontando due gruppi alla volta: cronici meno gravi (da 15 a 20 giorni di emicrania/mese vs cronici più gravi da 21 a 30 gg di emicrania/mese).

Variabili significative o trend	p	Interpretazione
Centri	0.08	Bologna vede pz più gravi, Roma il contrario, Parma più o meno entrambi i gruppi
Alcool_consumo	0.04	Bevono di meno i pz meno gravi
Familiarità overuse farm cefal	0.01	più frequente nei pz più gravi
Traumi cervicali	0.06	più frequenti nei pz più gravi
Insonnia	0.05	più frequente nei pz più gravi
Ptosi	0.09	È più presente nei pz meno gravi
Iniezione congiuntiva	0.09	È più presente nei pz meno gravi
Lacrimazione	0.03	È più presente nei pz meno gravi
Modalità ricorso cure MMG	0.05	Ci vanno di più i pz meno gravi
Modalità ricorso cure speci cefalea	0.09	Ci vanno di più i pz più gravi
Modalità ricorso cure altro special	0.08	Ci vanno di più i pz meno gravi
Indennità	0.04	È più frequente nei pz meno gravi (?)
Abuso th sintomatiche	0.01	È più frequente nei pz più gravi
Topiramato	0.05	Lo hanno assunto più frequent i pz più gravi
Valproato	0.01	Lo hanno assunto più frequent i pz più gravi
Serotoninergici	0.05	Lo hanno assunto più frequent i pz più gravi
Nutraceutici	0.09	Lo hanno assunto più frequent i pz più gravi

Dal confronto tra cronici ed episodici non si è identificata nessuna variabile predittiva. Considerando queste differenze significative è stata effettuata l'analisi multivariata con la regressione logistica, considerand i gg di emicrania/mese come la variabile indipendente:

Variabili significative	p	OR
Consumo di alcool	0.033	Bevono di più i meno gravi (il 97% bevono di meno)
Insonnia	0.017	Chi soffre di insonnia ha 289 volte il rischio di essere più grave
Abuso di th sintomatiche	0.018	Chi abusa di th sintomatiche ha 212 volte il rischio di essere più grave

Il progetto di ampliamento e coinvolgimento di altri centri è tutt'ora in corso.

Ricerca e valutazione di indicatori in grado di migliorare la prescrizione farmacologica e la qualità della presa in carica delle persone in età geriatrica

La letteratura del settore è concorde nel definire estremamente inappropriata la qualità della prescrizione farmacologica nella popolazione anziana. Dati recenti prodotti da AsMed e riportati nel report annuale di AIFA sul consumo di farmaci ne confermano l'impatto nel nostro paese.

Obiettivo primario di questo progetto è quello di identificare e quantificare la presenza di prescrizioni inappropriate di farmaci ad anziani in Italia. Ottenuti questi dati l'obiettivo seguente è quello di associare la presenza di prescrizione inappropriata ad eventi avversi quali mortalità, riacutizzazioni, ospedalizzazione, etc. A corollario del primo obiettivo si è pianificata anche la realizzazione di indicatori specifici di inappropriatezza (estrinseci) per la popolazione geriatrica.

Lo studio condotto in collaborazione con AIFA, OsMed e Clicon è basato sull'interazione e rianalisi di dati prodotti da Clicon su 14 ASL nazionali.

Sono stati prodotti 13 indicatori di inappropriatezza prescrittiva specifici per la popolazione ultra 65enne e per il nostro paese (Onder et al., 2014).

Descrizione degli indicatori di inappropriatezza	
Polypharmacy	
1.	Polypharmacy
Treatment adherence	
2.	Low adherence to antidepressant drugs
3.	Low adherence to antihypertensive drugs
4.	Low adherence to hypoglycemic drugs
5.	Low adherence to antiosteoporotic drugs
Prescribing cascade	
6.	Use of anti-Parkinson and antipsychotic drugs
Undertreatment	
7.	Underutilization of statins in diabetic patients
Drug-drug interaction	
8.	Concomitant use of drugs increasing the risk of bleeding
9.	Concomitant use of drugs increasing the risk of renal failure and/or hyperkalemia
10.	Concomitant use of ≥ 2 QT prolonging drugs
Drugs to be avoided	
11.	Use of anti hypertensive drugs with unfavorable risk-benefit profile
12.	Use of high dosage of digoxin
13.	Use of oral hypoglycemic agents associated with high risk of hypoglycemia

Studio di Prevenzione Primaria delle Cadute domiciliari in Pazienti Anziani a rischio

Studio PREMIO - Studio di PREvenzione PriMaria delle Cadute domiciliari in Pazienti Anziani a rischio

Sponsor: Federazione Italiana Medici di Medicina Generale (FIMMG)

Ogni anno si verificano in Italia fra i tre e i quattro milioni di incidenti domestici, che come è noto colpiscono prevalentemente gli anziani, con conseguenze rilevanti in termini di disabilità, ricoveri e mortalità. Tra gli incidenti domestici, le cadute rappresentano la voce più importante, al punto che si calcola che un terzo degli ultrasessantenni ne rimanga vittima, con costi umani, sociali e materiali straordinari. Compito prioritario dei medici di famiglia, interlocutori di fiducia, è prevenire le cadute negli anziani a rischio e le relative conseguenze socio-economiche attraverso interventi di tipo educativo mirati. In questo contesto, l'anziano fragile, cioè la fascia maggiormente affetta da declino fisico, psichico, sociale, che può rappresentare fino al 20% di tutti gli anziani, è sicuramente un target prioritario di ogni strategia di prevenzione.

Fattori di rischio riconosciuti, secondo le Linee Guida "Prevenzione delle cadute da incidente domestico negli anziani" del Piano Nazionale Linee Guida (PNLG, Maggio 2007), sono: storie di precedenti cadute; paura di cadere; polifarmacoterapia e assunzione di farmaci particolari; alterazione della mobilità; alterazione della vista; rischi domestici; isolamento sociale; condizioni molto precarie di salute; malattie del sistema cardiovascolare; depressione; demenza; epilessia; difficoltà nell'estensione delle ginocchia; confusione; clearance della creatinina < 65 ml/min; utilizzo di lenti multifocali; artrite e/o artrosi; inoltre come già sottolineato dalle Linee Guida NICE anche l'appartenenza al sesso femminile e il crescere dell'età sono fattori di rischio rilevanti.

Il Medico di Medicina Generale (MMG), per il suo ruolo sul territorio ed il rapporto di fiducia con l'assistito è l'interlocutore privilegiato per l'implementazione di programmi di prevenzione delle cadute. Lo scopo del presente studio è quello di valutare se l'azione preventiva del Medico di Famiglia, basato sui programmi proposti, riduce il numero delle cadute tra gli anziani (soggetti > 65 anni) ad elevato rischio di caduta.

Il progetto si propone inoltre di valutare la differenza, in termini di riduzione relativa, di cadute domiciliari riportate ed eventuali conseguenti fratture e/o di ammissioni al Pronto Soccorso e/o di ricoveri ospedalieri, tra un gruppo di pazienti a cui viene offerto un programma di intervento coordinato dal MMG seguito da un supporto periodico al paziente e un gruppo di controllo.

L'endpoint primario consiste nell'effettuare una comparazione fra i soggetti dei due gruppi per il numero di cadute riportate al Medico di Medicina Generale durante il periodo dello studio (1 anno).

Gli endpoint secondari consistono nell'effettuare:

- Valutazione comparativa, a 1 anno dall'inizio dello studio, del numero di ammissioni al Pronto Soccorso inerenti all'evento "caduta" riportate dal paziente al medico nei due gruppi di studio.
- Valutazione comparativa, a 1 anno dall'inizio dello studio, del tipo e numero di accessi a visita specialistica inerenti l'evento "caduta", riportate dal paziente al medico nei due gruppi di studio.
- Valutazione comparativa, a 1 anno dall'inizio dello studio, del numero di fratture post-traumatiche riportate dal paziente al Medico nei due gruppi di studio.
- Valutazione comparativa, a 1 anno dall'inizio dello studio, del numero di ricoveri inerenti all'evento caduta, riportati dal paziente al Medico nei due gruppi di pazienti.






Si tratta di uno studio multicentrico interventistico educativo non farmacologico.

Sono interessati circa 100 MMG ai quali viene richiesto di reclutare, previa sottoscrizione del consenso informato, 20 pazienti ad alto rischio caduta (con anamnesi positiva per 5 fattori di rischio da selezionare da una lista indicata nel protocollo).

Per ogni Medico di Medicina Generale vengono reclutati i primi 20 pazienti che arrivano ad osservazione (visita in studio, visita domiciliare, visita domiciliare programmata).

Di questi 10 pazienti sono randomizzati per ricevere una lista di istruzioni e suggerimenti per evitare le cadute in ambito domestico, unitamente a specifiche raccomandazioni in merito ad una corretta nutrizione. L'intervento è focalizzato sul counselling medico e comportamentale, sulla valutazione dei fattori di rischio domestici (con visita a domicilio del paziente) e su di un programma di attività fisica. Gli altri 10 soggetti sono seguiti secondo "normal practice" misurando e riportando gli end points dello studio con la stessa tempistica utilizzata per il gruppo di trattamento. Per garantire un analogo senso di coinvolgimento nello studio e per evitare discriminazioni di rilevanza etica, a questi pazienti vengono proposte le stesse raccomandazioni in merito a corretta nutrizione offerte al gruppo di intervento.

Una volta al mese il medico contatta i soggetti al fine di reiterare i contenuti della lista di istruzioni e suggerimenti inseriti nel programma previsto. Inoltre, il medico in occasione del mese 3, 6, 9 ed alla conclusione del trattamento (mese 12) raccoglie il diario individuale su cui i pazienti riportano eventuali cadute (tutti i 20 pazienti) e per il gruppo di intervento (10 pazienti) l'adesione al programma di attività fisica. All'inizio dello studio, Fase0 (F0) ed a metà del trattamento, Fase6 (F6) il medico, o un operatore sanitario esperto di prevenzione cadute, esegue una visita domiciliare al paziente per valutare la presenza di rischi nell'ambiente domestico e lasciare le indicazioni su come evitarli. Il disegno dello studio è sintetizzato nel prospetto seguente:

FASE (mese da inizio studio)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Arruolamento pazienti 	[Shaded]												
Visita domiciliare 	[Shaded]												
Sostegno al programma 	[Shaded]												
Raccolta diari 	[Shaded]												
Test Soddisfazione 	[Shaded]												

Durata complessiva dello studio 18 mesi (di cui 12 mesi di trattamento).

Numero di Pazienti: 2100 soggetti.

Ci si attende una diminuzione delle cadute nella popolazione target: pazienti anziani (maggiori di 65 anni) definiti 'ad alto rischio caduta' in base ai fattori di rischio più comunemente riportati dalla letteratura.

Studio di fattibilità, sicurezza ed efficacia di un programma di riabilitazione mediante esercizio fisico telemonitorato a domicilio, in pazienti anziani già sottoposti a chirurgia cardiaca, con scompenso cardiaco di grado avanzato.

La Rete cardiovascolare IRCCS in cui viene svolto questo studio, coinvolge i seguenti centri: IRCCS Centro Cardiologico; IRCCS Multimedica; Policlinico San Donato; Fondazione Ca' Grande, Ospedale Maggiore Policlinico; Fondazione Policlinico San Matteo; Fondazione Salvatore Maugeri; IRCCS Ospedale San Raffaele; Istituto Auxiologico Italiano; Istituto Clinico Humanitas; Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri; Ospedale Pediatrico Bambino Gesù; IRCCS San Raffaele Pisana; ISMETT; SDN; Neuromed.

Lo Scompenso cardiaco, sindrome evolutiva della patologia cardiovascolare, è una condizione clinica che sta assumendo dimensioni epidemiche, presentando un'incidenza nella popolazione generale tra lo 0.5-1.5%, e tra 5-10% nella popolazione sopra i 70 anni di età. Esso è gravato inoltre da elevata mortalità, compresa fra il 5 ed il 60% annuo, sulla base della gravità dei sintomi.

La scarsa tolleranza all'esercizio è la principale estrinsecazione fisiopatologica e sintomatologica dello scompenso cardiaco cronico. La ridotta capacità aerobica nello scompenso cardiaco è dovuta ad una serie di alterazioni che si verificano sia a livello cardiaco che a livello periferico, circolatorio e muscolare.

Il training fisico nello scompenso cardiaco determina un miglioramento della capacità funzionale e della tolleranza allo sforzo, attraverso una serie di modificazioni indotte soprattutto a livello periferico ma anche centrale. Infine, una recente metanalisi ha evidenziato che un programma di esercizio di almeno 2 mesi determina una significativa riduzione della mortalità nello scompenso cardiaco cronico. Tuttavia, malgrado le evidenze cliniche, il training fisico non è entrato a far parte dell'armamentario terapeutico usuale. Un limite all'utilizzo del training fisico nel paziente con scompenso cardiaco, specie se anziano, è indubbiamente costituito dalla sua ridotta praticabilità in soggetti spesso limitati anche da patologie concomitanti e dalla difficoltà nel raggiungere una sufficiente e duratura compliance, anche per problemi logistici. La classe avanzata dei pazienti e di conseguenza la necessità di monitorizzare strettamente eventuali variazioni dello stato clinico giustifica il ricorso, per la gestione di questi pazienti, ad un sistema telemedicale, che permetta la supervisione del training fisico da parte di operatori specialisti.

Lo studio si prefigge di valutare la fattibilità, l'efficacia e la sicurezza di un programma domiciliare di training fisico, supervisionato mediante un sistema telemedicale della durata di almeno 18 mesi in pazienti anziani (età > 65 anni) con scompenso cardiaco in classe avanzata (NYHA III) già sottoposti a chirurgia cardiaca in termini di mortalità totale e ospedalizzazione per qualsiasi causa. Obiettivi secondari riguardano l'efficacia del training relativamente a capacità funzionale, qualità di vita ed aspetti economici.

Lo studio prevede l'arruolamento complessivo di 100 pazienti (età > 65 anni), con scompenso cardiaco di grado moderato/avanzato (classe NYHA III), già sottoposti ad intervento cardiocirurgico, suddivisi in 2 gruppi omogenei per età e sesso.

Dopo una prima fase di impostazione del training fisico a cui i pazienti verranno sottoposti in regime ospedaliero, questi saranno randomizzati in due gruppi (gruppo A e gruppo B).

Dopo la dimissione, il gruppo A (50 pazienti, intervento) viene sottoposto a riallenamento all'esercizio fisico attraverso training con cicloergometro, al domicilio del paziente, secondo un protocollo predefinito.

Il gruppo B (50 pazienti, controllo) viene seguito con follow-up strutturato.

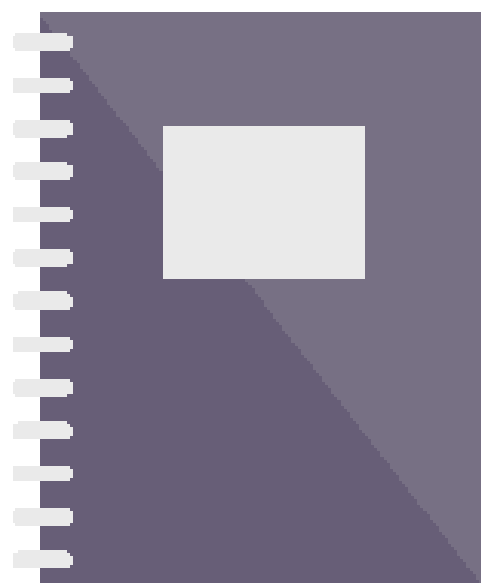
Al momento della randomizzazione, tutti i pazienti vengono sottoposti a valutazione clinica, esami

ematologici standard, ecocardiogramma, holter, test ergometrico con valutazione dei gas espirati (VO₂ max), test del cammino e questionario sulla Qualità della Vita (SF 36 questionnaire). Tali valutazioni vengono ripetute a 12 e 18 mesi dall'arruolamento.

Ciascun paziente viene fornito di una postazione domiciliare per la registrazione, gestione e trasmissione di parametri biologici e vitali, quali: frequenza e ritmo cardiaco, frequenza respiratoria, saturazione arteriosa di O₂, attività fisica giornaliera e di un cicloergometro professionale, per svolgere l'attività fisica necessaria e per il monitoraggio dei parametri emodinamici durante le sedute di allenamento.

Il paziente viene monitorizzato tramite l'invio dei dati attraverso un sistema telematico al centro ospedaliero di riferimento, quotidianamente per la prima settimana, a giorni alterni per la settimana successiva, settimanalmente per il restante periodo fino al completamento del follow-up e comunque ogni qualvolta siano necessarie modifiche del carico di lavoro.

Ci si attende di poter valutare e monitorare gli effetti del training fisico in pazienti affetti da scompenso cardiaco sia in ambito ospedaliero, attraverso un sistema telemedicale che in regime domiciliare, attraverso una teleriabilitazione. Quest'ultima ha una ricaduta positiva sull'efficacia, la qualità di vita e la morbilità/disabilità dei soggetti arruolati.



PUBBLICAZIONI

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.

The aim of the study was to evaluate the effect of an e-learning educational program meant to foster the quality of drug prescription in hospitalized elderly patients.

Twenty geriatric and internal medicine wards were randomized to intervention (e-learning educational program) or control (basic geriatric pharmacology notions). Logistic regression analysis was used in order to assess the effect of the intervention on the use of potentially inappropriate medication (PIM, primary outcome) at hospital discharge. Secondary outcomes were a reduced prevalence of at least one potential drug-drug interaction (DDI) and potentially severe DDI at discharge. Mortality rate and incidence of re-hospitalizations were other secondary outcomes assessed at the 12-month follow-up.

A total of 697 patients (347 in the intervention and 350 in the control arms) were enrolled. No difference in the prevalence of PIM at discharge was found between arms (OR 1.29 95%CI 0.87-1.91). We also found no decrease in the prevalence of DDI (OR 0.67 95%CI 0.34-1.28) and potentially severe DDI (OR 0.86 95%CI 0.63-1.15) at discharge, nor in mortality rates and incidence of re-hospitalization at 12-month follow-up.

This e-learning educational program had no clear effect on the quality of drug prescription and clinical outcomes in hospitalized elderly patients. Given the high prevalence of PIMs and potential DDIs recorded in the frame of this study, other approaches should be developed in order to improve the quality of drug prescription in this population.

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.

Background: persons who are 65 years or older often spend an important part of their lives indoors thus adverse indoor climate might influence their health status.

Objective: to evaluate the influence of indoor air quality and contaminants on older people's respiratory health.

Design: cross-sectional study.

Setting: 21 long-term care residences (LTC) in the city of Porto, Portugal.

Subjects: older people living in LTC with ≥ 65 years old.

Methods: the Portuguese version of BOLD questionnaire was administered by an interviewer to older residents able to participate (n = 143). Indoor air contaminants (IAC) were measured twice, during winter and summer in 135 areas. Mixed effects logistic regression models were used to study the association between the health questionnaire results and the monitored IAC, adjusted for age, smoking habits, gender and number of years living in the LTC.

Results: cough (23%) and sputum (12%) were the major respiratory symptoms, and allergic rhinitis (22%) the main self-reported illness. Overall particulate matter up to 2.5 micrometres in size median concentration was above the reference levels both in winter and summer seasons. Peak values of particulate matter up to 10 micrometres in size (PM10), total volatile organic compounds, carbon dioxide, bacteria and fungi exceeded the reference levels. Older people exposed to PM10 above the reference levels demonstrated higher odds of allergic rhinitis (OR = 2.9, 95% CI: 1.1-7.2).

Conclusion: high levels of PM10 were associated with 3-fold odds of allergic rhinitis. No association was found between indoor air chemical and biological contaminants and respiratory symptoms.

Onder G, Marengoni A, Russo P, Degli Esposti L, Fini M, Monaco A, Bonassi S, Palmer K, Marrocco W, Pozzi G, Sangiorgi D, Buda S, Marchionni N, Mammarella F, Bernabei R, Pani L, Pecorelli S; Geriatrics Working Group of the Italian Medicines Agency (Agenzia Italiana del Farmaco, AIFA); Medicines Utilization Monitoring Center Health Database Network.

Advanced Age and Medication Prescription: More Years, Less Medications? A Nationwide Report From the Italian Medicines Agency.

J Am Med Dir Assoc. 2016 Feb 1;17(2):168-172.

In older adults co-occurrence of multiple diseases often leads to use of multiple medications (polypharmacy). The aim of the present study is to describe how prescription of medications varies across age groups, with specific focus on the oldest old.

We performed a cross-sectional study using 2013 data from the OsMed Health-DB database (mean number of medicines and defined daily doses prescribed in 15,931,642 individuals). There were 3,378,725 individuals age 65 years or older (21.2% of the study sample).

The mean number of prescribed medications progressively rose from 1.9 in the age group <65 years to 7.4 in the age group 80-84 years and then declined, with a more marked reduction in the age group 95 years or older with a mean number of 2.8 medications. A similar pattern was observed for the mean number of defined daily doses. Among participants age ≥ 65 years, proton pump inhibitors were the most commonly prescribed medication (40.9% of individuals ≥ 65 years), followed by platelet aggregation inhibitors (32.8%) and hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (26.1%). A decline in prescription was observed among individuals age 90 years or older, but this reduction was less consistent for medications used to treat acute conditions (ie, antibiotics and glucocorticoids) rather than preventive medicines commonly used to treat chronic diseases (ie, antihypertensive medications and hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors).

The burden of medication treatment progressively increases till age 85 and substantially declines after age of 90 years. Patterns of medication prescription widely vary across age groups.

RICERCA FINALIZZATA E GIOVANI RICERCATORI



MINISTERO DELLA SALUTE RICERCA FINALIZZATA

Anno 2009. Right ventricular adaptation in pulmonary arterial hypertension: the interplay between shape and myocardial injury

La disfunzione ventricolare destra nei pazienti con ipertensione polmonare severa è considerata essere secondaria ad un “afterload mismatch”, ovvero la contrattilità del ventricolo destro è aumentata, ma non in misura adeguata per superare l’aumento del post-carico (afterload).

Nel presente lavoro si è voluto studiare l’impatto del tipo di rimodellamento ventricolare destro (rapporto massa/volume ventricolare destro (M/V VD), della presenza di delayed enhancement ventricolare destro (DE) (verosimile indice di fibrosi cardiaca) sulla funzione sistolica del ventricolo destro valutata come frazione d’ieiezione (FE VD). Inoltre, è stato studiato il possibile ruolo di alcuni biomarkers nel rimodellamento ventricolare destro. Questi biomarkers includevano indici di necrosi miocardica (cTnT), peptidi vasoattivi (NT-proBNP, ET-1), ed alcune citochine (TNFalfa, IL-6, IL-17, VEGF, Activina, GDF-8, GDF-15). Infine, è stato valutato l’impatto prognostico a lungo termine di tutti questi fattori.

Valutazione basale

La popolazione ha incluso per la valutazione iniziale 60 pazienti (arruolati per questo studio) e 25 pazienti che avevano eseguito una RM cardiaca dal 2009 al 2013 con un protocollo analogo. Tutti i pazienti avevano una ipertensione arteriosa polmonare di grado moderato severo. Alla risonanza magnetica cardiaca (RM) i pazienti, rispetto al gruppo di controllo, presentavano un aumento dei volumi diastolici e sistolici del ventricolo destro con una riduzione della frazione d’ieiezione (FE VD). Per quanto riguarda i biomarkers, questi hanno mostrato livelli plasmatici più elevati rispetto al gruppo di controllo. Gli unici biomarkers che hanno mostrato una correlazione con le variabili emodinamiche e di RM cardiaca sono stati: la cTnT con la pressione atriale destra, NT-proBNP con la pressione atriale destra, TNF-alfa con la somma delle aree di DE, il GDF-15 con il volume telesistolico del ventricolo destro e la frazione d’ieiezione del ventricolo destro.

Dalla regressione multipla è emerso che i fattori predittivi della funzione ventricolare destra sono a) il post-carico (resistenze vascolari polmonari totali RVPT), b) il tipo di rimodellamento (rapporto massa/volume del ventricolo destro) e c) il numero delle aree con delayed enhancement. Il ruolo di un danno miocardico nel determinismo della disfunzione ventricolare destra è rafforzato dai risultati del sottostudio dei pazienti con ipertensione arteriosa polmonare associata ad infezione HIV/HVC. In questi pazienti la biopsia endomiocardica ha permesso di documentare dei focolai di miocardite attiva.

Dopo circa 9+2 mesi i pazienti sono stati rivalutati per verificare l’effetto della terapia impostata dopo la valutazione iniziale. I dati mostrano una tendenza al miglioramento clinico, ed un netto miglioramento emodinamico (riduzione significativa delle resistenze vascolari polmonari, della pressione media polmonare ed aumento dell’indice cardiaco) ed un aumento della FE VD. Analizzando i fattori che sono correlati al miglioramento della FE VD è emerso che la FE VD basale, il rapporto M/V ventricolare destro e la somma delle aree con DE sono i predittori indipendenti. Questo risultato riconferma il ruolo del danno miocardico nel predire il possibile recupero della funzione ventricolare destra dopo terapia.

Durante il periodo di follow-up (1343+882 giorni) sono deceduti 12 pazienti e 7 hanno avuto la necessità di iniziare un prostanoide parenterale (end-point dello studio).

Nella analisi univariata molte variabili basali o al 2 controllo sono risultate predittori dell’evento clinico. L’analisi multivariata ha permesso di semplificare identificando due modelli.

Nel primo modello i predittori indipendenti sono l'indice cardiaco alla valutazione basale, e la classe funzionale NYHA al 2 controllo, mentre nel secondo modello sono risultati fattori indipendenti il sesso maschile e la classe NYHA basale.

Questi risultati indicano come i parametri più rilevanti dal punto di vista prognostico siano piuttosto semplici (classe NYHA basale o al 2 controllo) in quanto riflettono la compromissione cardio-respiratoria-muscolare causata dalla malattia. Questo risultato non esclude l'utilità di metodiche strumentali invasive (cateterismo cardiaco con la misura dell'IC) e non invasive (RM cardiaca con la misura della FE VD) come parametri che aiutano a "refinire" la prognosi di questi pazienti.

MINISTERO DELLA SALUTE
BANDO GIOVANI RICERCATORI

Anno 2011. Genetic and Lifestyle Factors in gastric cancer epidemiology: enhancing research through the establishment of an international consortium.

Il progetto prevede il coinvolgimento di: Laboratorio di Epidemiologia Clinica e Molecolare dell'IRCCS San Raffaele Pisana; Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità dell'Università di Milano; Laboratorio di Epidemiologia Generale, Unità di Epidemiologia Analitica dell'IRCCS Istituto Mario Negri; alcune strutture ed enti di ricerca che fanno parte del Consorzio Internazionale, quali: University of Porto, Public Health Agency of Canada, Aichi Cancer Center Research Institute, Giappone. Il cancro gastrico (GC) è la seconda causa di morte per cancro nel mondo, ed è legata all'infezione da *helicobacter pylori* (HP) e a fattori di rischio ambientali. Molti studi caso-controllo sono stati condotti finora ed una strategia di gruppo potrebbe portare a nuove scoperte circa la sua etiologia. Numerosi consorzi di studi epidemiologici sono stati creati in relazione a numerose patologie, ma nessuno ha focalizzato l'attenzione sul GC.

Il principale obiettivo dello studio è creare un Consorzio internazionale sul cancro gastrico che includa il maggior numero possibile di studi osservazionali caso-controllo. Il progetto prevede di studiare:

- i polimorfismi dei geni delle mucine (legati all'aderenza di HP alla mucosa gastrica) in casi e controlli categorizzati come positivi e negativi all'infezione da HP.
- i fattori legati alla dieta come singoli componenti o combinazioni di componenti, in relazione al rischio di sviluppare GC in base al sito tumorale e all'istotipo.
- il ruolo dei fattori non legati alla dieta (alcol e fumo) nell'etiologia di GC.

E' stato avviato il consorzio di studi epidemiologici "Stomach cancer Pooling (StoP) Project" (www.stop-project.org). Hanno aderito 29 studi condotti in 13 paesi, per un totale di oltre 13.000 casi e 30.000 controlli. I dati degli studi sono stati raccolti ed è stata completata la versione 1 del database StoP. Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Per quanto concerne le attività dell'IRCCS San Raffaele Pisana: E' stato redatto un articolo scientifico intitolato "MUC1, MUC5AC and MUC6 polymorphisms, Helicobacter Pylori infection and gastric cancer: a systematic review and meta-analysis". L'articolo è stato sottomesso alla rivista *European Journal of Cancer Prevention* (30 maggio 2016) e al momento è "under review". Sono stati identificati i campioni di DNA disponibili per la genotipizzazione ed l'80% di essi è stato inviato all'Unità di Roma. La genotipizzazione dei campioni inizierà nel mese di Aprile 2017.

Anno 2009. Transcranial stimulation for inducing sleep: effectiveness of tDCS and TMS stimulation

Sono coinvolte nel progetto le seguenti strutture: Dipartimento di Psicologia, Università Sapienza Roma; Neuroscienze Cliniche e Neuroimmagini Funzionale, IRCCS San Raffaele Pisana; Dipartimento di Scienze della Salute, Università de L'Aquila.

L'obiettivo generale di questo progetto è quello di verificare l'efficacia di tecniche non-invasive di stimolazione cerebrale finalizzate all'induzione di sincronizzazione elettroencefalografica (EEG) nell'uomo. L'intero progetto ha come obiettivo ultimo quello di aprire prospettive affascinanti per indurre il sonno negli esseri umani con un approccio non farmacologico.

Se gli studi empirici del gruppo di ricerca condotti su volontari sani confermeranno le ipotesi, i risultati avranno un impatto diretto su molti pazienti che soffrono di disturbi del sonno e, soprattutto, per i pazienti con insonnia primaria, dal momento che una breve latenza di addormentamento è un improvement clinicamente significativo per la maggior parte di loro.

All'interno di questa generale prospettiva, il programma prevede una serie di studi che applicano Stimolazione transcranica in Corrente Continua (tDCS) o Alternata (tACS), e Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) in soggetti sani per indagare gli effetti sul sonno e la vigilanza.

Nello specifico, il progetto prevede una serie di esperimenti indipendenti con l'obiettivo più specifico di dimostrare:

- l'efficacia delle procedure di stimolazione transcranica nell'incrementare la fisiologica pressione verso il sonno e l'attività EEG spontanea a bassa frequenza (che ne è la sua diretta espressione);
- definire l'ampiezza delle modificazioni soggettive ed oggettive (EEG) indotte;
- valutare il ruolo dei fattori permissivi/modulatori di questa efficacia.

Nell'ambito del progetto "Transcranial stimulation for inducing sleep: Effectiveness of tDCS and TMS techniques" sono stati eseguiti un totale di 11 studi/esperimenti per valutare l'efficacia delle tecniche di stimolazione transcranica nel modificare le caratteristiche dell'EEG a riposo (o durante il sonno) in funzione di opportune stimolazioni della corteccia cerebrale. I risultati della ricerca sono necessariamente riassunti nei termini dei singoli esperimenti eseguiti:

1. Stimolazione TMS: Modulazione dell'eccitabilità corticale: Il quadro dei risultati indica sinteticamente: [A] effetti più ampi nella condizione ad occhi aperti; [B] modificazioni regionali specifiche nelle due bande EEG espressione di sonnolenza (δ e θ), che interessano maggiormente le aree anteriori; [C] la presenza di una modulazione circadiana. Confronto della topografia EEG prima e dopo la stimolazione TMS: aumento dell'attività θ , ma non specifico per la condizione sperimentale.
2. Stimolazione tDCS a 0.8 Hz: Assenza di un coerente incremento delle frequenze lente dell'EEG. Seppur in forma di tendenza (ben lontana da dignità statistica) si osservano, al contrario incrementi delle attività EEG a frequenza più rapida.
3. Stimolazione tDCS a 5 Hz: La stimolazione anodica si associa ad un incremento delle frequenze lente dell'EEG (δ e θ), con una relativa specificità regionale (principalmente le aree corticali anteriori).
4. Stimolazione tDCS a 0.8 vs. 5 Hz: Significativo incremento della slow-wave activity (SWA) nella condizione anodica a 5 Hz, correlato con le misure di sonnolenza soggettiva (variazioni dell'EEG spontaneo frequenza- e polarità-specifiche).
5. Stimolazione tACS a 0.8 vs. 5 Hz: Efficacia della stimolazione tACS sulla corteccia frontale nell'incrementare l'attività δ perifocale alla stimolazione, associata alla sonnolenza soggettiva (effetti

per frequenza di stimolazione a 0.8 Hz > 5 Hz.

6. Studio pilota di stimolazione tDCS a 0.8 Hz in soggetti privati di sonno: Poche indicazioni di un effetto potenziante degli effetti della stimolazione tDCS in funzione dell'EEG di background ,(i.e., manipolando la pressione verso il sonno e il background di attività lenta dell'EEG).

7. Stimolazione tACS a 5 Hz: L'attività EEG principalmente theta incrementa (rispetto alla condizione sham) in seguito a stimolazione tACS bitemporale principalmente sulle derivazioni temporali; l'ampiezza delle variazioni indotte è, comunque, al di sotto dei livelli di significatività statistica.

8. Stimolazione tACS a 5 Hz e sonno successivo: Non esistono elementi statisticamente significativi e/o funzionalmente interpretabili che la stimolazione tACS le caratteristiche EEG del successivo sonno; anche la prossimità alla stimolazione (i.e., l'inizio del sonno, espresso come i primi tra i 20 intervalli equivalenti considerati) possa modulare l'effetto della stimolazione tACS a 5 Hz non forniscono indicazioni di efficacia.

9. Stimolazione tACS a 30 Hz: La stimolazione induce un incremento regionalmente specifico di attività gamma lenta nel range tra 30 e 34 Hz, cioè in corrispondenza della frequenza di stimolazione tACS; tale incremento si riscontra parallelamente a una variazione coerente della vigilanza.

10. Studio pilota di stimolazione tACS a 30 Hz in condizioni di aumentata pressione verso il sonno: Nessuna chiara indicazione –seppur non definitiva- di una capacità della stimolazione tACS a 30 Hz di contrastare l'incremento di sonnolenza indotto da deprivazione di sonno.

11. Stimolazione di doppia stimolazione tACS a 6 Hz (Oz) e a 11 Hz (Fz): Mancata efficacia di questo protocollo di doppia stimolazione tACS con diverse frequenze e sito stimolato nel modificare l'EEG a riposo.

L'intero corpo degli esperimenti eseguiti suggerisce che effettivamente protocolli di stimolazione transcranica possono indurre modificazioni nell'EEG spontaneo. Mentre la specificità regionale – quando presenti effetti- appare una caratteristica costante, la specificità delle caratteristiche della stimolazione (i.e., frequenza, polarità, corrente continua o alternata) non sempre è riscontrabile.

Le metodologie di stimolazione transcranica, quando efficaci, sembrano nelle condizioni di indurre variazioni nella gamma delle frequenze lente [sincronizzazione (promozione del sonno)] o più rapide [desincronizzazione (aumento della vigilanza)]. Queste variazioni appaiono ancora di ampiezza relativamente piccola (quand'anche significative dal punto di vista statistico), tale da mettere in discussione –al momento attuale- l'esistenza di una chiara significatività clinica e di una traslazione diretta dei risultati al trattamento dei disturbi del sonno.

GRID-based system for the evaluation of the effects of cognitive rehabilitation in patients with Alzheimer's disease and Parkinson's disease

Il progetto prevede il coinvolgimento delle seguenti strutture esterne: GARR, Istituto di Neurologia dell'Università Cattolica ed il Consorzio Multi-Ente per la promozione e l'adozione di Tecnologie di calcolo Avanzato" (COMETA).

Il progetto è stato sviluppato mediante un disegno sperimentale che ha compreso tre studi scientifici, i quali hanno concorso alla valutazione finale della ipotesi di lavoro.

Il primo studio ha avuto tre obiettivi. Il primo obiettivo era quello di valutare la stabilità delle sorgenti corticali dei ritmi EEG nella condizione di riposo a occhi chiusi su una popolazione di soggetti MCI sottoposti per un mese ad un compito motorio che non avesse un meccanismo di azione terapeutico. Il secondo obiettivo era quello di identificare le sorgenti corticali dei ritmi EEG nella condizione di riposo a occhi chiusi che fossero correlate con biomarcatori della progressione dell'AD quali l'ipometabolismo dei neuroni corticali, rivelato da indici FDG-PET. Il terzo obiettivo era quello di identificare le sorgenti corticali dei ritmi EEG nella condizione di riposo a occhi chiusi che fossero in grado di classificare singoli pazienti AD rispetto a singoli soggetti sani (Nold). La valutazione è stata effettuata in gruppi di soggetti Nold, MCI e AD. I risultati hanno mostrato che: (1) le sorgenti corticali dei ritmi EEG risultavano essere stabili dopo 1 mese di training motorio; (2) le sorgenti corticali dei ritmi delta globali correlavano con l'ipometabolismo corticale globale nei pazienti AD; (3) le sorgenti corticali delta/alfa 1 localizzate nella regione occipitale e le sorgenti corticali teta/alfa 1 localizzate nella regione parietale, occipitale e temporale permettevano una buona classificazione (AUROC = 0.82-0.83) tra singoli pazienti AD e singoli soggetti Nold. Questi risultati hanno fornito una prova di validità e sensibilità delle sorgenti corticali dei ritmi delta, teta ed alfa come "end point" per la valutazione dell'effetto del training TABCOG nei pazienti AD sia a livello di gruppo sia a livello individuale.

Il secondo studio ha avuto due obiettivi. Il primo obiettivo era quello di identificare le sorgenti corticali dei ritmi EEG nella condizione di riposo a occhi chiusi che fossero diverse a livello di gruppo e a livello individuale tra soggetti Nold, AD, DLB e PD. Il secondo obiettivo era quello di identificare le sorgenti corticali dei ritmi EEG che fossero diverse a livello di gruppo e a livello individuale tra soggetti AD-MCI e PDMCI. La valutazione è stata effettuata in gruppi di soggetti Nold, AD, PD, ADMCI, PDMCI e DLB. I risultati hanno mostrato che: (1) le sorgenti corticali delta localizzate nella regione occipitale e le sorgenti corticali alfa 2 e alfa 3 localizzate nella regione posteriore erano diverse in ampiezza nei gruppi Nold, AD, PD e DLB; (2) le sorgenti corticali delta/alfa 2 localizzate nella regione occipitale permettevano una buona classificazione (AUROC = 0.89-0.94) tra singoli soggetti Nold vs. singoli pazienti AD, PD, e DLB; le sorgenti corticali alfa 2 localizzate nella regione occipitale permettevano una buona classificazione (AUROC = 0.84) tra singoli pazienti AD vs. singoli pazienti PD e una moderata classificazione (AUROC = 0.75) tra singoli pazienti AD vs. singoli pazienti DLB; (3) le sorgenti corticali delta, localizzate nella regione parietale, e le sorgenti corticali alfa 2 e alfa 3, localizzate nella regione posteriore, erano diverse in ampiezza nei gruppi Nold, ADMCI, PDMCI; (4) le sorgenti corticali delta/alfa 2, localizzate nella regione parietale, permettevano una moderata classificazione (AUROC = 0.79) tra singoli soggetti Nold vs. singoli pazienti ADMCI; (5) le sorgenti corticali delta, localizzate nella regione parietale, permettevano una moderata classificazione (AUROC = 0.79) tra singoli soggetti Nold vs. singoli pazienti ADMCI. Questi risultati confermarono la validità e la specificità delle sorgenti corticali dei ritmi delta ed alfa come "end point" per la valutazione dell'effetto del training TABCOG nei pazienti PD/PDMCI e AD/ADMCI.

I risultati dello primo e del secondo studio hanno validato l'approccio metodologico alla stima delle sorgenti corticali EEG in condizioni di veglia rilassata in pazienti con AD e PD. Pertanto, tale approccio metodologico è stato usato per il terzo studio di questo progetto.

Il terzo studio ha valutato la "prova del concetto" che un allenamento delle funzioni cognitive tramite l'utilizzo quotidiano di una applicazione su tablet (training TABCOG) fosse in grado di modificare in senso positivo "end point" quali le sorgenti corticali delta, teta ed alfa dei ritmi EEG

nella condizione di riposo a occhi chiusi in pazienti AD/ADMCI e PD/PDMCI. I risultati hanno mostrato che il training TABCOG diminuiva l'attività delle sorgenti corticali delta dei ritmi EEG in pazienti PD/PDMCI, tendendo a mitigare l'anormale aumento di ampiezza di tali sorgenti corticali che si osserva in questa condizione patologica. Questo effetto benefico sulle sorgenti corticali delta era ben maggiore di quello osservato dopo procedure di controllo (training SHAM). Va notato che il training TABCOG non produceva alcun rilevante effetto sull'attività delle sorgenti corticali dei ritmi EEG nei pazienti AD/MCI, suggerendo una specificità degli effetti di tale training sulla funzione cerebrale dei pazienti PD/PDMCI. Tale specificità potrebbe essere dovuta alla ben nota maggiore integrità dei sistemi colinergici nei pazienti con PD/PDMCI rispetto a quelli con AD/ADMCI. Si può ipotizzare che il training TABCOG stimoli un maggiore rilascio neuro-protettivo di acetilcolina a livello corticale da parte dei neuroni ancora attivi e che l'effetto sia amplificato nel caso di un contingente neuronale sufficiente quale quello atteso nei pazienti con PD/PDMCI. Questa ipotesi dovrà essere verificata da futuri studi di cross-validazione svolti in questi pazienti. L'ipotesi è che gli effetti benefici del training TABCOG sui pazienti PD/PDMCI sia accompagnato ad un aumento dell'attività colinergica corticale rispecchiata da registrazioni di tomografia ad emissione di positroni con ligandi radioattivi per recettori, trasportatori o enzimi di degrado dell'acetilcolina a livello cerebrale.

In conclusione, i risultati del presente progetto forniscono una prima importante evidenza dell'effetto positivo di un allenamento delle funzioni cognitive tramite l'utilizzo quotidiano casalingo di una applicazione su tablet (training TABCOG) nei pazienti PD/PDMCI, incoraggiando lo sviluppo di uno studio finale di cross-validazione prima dell'uso clinico di questa procedura, gratuita e non invasiva, per mitigare il deterioramento dei meccanismi neurofisiologici oscillatori alla base delle fluttuazioni dell'arousal corticale e della vigilanza dovuto a tale condizione patologica.

Anno 2010. Modulation of calcium release-activated calcium modulator 1 (ORAI-1) and Stromal interaction molecule 1 (STIM1) activity as a new therapeutic strategy in stroke

Responsabile scientifico Dott.ssa Agnese Secondo.

Il reticolo endoplasmatico (ER) ricopre un ruolo fondamentale nella fisiologia cellulare, partecipando a numerosi processi finalizzati a garantire la sopravvivenza, il mantenimento dell'omeostasi del Ca^{2+} intracellulare e la secrezione delle proteine. All'interno del lume si ritrova infatti la più alta concentrazione intracellulare di Ca^{2+} , mantenuta a valori elevati dalle Ca^{2+} -ATPasi, specifiche pompe ioniche di membrana deputate al trasporto degli ioni contro gradiente di concentrazione. E' ormai noto che numerosi stimoli ed eventi patologici possono alterare l'equilibrio cellulare e le normali funzioni dell'ER, instaurando una condizione nota come "stress del reticolo endoplasmatico" la quale è caratterizzata dall'accumulo di proteine mal ripiegate o non ripiegate e da perdita massiva di ioni Ca^{2+} . In condizioni fisiologiche tale perdita è normalmente compensata dall'attivazione di correnti entranti del Ca^{2+} definite SOC. Tali correnti, mediate dall'interazione di ORAI1 e STIM1, i due principali determinanti proteici, sono essenzialmente deputate al riempimento del reticolo e alla preservazione delle sue funzioni. E' ormai noto che lo stress del reticolo costituisce la base eziopatologica degli eventi neurodegenerativi alla base dello stroke. Pur tuttavia il ruolo in tale patologia neurodegenerativa delle correnti SOC e delle sue componenti molecolari non è stato mai studiato.

Il progetto ha avuto come obiettivo quello di studiare il possibile coinvolgimento delle correnti SOC nella patogenesi dello stroke al fine di identificare nuovi bersagli farmacologici verso cui eventualmente direzionare strategie terapeutiche innovative. Mediante l'uso di modelli *in vitro* e *in vivo*, tale studio ha evidenziato il ruolo neuroprotettivo di ORAI1 e STIM1 nello stroke. Infatti l'espressione proteica di ORAI1 e STIM1 risultava essere fortemente ridotta nella penombra ischemica di animali esposti ad ischemia focale così come in neuroni corticali esposti a deprivazione di ossigeno e glucosio seguita da riossigenazione. Tale effetto era dovuto a variazioni della trascrizione genica. A tale riduzione si accompagnava una inibizione delle correnti SOC, misurata mediante la tecnica elettrofisiologica del patch-clamp e con microfluorimetria su singola cellula con il probe fluorescente Fura-2AM. Come conseguenza, si registrava una massiva perdita del contenuto dello ione Ca^{2+} dal reticolo endoplasmatico. In tali condizioni sperimentali, la riduzione delle correnti SOC determinava un significativo aumento dell'espressione di noti marcatori di stress del reticolo quali BIP e caspasi-3, nonché un aumento della percentuale di sofferenza mitocondriale e di morte neuronale. Di contro, il preconditionamento ischemico in grado di ridurre la morte neuronale ed il volume ischemico, faceva aumentare l'espressione e l'interazione tra le proteine d'interesse nonché le correnti SOC, ripristinando il contenuto fisiologico di Ca^{2+} nel reticolo endoplasmatico.

Tali risultati lasciano intravedere un importante ruolo neuroprotettivo nello stroke dell'attivazione delle proteine ORAI1 e STIM1 sostenuto da evidenze precliniche ottenute in modelli predittivi della patologia sia *in vitro* che *in vivo*.

Overnutrition and brain health impairment: Epigenetic mechanisms potentially correlating metabolic and neurodegenerative diseases.

Responsabile scientifico Dott. Salvatore Fusco

Il progetto di ricerca si svolge in collaborazione con l'Istituto di Fisiologia Umana dell'Università Cattolica di Roma.

L'ipotesi sperimentale alla base di questo progetto è che alterazioni del metabolismo durante la fase iniziale di sviluppo del sistema nervoso possano alterare il benessere cerebrale nel corso della vita, riducendo la plasticità di aree chiave per l'apprendimento e la memoria come l'ippocampo. L'ipotesi di lavoro è che i nutrienti possono modulare, in maniera trans-generazionale, le funzioni cognitive attraverso un meccanismo epigenetico. Il progetto si prefigge di:

1. Testare le funzioni cognitive di topi nati da femmine nutrite con una DRG. Nel corso del primo anno del progetto abbiamo eseguito test di memoria ippocampo - dipendenti su topi nati da madri alimentate con una dieta di controllo (DC) o una DRG da 4 settimane prima della gravidanza fino alla terza settimana di allattamento e riscontrato una alterazione della capacità di apprendimento e memoria nei discendenti di una madre ipernutrita fino alla terza generazione. In parallelo, mediante analisi elettrofisiologiche, è stata valutata la plasticità sinaptica a livello ippocampale che è risultata alterata nei discendenti da madre alimentata con DRG. Per analizzare la neurogenesi adulta si effettueranno esperimenti di immunohistochimica sul cervello della prole valutando la proliferazione e maturazione delle cellule staminali neurali nella zona sottogranulare dell'ippocampo. Inoltre, al fine di indagare se le alterazioni comportamentali e funzionali correlano con la modificazione della espressione di geni chiave, sarà realizzata un'analisi di espressione genica ad ampio spettro.

2. Verificare se i cambiamenti comportamentali e funzionali sono ereditati con un meccanismo di tipo epigenetico. Una volta individuati i principali geni modulati dalla DRG materna, analizzeremo le sequenze regolatorie degli stessi geni mediante immunoprecipitazione della cromatina. In questo modo individueremo le modificazioni epigenetiche (es. acetilazione e metilazione degli istoni) alla base delle alterazioni funzionali indotte dai nutrienti. Inoltre valuteremo se queste modificazioni comportamentali ed epigenetiche sono ereditate in maniera trans-generazionale.

3. Studiare il declino cognitivo di un modello murino di malattia di Alzheimer's (MA) in topi nati da femmine alimentate con una DRG. Per investigare se le alterazioni cellulari e molecolari indotte nella prole dall'ipernutrizione materna sono potenzialmente in grado di accelerare il declino cognitivo patologico, effettueremo gli stessi esperimenti comportamentali ed elettrofisiologici menzionati nell'obiettivo 1 utilizzando un modello transgenico di MA (topo 3xTg-AD). Si analizzeranno se gli effetti deleteri della dieta materna possono accelerare la neurodegenerazione in questi topi e peggiorare il loro deterioramento cognitivo.

Anno 2009. Determination if variability in cardiac r-r interval on ekg is an early feature of Parkinson's disease and predicts the development of the parkinsonism classic motor features

La malattia di Parkinson (MdP) è una patologia neurodegenerativa caratterizzata dalla perdita di neuroni dopaminergici nella pars compacta della substantia nigra dell'encefalo, associata all'accumulo di inclusioni intracellulari denominate corpi di Lewy. Alcune modificazioni della fisiologia cardiovascolare, tra cui la riduzione dell'Heart Rate Variability (HRV), sono state associate alla fisiopatologia del MdP. Tali modificazioni probabilmente riflettono il coinvolgimento di differenti componenti del sistema nervoso autonomo, quali la perdita dell'innervazione simpatica del cuore e la deposizione di corpi di Lewy nei nervi simpatici cardiaci e nel nucleo motore dorsale del vago, che avverrebbero già in una fase pre-motoria di malattia. Pochi lavori in letteratura, con risultati contrastanti, hanno analizzato il ruolo dello studio dell'HRV come elemento di screening di soggetti a rischio di sviluppari i sintomi motori del MdP.

Il progetto aveva lo scopo di:

- determinare se nei parenti di primo grado dei pazienti con MdP, popolazione a maggior rischio di sviluppare la patologia, ci fosse una alterazione dell'attività del sistema nervoso autonomo cardiaco con una riduzione della variabilità dell'RR;
- determinare se nei parenti di primo grado dei pazienti con MdP, che presentassero iposmia o alterazioni del sonno REM (RBD: REM Behaviour Disorder), depressione, stipsi (sintomi molto precoci di MdP), fossero presenti alterazioni dell'HRV;
- determinare una coorte di parenti di primo grado di pazienti con PD che presentassero ridotta variabilità dell'intervallo RR.

L'arruolamento si è svolto nelle Unità Operative di: Centro Parkinson e Disturbi del Movimento, IRC-CS San Raffaele Pisana e Reparto di Neurologia, e Casa di Cura San Raffaele Cassino. Il campione incluso in seguito alle procedure di screening e con tracce ECG analizzabili è stato di 219 familiari di pazienti con MdP. Tutti i familiari sono stati sottoposti allo "Smell Diskettes Olfaction Test", test di screening per l'eventuale riscontro di iposmia idiopatica. Dopo aver effettuato tale test, è stata compilata per ogni soggetto incluso, una scheda raccolta dati. Nella scheda venivano registrate informazioni sul familiare affetto e sulla storia clinica del MdP del familiare. Venivano quindi effettuate delle domande per indagare l'eventuale presenza di altri segni o sintomi "premonitori" di MdP. Ogni individuo è stato sottoposto ad una registrazione della traccia elettrocardiografica da derivazioni precordiali ad una frequenza di campionamento di 250 Hz nel corso di 10 minuti di riposo in posizione supina. Per ogni traccia sono stati calcolati gli indici HR (frequenza cardiaca) ed RRTP (RR Total Power). Sono state considerate per l'analisi due principali componenti: quella nella banda di frequenza tra gli 0.04 e gli 0.15 Hz (Low-Frequency-LF) e la componente tra gli 0.15 e gli 0.4 Hz (High-Frequency-HF), che è sincrona con la respirazione. È stata calcolata la "power density" di ogni componente spettrale sia in valori assoluti (LFa e HFa; unità di misura msec²) sia in unità normalizzate (LFnu e HFnu). È stato infine calcolato il rapporto LF/HF, quale indice dell'equilibrio simpatico/parasimpatico.

I risultati del nostro studio non hanno evidenziato associazioni significative tra i parametri analizzati e la presenza di sintomi pre-motori di MdP nella popolazione di familiari dei pazienti, ad eccezione di una significativa riduzione dell'HFa ed un aumento della frequenza cardiaca in coloro che riferivano la presenza di RBD. Tra gli indici emersi dall'analisi delle tracce RR del nostro campione, abbiamo quindi isolato soggetti con valori sotto il 5° percentile di RRTP, LFnu, ed HFnu, espressione rispettivamente di ridotta variabilità dell'RR, ridotta attività simpatica e ridotta attività parasimpatica, considerandoli come coorte a rischio di sviluppare il PD. L'analisi così condotta ha evidenziato 10

soggetti con RR TP <189.10, 10 soggetti con RR LFnu <10.78, 10 soggetti con RR HFnu <12.94, categorizzando in questo modo un reale campione “a rischio”, da seguire nel tempo dal punto di vista clinico, per l’inclusione di tali soggetti in un programma di follow-up al fine di far tempestivamente emergere eventuali segni di malattia.

Concludendo, l’HRV nella popolazione di familiari di primo grado di pazienti con MdP in media non si discosta da soggetti senza familiari affetti; sono stati isolati 29 soggetti con valori sotto il 5° percentile di RRTP, LFnu, ed HFnu, espressione rispettivamente di ridotta variabilità dell’RR, ridotta attività simpatica e ridotta attività parasimpatica, considerandoli come coorte a rischio di sviluppare la MdP. Ad oggi i dati confermano che la variabilità RR non è un biomarker predittivo affidabile di rischio di MdP, anche perché non è risultato significativamente associato a sintomi pre-clinici di malattia

LABORATORIO DI PATOLOGIA MOLECOLARE, CELLULARE E ULTRASTRUTTURALE

Ministero della Salute – Bando Giovani Ricercatori

Anno 2010. Role of HMGB1 redox state in cardiac tissue regeneration and cardiac progenitor cell function

Destinatario Istituzionale: Centro Cardiologico Monzino-IRCCS

L'incidenza dello scompenso cardiaco è in rapido aumento, rimarcando così la necessità di nuove strategie terapeutiche. Le cellule staminali hanno la capacità di partecipare alla rigenerazione miocardica e diversi studi hanno testato gli effetti benefici delle cellule staminali derivate dal midollo osseo (BMSC) e, più recentemente, dei progenitori cardiaci (CPC) in pazienti con infarto miocardico acuto e scompenso cardiaco. Due sono le strategie adottate per indurre rigenerazione cardiaca: trapianto di CPC o induzione dei CPC endogeni mediante fattori di crescita o citochine. La proteina HMGB1 rappresenta uno di tali fattori.

Il presente studio si prefigge di:

- 1) Analizzare le differenti forme redox della proteina HMGB1 sulla rigenerazione cardiaca dopo infarto acuto del miocardio.
- 2) Studiare l'effetto cardioprotettivo delle differenti forme redox della proteina HMGB1 in vivo dopo danno ischemico.

L'infarto del miocardio è stato indotto nei topi mediante legatura della coronaria discendente sinistra. I topi sono stati suddivisi in 3 gruppi (n=6 topi/gruppo) e i cuori danneggiati sono stati trattati, mediante iniezione intramiocardica, con le tre forme redox di HMGB1, l'isoforma ridotta (wtHMGB1 o HW), il mutante non ossidabile (HMGB1C3S o H3S) e la forma inattiva (HMGB1C106E o HM). Un quarto gruppo di animali trattati con la proteina denaturata (HB) è stato preparato come gruppo di controllo aggiuntivo rispetto a quello trattato con la forma inattiva HM. Infine i topi sham (SO) sono stati preparati sottoponendoli a chirurgia ma senza legatura della coronaria. Tre giorni dopo l'infarto e il trattamento, i cuori sono stati o prelevati e utilizzati per effettuare WB o prelevati e perfusi con collagenasi per poter separare i cardiomiociti dalle CPCs. Le CPCs sono state in parte utilizzate per estrarre l'RNA e in parte fissate e utilizzate per immunofluorescenze. I cardiomiociti, invece, sono stati tutti utilizzati per l'estrazione proteica.

Per quanto riguarda gli effetti sulla rigenerazione cardiaca, non sono state riscontrate differenze tra le varie forme di HMGB1, mentre per quanto riguarda l'effetto cardioprotettivo si è visto che l'isoforma ridotta esercita, a differenza delle altre isoforme, un effetto antiapoptotico significativo.

Anno 2010. Perivascular adipose tissue miRNAs: links between insulin resistance in type 2 diabetes and vascular disease

Destinatario Istituzionale: Istituto Dermopatico dell'Immacolata (IDI) -IRCCS

L'aumento del rischio di malattie cardiovascolari associato alla resistenza all'insulina (IR) e al diabete di tipo 2 (T2D) è stato attribuito alla disfunzione vascolare, che comprende una pluralità di alterazioni funzionali nell'endotelio vascolare, quali la diminuita vasodilatazione e un'alterata angiogenesi e rimodellamento vascolare.

Molecole di grande importanza che sono deregolate in molti processi patologici incluso il diabete sono i microRNA (miRNA). Queste sono molecole di RNA di 21-23 nucleotidi che regolano la stabilità o l'efficienza traduzionale degli RNA messaggeri bersaglio. I miRNA controllano un'ampia gamma di funzioni cellulari e sono state associate ad infiammazione, stress ossidativo, danneggiamento dell'adipogenesi e del segnale di trasduzione dell'insulina.

Il presente studio si prefigge di indagare il ruolo della famiglia miR-200 e del cluster miR-216/217 nel danneggiamento dell'angiogenesi in un modello murino di IR(resistenza all'insulina) e al diabete di tipo 2 (T2D) (db / db) rispetto ai topi wt, in condizioni basali e in risposta a ischemia dell'arto posteriore.

Per indagare il ruolo della famiglia miR-200 nel danneggiamento dell'angiogenesi è stato utilizzato un modello murino di ischemia dell'arto posteriore in topi trattati per via sistemica con anti-miR-200c o un miR-scramble di controllo.

Per caratterizzare meglio il ruolo di miR-200c in ischemia e dare una ruolo di causa effetto più forte sul suo effetto è stato effettuato un trattamento anti-miR-200C in topi in cui viene effettuata un ischemia degli arti posteriori.

In primo luogo è stato confermato che il miR-200c viene indotto a 1, 2 e 5 giorni dall'ischemia come già dimostrato nel paper precedente (Magenta et al, Cell Death and Diff 2011). Inoltre è stato valutato se l'induzione del miR-200c è inibita in seguito al trattamento anti-miR-200c. I risultati ottenuti hanno dimostrato una significativa down-regolazione del miR-200c in seguito all'ischemia in topi tratti con l'anti-miR-200c. Inoltre il trattamento con anti-miR-200C è stato in grado di prevenire la diminuzione degli mRNA e dei livelli proteici dei target del miR-200C (ZEB1, SIRT1, eNOS e FOXO1) in seguito all'ischemia.

L'analisi al laser Doppler ha mostrato che il trattamento con anti-miR-200c è stato in grado di ripristinare completamente la diminuzione del rapporto di perfusione (arto ischemico / arto normoperfuso) 5 giorni dopo l'ischemia rispetto ai topi trattati con anti-scramble.

E' stato dimostrato che i miR-200 aumentano in una condizione in cui si verifica un aumento di stress ossidativo, ossia in un modello murino di ischemia dell'arto. In questo modello è stato dimostrato che l'inibizione del miR-200c con un antimir somministrato per via sistemica, diminuisce l'incremento del miR-200c nell'arto ischemico e aumenta la perfusione dell'arto ischemico riportandola a livelli di normalità. Inoltre i target del miR-200c ZEB1, eNOS, SIRT1 e FOXO1 che diminuiscono con l'ischemia sono tutti riespressi in topi trattati con anti-miR-200c.

Anno 2011. Hypoxia, inflammation and redox status as determinants of malignant progression of cancer stem cells

Il progetto di ricerca si svolge in collaborazione con il Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare dell'Istituto Superiore di Sanità e con il Laboratorio di Fisiopatologia Cellulare e Molecolare, Dipartimento di Scienze Chirurgiche e Oncologiche dell'Università degli Studi di Palermo.

Le cellule trasformate si trovano in un microambiente caratterizzato da ridotto ossigeno o ipossia. L'ipossia determina l'attivazione di HIF e la necrosi di alcune cellule tumorali con rilascio di allarmine. Questi due eventi hanno un ruolo cruciale per la successiva progressione delle cellule tumorali sopravvissute con metastatizzazione del tumore. E' per questo di vitale importanza capire e studiare i processi che portano a tale progressione.

Il presente progetto si prefigge di:

- 1) Individuare come l'ipossia, tramite l'attivazione di HIF aumenti l'espressione dei geni e proteine della risposta infiammatorio-riparativa e come un'inibizione di HIF può prevenire tale attivazione.
- 2) Valutare, tramite modelli cellulari e animali come l'ipossia aumenta la capacità di migrazione ed invasione delle cellule tumorali verso un sito infiammatorio.
- 3) Valutare come l'inibizione farmacologica dell'attivazione di HIF si traduce in una diminuita capacità metastatica delle cellule tumorali di glioblastoma.

Vengono utilizzate le cellule staminali tumorali di glioblastoma ottenute da biopsie di pazienti con tale tumore. Le cellule vengono sottoposte ad ipossia per tempi variabili e poi verranno effettuati esperimenti di RT-PCR per identificare l'espressione genica; di Western Blot per espressione proteica, saggi di migrazione ed invasione, ecc. Si misurano i livelli di attivazione e traslocazione nucleare di HIF e NF- κ B nonché l'aumentata espressione di geni target di questi due fattori di trascrizione. L'attivazione di HIF viene inibita utilizzando digossina ed acriflavina sia su modelli cellulari che animali. Nei modelli animali, il glioblastoma viene ottenuto iniettando cellule tumorali nel cervello dei topi trattati o meno con digossina ed acriflavina. La crescita tumorale è valutata tramite immunofluorescenza e dopo rimozione chirurgica del tumore stesso.

Tale studio consentirà di dimostrare che gli eventi iniziali di un tumore primario e cioè ipossia e necrosi con rilascio di allarmine, rappresentano le cause primarie della progressione tumorale che si osserva via via che il tumore cresce. Inoltre ci si propone di dimostrare che l'inibizione di HIF tramite delle sostanze già approvate in medicina per altre patologie, possa essere una valida strategia per prevenire la progressione tumorale.

Anno 2010. Modulation of metabolic mechanisms in muscle loss disorders: involvement of autophagy and apoptosis

Il muscolo scheletrico è un organo chiave nella messa a punto delle terapie riabilitative in caso di malattie cardiovascolari, neurodegenerative e polmonari. 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. L'atrofia muscolare associata alle malattie croniche viene definita cachessia. E' ormai chiaro che potenziare la funzionalità del muscolo scheletrico migliora anche la capacità di affrontare la malattia cronica principale e aumenta la resistenza ai vari trattamenti farmacologici.

L'obiettivo principale di questo studio era valutare la capacità di alcuni modulatori del metabolismo di ottimizzare il metabolismo del muscolo scheletrico e di contrastare l'atrofia muscolare e quindi aumentare la forza muscolare in modelli murini di cachessia e di invecchiamento (sarcopenia). In particolare, il presente studio si proponeva di determinare il ruolo dell'apoptosi e dell'autofagia nel mantenimento della massa e della forza muscolare in seguito al trattamento con modulatori metabolici.

Studi in vitro

Per studiare l'autofagia, la lipidazione di LC3 e i livelli di P62 sono stati determinati attraverso western blot (WB) e l'espressione di LC3 e Beclin1 mediante Real Time PCR (Q-RT-PCR). La localizzazione di LC3 è stata analizzata attraverso microscopia a fluorescenza usando il LysoTracker e gli autofagosomi tramite il microscopio a trasmissione elettronica. L'apoptosi è stata valutata mediante colorazione nucleare con Hoechst, WB per la Caspasi 3 e PARP e mediante l'analisi citofluorimetrica usando lo ioduro di propidio. L'espressione dei geni responsabili dell'atrofia (MuRF1 e atrogin-1) nei miotubi è stata valutata mediante Q-RT-PCR. Il grado di fusione dei mioblasti è stato determinato contando i mionuclei nei miotubi C2C12 e la miogenesi mediante fluorescenza e Q-RT-PCR delle proteine miofibrillari e dei geni miogenici.

Il glucosio nel mezzo di coltura è stato misurato usando un kit colorimetrico e il glicogeno mediante la reazione PAS (Acido Periodico-Schiff, i livelli di espressione della piruvato deidrogenasi chinasi (PDK) tramite Q-RT-PCR, il potenziale di membrana mitocondriale e la produzione di ROS usando le sonde fluorescenti TMRE e DCF, rispettivamente. L'espressione di PGC-1alfa, CPT-1beta e TFAM è stata valutata tramite Q-RT-PCR o WB.

Studi in vivo

E' stato analizzato un modello di cachessia tumorale (C26) e un modello murino di atrofia da invecchiamento a cui è stato somministrato il modulatore metabolico trimetazidina (TMZ) (5mg/kg) intraperitonealmente una volta al giorno per 12 giorni consecutivi. La misura dell'area della sezione trasversale (CSA) di ogni miofibra è stata effettuata su criosezioni di muscoli marcati con anticorpi anti-laminina. L'attività della SDH (Succinico-deidrogenasi) è stata valutata mediante analisi colorimetrica e l'isoforma slow della miosina mediante una immunofluorescenza per laminina e MyHC slow. I lisati muscolari sono stati analizzati mediante WB e Q-RT-PCR.

La capacità rigenerativa muscolare è stata valutata attraverso l'induzione di un danno al muscolo tibiale anteriore mediante cardiotossina in presenza o in assenza di modulatori metabolici; è stato determinato il numero di fibre centro-nucleate neoformate. Inoltre, i livelli di mRNAs (MyoD, Myogenin, MyHC e Desmin) muscolo-specifici sono stati valutati nei lisati muscolari degli animali così trattati. La funzionalità del muscolo scheletrico è stata valutata mediante grip test e il test dello schermo invertito di Kondziela. L'analisi della forza nei muscoli isolati ex vivo è stata effettuata su soleus e EDL che sono stati stimolati elettricamente tramite 2 elettrodi di platino; è stata quindi misurata la forza di twitch e anche la forza tetanica e la resistenza alla fatica.

Attraverso questo studio, realizzato in collaborazione con l'Università degli Studi di Torino, l'Università di Gottingen, l'ISS di Roma, l'Università Sapienza di Roma è stata evidenziata la capacità della trimetazidina (TMZ) di indurre autofagia e di proteggere cellule muscolari in coltura dall'atrofia. È stato registrato un aumento delle performance fisiche sia in modelli murini di invecchiamento trattati con TMZ che in modelli murini di cachessia soggetti allo stesso trattamento (in revisione). Inoltre, la TMZ induce uno shift delle fibre da veloci a lente, riduce la glicemia, induce una aumentata espressione di PGC1 α , del metabolismo ossidativo e della biogenesi mitocondriale. La TMZ protegge parzialmente i topi C26 dalla riduzione di CSA mentre non ha alcun effetto su autofagia e apoptosi in vivo. Tutti questi dati ci hanno portato alla conclusione che la TMZ sortisce, nel muscolo scheletrico, effetti simili a quelli dell'esercizio fisico, rendendo questo modulatore del metabolismo interessante per protocolli riabilitativi in soggetti in cui lo svolgimento dell'esercizio fisico non è realizzabile o non è gradito (per es. allettati o anziani), soprattutto considerando il fatto che la TMZ è stata già approvata per l'uso clinico.

Anno 2013. Role of the adipocyte mineralocorticoid receptor in the development of sarcopenic obesity

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.

A questo scopo, si sta effettuando un'analisi della massa muscolare e ossea in un modello murino, caratterizzato da una delezione genetica del recettore nel tessuto adiposo, in presenza di dieta obesogena. Questo progetto viene sviluppato in collaborazione con il laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare dell'IRCCS San Raffaele Pisana e con l'Università degli Studi di Roma Foro Italico. Si è osservato che l'espressione di MR aumenta durante il differenziamento delle cellule muscolari C2C12 suggerendo un ruolo per MR nella miofibra. Si è inoltre osservato che l'aldosterone (24h) induce nei miotubi un aumento della fosforilazione di SGK1 (target di MR), di AMPK e del suo substrato ACC cosa che suggerisce che MR influenza il metabolismo delle miofibre. Si è anche studiato il muscolo scheletrico in topi obesi ob/ob ed è stata evidenziata una riduzione dell'espressione di GLUT4, PGC1-alfa e rispetto ai controlli.

Si effettua un'analisi della composizione corporea, della tolleranza al glucosio, della sensibilità insulinica e della densità minerale ossea in un modello murino caratterizzato da una delezione genetica del recettore MR nel tessuto adiposo. Si valuta, quindi, l'effetto di una modulazione del profilo delle adipochine, indotta da MR, sullo sviluppo di eventuali alterazioni metaboliche a livello di miofibrille, osteoblasti e cellule satelliti da topi wild-type, mediante l'utilizzo di mezzi condizionati, ottenuti da colture di adipociti primari derivanti da biopsie di topi MRKO. Allo scopo di valutare se le osservazioni condotte su animali e cellule sul ruolo di MR nell'obesità sarcopenica possano essere applicate all'uomo, si studia la correlazione tra l'aumentata attività di MR nell'adipocita e la presenza contestuale di sarcopenia e osteoporosi in pazienti obesi. I pazienti obesi/sarcopenici vengono sottoposti ad analisi di composizione corporea e si studia la presenza di MR, in forma di proteina e l'attività del recettore nel tessuto adiposo dei pazienti, allo scopo di caratterizzare il ruolo di MR nella fisiopatologia delle morbidità associate all'obesità.

Anno 2011-2012.

The role of Mineralocorticoid Receptor (MR) hyperactivation in obesity: effects of MR blockade in human and animal models of overfeeding

Studi del Laboratorio hanno mostrato che l'attività del Recettore Mineralcortioide regola la funzione e lo sviluppo degli adipociti. Aumentata attività del Recettore Mineralcortioide (MR) è stata inoltre osservata nel tessuto adiposo di modelli murini di obesità come pure in soggetti umani obesi suggerendo che MR può alterare il normale metabolismo del tessuto adiposo e portare all'obesità. Vista la crescente diffusione di obesità, diabete e sindrome metabolica, terapie volte a ripristinare la corretta funzionalità di MR in soggetti obesi potrebbero costituire un nuovo approccio terapeutico all'obesità e a patologie ad essa associate.

Il progetto prevede di studiare gli effetti del trattamento con l'antagonista di MR spironolattone in topi "wild-type" sottoposti a dieta normale o a dieta obesogena per 12 settimane. In tali topi verrà valutato se il blocco farmacologico di MR può contrastare gli effetti attesi della dieta obesogena: aumento di peso, alterata espansione del tessuto adiposo, dell'espressione di adipochine e della tolleranza glucidica.

Si programma di estendere lo studio in topi sottoposti a dieta obesogena privi del gene MR nel tessuto adiposo (topi AT-MR-KO) per investigare gli effetti metabolici dell'assenza di MR specificamente nelle cellule adipose.

Infine l'attività di MR, il peso totale, la massa grassa e la sensibilità insulinica saranno valutati in soggetti umani normopeso, soggetti obesi con normali parametri metabolici (soggetti MNO), e soggetti obesi con metabolismo alterato (soggetti MAO). Valuteremo inoltre gli effetti del trattamento farmacologico con antagonista specifico di MR (eplerenone) nei soggetti obesi MAO trattati per 12 settimane.

Lo studio prevede di utilizzare topi C57BL/6 wild-type (topi WT, n=48) e topi C57BL/6 knockout per MR nel tessuto adiposo (topi AT-MR-KO, n=36), il Sistema di Risonanza Magnetica T1-weighted spin-eco whole-body multislice MRI per valutare la massa grassa dei topi, e la tomografia ad emissione di positroni (PET) per valutare l'attività metabolica del tessuto adiposo dei topi. Il progetto prevede l'utilizzo di real-time PCR e tecniche di immunoistochimica per valutare, nel tessuto adiposo dei topi, rispettivamente espressione dei geni coinvolti nel processo di adipogenesi e morfologia/ localizzazione di specifiche proteine. Viene effettuato nei topi menzionati il test di tolleranza al glucosio tramite iniezione intraperitoneale di glucosio e successiva misura dei livelli di glucosio circolanti usando un glucometro. Inoltre, vengono preparate, sia dai topi wild-type che knockout per MR, colture di adipociti primari e la capacità differenziativa di tali colture viene investigata con real-time PCR. Lo studio su soggetti obesi, soggetti normopeso (n=14), soggetti obesi MNO (n=14) e soggetti obesi MAO (n=14) prevede l'esecuzione di DEXA, MRI e PET/CT scan per effettuare l'analisi della massa corporea e valutare l'attività metabolica del tessuto adiposo bruno.

Nei pazienti arruolati viene valutata la sensibilità insulinica impiegando la procedura "two-stage hyperinsulinemic-euglycemic clamp". Tali procedure di analisi vengono applicate anche ad altri soggetti obesi MAO (n=14) che vengono trattati con eplerenone per 12 settimane (25 mg/giorno per 2 settimane, poi 50 mg/giorno).

Topi WT sottoposti a dieta obesogena e trattati con l'antagonista di MR spironolattone mostrano resistenza all'aumento di peso e all'espansione della massa grassa come pure presentano una migliore tolleranza al glucosio, indicando che il blocco di MR previene gli effetti deleteri della dieta grassa. Sia l'analisi dell'espressione genica che l'immunoistochimica hanno mostrato che il blocco farmacologico di MR induce la conversione del tessuto adiposo bianco in tessuto adiposo bruno, (processo chiamato "browning"), portando a benefici effetti metabolici anti-obesità.

Tale conversione bianco-bruno è stata dimostrata anche in colture di adipociti primari murini trattati con spironolattone confermando, almeno in vitro, che il browning dipende dal coinvolgimento di MR espresso dall'adipocita. Indagini effettuate al livello molecolare hanno mostrato che il blocco di MR determina la riduzione del processo autofagico dell'adipocita con conseguente induzione del browning, indicando una nuove funzioni per MR nel controllo del metabolismo dell'adipocita. Topi AT-MR-KO trattati con dieta obesogena non mostrano resistenza all'aumento di peso e all'incremento della massa grassa, né rivelano un miglioramento della tolleranza al glucosio, suggerendo che i benefici dell'antagonismo di MR osservato in topi WT derivano probabilmente dal blocco di MR espresso da altri tipi cellulari presenti nel tessuto adiposo.

Il Center for Human Nutrition della Washington University School sta attualmente effettuando la caratterizzazione metabolica dei soggetti magri di controllo, dei pazienti obesi MAO e degli obesi MNO, impiegando la metodica del "two-stage hyperinsulinemic-euglycemic clamp". E' inoltre in corso su tali soggetti la misurazione della massa grassa e del contenuto epatico di trigliceridi mediante DEXA e risonanza magnetica.

Gli studi sui pazienti umani previsti dal progetto sono in corso e devono essere completati. Si prevede che almeno nei soggetti obesi MAO l'attività di MR sia "up-regolata" nel tessuto adiposo e che la sensibilità insulinica e l'attività metabolica del tessuto adiposo risulti compromessa rispetto ai soggetti obesi MNO e ai soggetti normopeso.

The role of endothelial mineralocorticoid receptors in vascular inflammation and atherosclerosis

Ricerche degli ultimi dieci anni hanno dimostrato che il Recettore Mineralcorticoide (MR) attivato dal ligando Aldosterone (ALDO) controlla diverse funzioni sistema cardiovascolare. Dati ottenuti dal nostro laboratorio hanno mostrato che MR è espresso in cellule endoteliali vascolare la sua attivazione determina aumento dell'espressione della molecola di adesione intercellulare 1 (ICAM-1) con conseguente aumento del reclutamento di leucociti al vaso, effetto che favorisce danno vascolare e aterogenesi. Il contributo di ICAM-1 nel mediare l'azione di MR nel reclutamento dei leucociti e quindi nel promuovere l'aterosclerosi non sono tuttavia noti "in vivo".

Al fine di valutare il ruolo di ICAM-1 nel mediare gli effetti di MR sullo sviluppo dell'aterosclerosi abbiamo incrociato topi knockout per ApoE (ApoE-KO), proni a sviluppare aterosclerosi, con topi knockout per ICAM-1 (ICAM-1-KO), per generare topi doppi knockout per ApoE e per ICAM-1 (ApoE-ICAM-1 KO) in cui è stata investigata l'aterosclerosi promossa da ALDO. In tali topi è stata esaminata l'ampiezza delle placche, quantificandone il contenuto lipidico e di collagene e la presenza di macrofagi.

Per studiare al livello molecolare i meccanismi con cui MR promuove la trascrizione di ICAM-1 abbiamo effettuato un'analisi in vitro dell'attività del promotore del gene ICAM-1 tramite trasfezione di cellule endoteliali con plasmidi in cui l'espressione del gene luciferasi è sotto il controllo di regioni di differente ampiezza del promotore di ICAM-1. Tali esperimenti hanno evidenziato nel promotore la presenza di regioni regolatorie contenenti siti di legame per MR, portando ad individuare gli elementi regolatori ed cofattori trascrizionali coinvolti nella regolazione della trascrizione di ICAM-1 da parte di MR.

In topi ApoE KO (n=30) e topi ApoE-ICAM-1 KO (n=30) sono state impiantate minipompe osmotiche a rilascio di ALDO (6µg/kg/day) o di soluzione di controllo lasciate nell'animale per 4 settimane. Le minipompe sono state inserite chirurgicamente in una tasca sottocutanea creata effettuando una piccola incisione sulla pelle del dorso e creando un tunnel sottocutaneo. L'incisione viene chiusa tramite apposito filo da sutura e disinfettata con iodopovidone. L'intera procedura chirurgica è stata effettuata dopo aver addormentato l'animale tramite anestesia gassosa con isofluorano. Dopo 4 settimane di trattamento, è stato effettuato un prelievo di sangue periferico dal plesso submandibolare per effettuare sul siero analisi biochimiche di glucosio, insulina, colesterolo tramite saggio colorimetrico. Dopo che gli animali sono stati sacrificati tramite dislocazione cervicale, sono stati dissecati cuore e aorta che poi sono stati inclusi in un'appropriata resina (OCT), conservati nel -80°C e successivamente tagliati in sezioni utilizzando il criostato. Tali sezioni sono state analizzate con appropriate tecniche di immunohistochimica (OilRed O, Picrosirius Red e Mac3 staining) per valutare ampiezza delle placche e loro contenuto di lipidi, collagene ed infiltrato macrofagico.

Una regione di 3 Kilobasi (Kb) del promotore del gene umano ICAM-1 è stata clonata in un plasmide a monte del gene luciferasi per studiare l'attività trascrizionale del promotore. Tramite tecniche di biologia molecolare sono stati poi creati altri plasmidi contenenti porzioni diverse di differente ampiezza del promotore a monte del gene luciferasi. I plasmidi sono stati trasfettati in cellule endoteliali HUVEC tramite lipofectamina. L'attività della luciferasi è stata valutata nei lisati cellulari, dopo trasfezione e stimolazione con ALDO, per mezzo del luminometro. Costrutti adenovirali codificanti dominanti negativi di c-Jun (Ad-dn-c-Jun) o di NF-κB (Ad-dn-IκBα) sono stati impiegati per investigare il coinvolgimento di tali fattori trascrizionali nella trascrizione di ICAM-1.

Topi ApoE-ICAM-1 KO, rispetto a topi di controllo ApoE-KO, trattati con ALDO hanno mostrato nella radice aortica riduzione dell'area delle placche aterosclerotiche e diminuito contenuto lipidico come pure ridotto contenuto di macrofagi, mentre non hanno mostrato variazioni del contenuto di

macrofagi, mentre non hanno mostrato variazioni del contenuto di collagene nelle placche. Questi dati indicano chiaramente che l'assenza di ICAM-1 diminuisce le caratteristiche di instabilità della placca, riducendo lo sviluppo di aterosclerosi indotta da attivazione di MR. Questi esperimenti in vivo indicano che la funzione di ICAM-1 è fondamentale nel promuovere l'infiammazione della placca e mediare l'azione proaterogena di ALDO.

Esperimenti di trasfezione hanno mostrato che nel promotore umano di ICAM-1 esiste in posizione -nt 1141 e -871 una regione con potenziale sequenza di legame a MR (MRE) la cui presenza determina "up-regolazione" dell'attività della luciferasi in presenza di ALDO (10nM).

Il trattamento con in dominanti negativi Ad-dn-c-Jun e Ad-dn-IkBa, precedente alla stimolazione con ALDO, riduce la responsività ad ALDO del promotore recante la regione MRE e indica che l'attività di c-Jun e IkBa è richiesta affinché l'attivazione di MR determini aumento della trascrizione di ICAM-1. Sia gli esperimenti in vivo che quelli in vitro dimostrano l'importanza di ICAM-1 nell'aterosclerosi indotta da ALDO e individuano un meccanismo molecolare che spiega come l'attivazione di MR stimola l'espressione di ICAM-1.

Bando 2011-2012. Neurophysiological markers of neuroplasticity in normal and pathological aging. Unità Operativa

L'obiettivo generale del progetto è individuare i meccanismi di disfunzione sinaptica nell'invecchiamento sano e rapportarlo alla malattia di Alzheimer (AD) attraverso un approccio di tipo traslazionale, valutando la neuroplasticità sia a livello di network corticali sia a livello molecolare. Sono stati definiti due obiettivi specifici e l'Unità Operativa ha contribuito al primo:

- 1) Studiare se l'applicazione di un protocollo di stimolazione cerebrale non invasiva (i.e., stimolazione transcranica a corrente continua-tDCS) possa essere utilizzato per individuare le fasi iniziali del deterioramento della plasticità sinaptica, confrontando marcatori neurofisiologici e misure comportamentali (obiettivo 2 del progetto), acquisiti in un gruppo di giovani sani, anziani sani e individui con AD.
- 2) Caratterizzare gli effetti della tDCS nel modello animale (sano e AD) sottoposto agli stessi protocolli di stimolazione applicata negli esseri umani per: indagare i cambiamenti indotti dalla tDCS nell'eccitabilità corticale e nella plasticità sinaptica; identificare i meccanismi molecolari sottostanti tale modificazioni; correlare i cambiamenti osservati nei parametri neurofisiologici con la comparsa di biomarcatori AD e la perdita di memoria che si verificano in diverse fasi della progressione della malattia (obiettivo 3 del progetto).

A tale scopo, il progetto ha l'obiettivo di individuare dei marcatori neurofisiologici che riflettano lo stato cerebrale dell'invecchiamento sano e patologico. Alterazioni della plasticità corticale sono identificate attraverso specifici marcatori neurofisiologici investigati con tecniche elettrofisiologiche (TMS-EEG ed EEG a riposo). La stimolazione transcranica a corrente continua (tDCS) viene utilizzata come strategia per indurre fenomeni di neuroplasticità, mentre registrazioni neurofisiologiche e valutazioni cognitive vengono effettuate prima e dopo diversi protocolli di tDCS (anodica, catodica, e placebo), per monitorare i cambiamenti di neuroplasticità. Ulteriore obiettivo, ed in parallelo allo studio condotto nei pazienti AD, è la caratterizzazione degli effetti, in termini di plasticità sinaptica, indotti dalla stimolazione nel modello animale (sano e AD), al fine di identificarne i meccanismi molecolari sottostanti. Nello specifico, dopo la sottomissione del progetto al Comitato Etico, il primo obiettivo ha previsto la pianificazione del disegno sperimentale sull'essere umano e la programmazione dei compiti cognitivi correlati alle aree corticali sottoposte a stimolazione: un compito di working memory (n-back task) per valutare il correlato cognitivo della corteccia prefrontale ed un compito di riconoscimento di parole (word recognition task) per valutare il correlato cognitivo della corteccia parietale. Gli obiettivi da perseguire hanno prevedono il reclutamento di soggetti giovani e anziani sani, le acquisizioni di misure corticali e cognitive nei soggetti sani e la caratterizzazione degli effetti della tDCS sull'eccitabilità neurale e sulle funzioni sinaptiche nelle fettine di cervello dei topi. Per quanto riguarda lo studio della neuroplasticità nell'essere umano, ciascun soggetto partecipa a tre sessioni sperimentali (anodica, catodica e placebo), ogni sessione è stata intervallata da una settimana di pausa. All'inizio di ogni sessione sperimentale, è elaborata una risonanza stimata di ciascun soggetto, attraverso un sistema di neuro-navigazione al fine di garantire una valutazione più accurata e ripetibile possibile delle varie misure neurofisiologiche previste dal protocollo. Successivamente, si procede al montaggio del setting per la registrazione EEG (cuffia a 32 canali) e valutazione della soglia motoria a riposo attraverso singolo impulso TMS, al fine di definire l'intensità di stimolazione durante le sessioni di co-registrazione TMS-EEG. Prima e dopo la tDCS, si procede alla valutazione della performance comportamentale e alla registrazione di un EEG a riposo (4 minuti ad occhi aperti) seguito da una sessione di TMS-EEG (80 impulsi singoli di TMS, intervallo interstimolo: 0.25-0.5

Hz) allo scopo di valutare le risposte corticali in termini di frequenze EEG, reattività e connettività corticale come misure neurofisiologiche di neuroplasticità. Durante le sessioni di TMS-EEG, impulsi singoli di TMS sono erogati al 90% della soglia motoria a riposo in corrispondenza dell'area di stimolazione corticale (corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra/temporo-parietale sinistra).

Per quanto riguarda i compiti cognitivi, per l'abilità di tipo mnestico, i partecipanti svolgono un compito di n-back. Il compito prevede la presentazione di alcune lettere in sequenza, una alla volta sullo schermo. Il compito del soggetto è discriminare, il più velocemente ed accuratamente possibile, se la lettera che appare sullo schermo è uguale a quella presentata "n" volte prima. Prima dell'inizio dello studio si definisce la difficoltà del compito ed i vari parametri sperimentali, in un campione pilota di 6 soggetti giovani sani. La difficoltà del compito in ogni blocco, determinata dal numero di n, è stabilita sulla base della letteratura e dello studio pilota essere di 3-n per i giovani sani, di 2-n per gli anziani sani e 1-n per i pazienti AD. Durante il compito di n-back viene registrata nel gruppo di soggetti giovani, l'attività EEG a 32 canali al fine di studiare i correlati neurofisiologici (potenziali evento relativi-ERPs) delle risposte comportamentali.

Per valutare i correlati comportamentali della neuroplasticità del network temporo-parietale, la funzione relativa alla memoria di riconoscimento è studiata attraverso una versione del word recognition task computerizzata. Il compito consiste nella presentazione di una lista di 15 parole. Successivamente il soggetto deve riconoscere le 15 parole corrette in una lista di 45 parole (di cui 30 nuove). La definizione delle liste di parole prevede la selezione di 6 liste (il cui ordine di presentazione è randomizzato tra i soggetti e le sessioni sperimentali), comprendenti ciascuna 45 parole, prendendo in considerazione le loro caratteristiche principali: frequenza d'uso, familiarità, concretezza e lunghezza (numero di sillabe).

Per quanto riguarda la stimolazione, la tDCS è applicata per 13 minuti (intensità di stimolazione: 1,5 mA). L'elettrodo attivo (dimensione: 16 cm²) è posizionato sull'emisfero sinistro sulla corteccia coinvolta nel compito, mentre l'elettrodo di riferimento (dimensione: 50 cm²) è collocato sulla spalla destra. Per la stimolazione placebo, lo stimolatore è acceso solo per 10 secondi, all'inizio e alla fine dei 13 minuti, in modo da dare ai soggetti la sensazione della stimolazione reale. Le popolazioni di individui obiettivo di questo progetto sono rappresentate da gruppi di giovani adulti sani, anziani sani ed individui con AD.

L'attività di ricerca ha perseguito i seguenti risultati complessivi:

1) Studio della neuroplasticità nell'essere umano: l'attività di ricerca in questa prima parte del progetto si è focalizzata sulla caratterizzazione dei marcatori della plasticità corticale indotta da protocolli di tDCS e dei correlati comportamentali nei soggetti giovani sani e sull'avvio delle valutazioni neurofisiologiche e comportamentali nell'invecchiamento sano e neurodegenerativo. Nello specifico l'Unità 1 si è occupata del reclutamento dei soggetti giovani, anziani e dei pazienti AD, procedendo all'acquisizione dei segnali neurofisiologici, all'applicazione dei protocolli di stimolazione e alle valutazioni comportamentali delle funzioni cognitive investigate. Dopo la fase di pre-processamento si procede all'elaborazione dei dati neurofisiologici per l'individuazione di specifici marker di neuroplasticità. I risultati ottenuti hanno permesso di identificare in un gruppo di soggetti giovani sani, cambiamenti di connettività corticale polarità-dipendenti indotti dalla tDCS su una specifica banda di frequenza, evidenziando come cambiamenti nei meccanismi di eccitabilità indotti dalla tDCS anodica possano essere rilevati attraverso lo studio dell'attività neurale. Inoltre i risultati preliminari stanno evidenziando come i fenomeni di plasticità sinaptica, indotti dalla tDCS, e misurabili in termini di performance comportamentali siano fortemente modulati dall'età, come osservato nelle prestazioni al compito di working memory prima e dopo tDCS nel gruppo di soggetti giovani e anziani sani. Nello specifico, è stato osservato un incremento nell'accuratezza delle risposte al compito di memoria dopo la stimolazione anodica solo nel gruppo di anziani sani. Questo porta ad ipotizzare come probabili meccanismi omeostatici possano essere coinvolti nei soggetti giovani, e come i soggetti anziani abbiano più ampi margini a livello neuroplastico.

L'analisi neurofisiologica, ancora in corso, consentirà di comprendere il correlato neurale dei cambiamenti comportamentali osservati.

Bando 2013. NEUROMASTER: NEURONavigated MAgnetic STimulation in patients with mild-moderate Alzheimer disease combined with Effective cognitive Rehabilitation

La malattia di Alzheimer (AD) è la causa più frequente di demenza. I trattamenti farmacologici disponibili hanno un'efficacia limitata, sono costosi, e con significativi effetti collaterali. Una riabilitazione cognitiva combinata con stimolazione magnetica transcranica (TMS) neuronavigata nei pazienti con AD lieve o moderato può essere considerato un potenziale trattamento non invasivo avanzato e promettente per la cura della malattia. Il progetto consiste in uno studio clinico randomizzato controllato con placebo per testare l'efficacia del sistema NeuroAD (Neuronix Ltd), che offre riabilitazione cognitiva computerizzata combinata con TMS. Il paziente siede su una sedia dotata di computer e TMS neuronavigata. La sua innovazione consiste nella duplice stimolazione dei compiti cognitivi e TMS, che permettono di migliorare e rafforzare il long-term potentiation (LTP) attraverso il potenziamento sinaptico della connessione all'interno dei network cerebrali che sono importanti per le funzioni di apprendimento e memoria e che possono essere facilmente registrati attraverso l'elettroencefalografia (EEG).

L'obiettivo dello studio consiste nell'esplorare il miglioramento a lungo termine delle funzioni cognitive globali e la neuroplasticità nei pazienti con AD dopo ripetute sessioni di trattamento, basate su una combinazione di rTMS ad alta frequenza su specifiche reti cerebrali e training cognitivo (rTMS - COG) che coinvolge le stesse reti, rispetto a gruppi di controllo o placebo. L'ipotesi è che la stimolazione cerebrale non invasiva moduli la neuroplasticità cerebrale a livello patologico. La "doppia stimolazione" (stimolazione magnetica e compiti cognitivi) potrebbe migliorare e potenziare la connettività all'interno di network cerebrali soprattutto per l'apprendimento e la memoria. Ci si aspetta anche di trovare nei biomarcatori citati, un continuum da anziani, AD lieve fino a AD moderato.

L'attività elettrica cerebrale viene registrata tramite EEG (0,3-100 Hz passa-banda, frequenza di campionamento: 512 Hz) da almeno 32 elettrodi posizionati secondo Sistema Internazionale 10-20 aumentato durante le condizioni di riposo ad occhi chiusi e aperti (5 minuti ciascuno). Per monitorare i movimenti degli occhi, è acquisito elettrooculogramma orizzontale e verticale (0,3-70 Hz passa-banda).

Per eliminare le interferenze causate da artefatti di origine oculare, muscolare, cardiaca ed altri tipi di rumore, l'EEG sarà frammentato in epoche da 2-s e verranno utilizzati due processi: i dati saranno rivisti per eliminare manualmente le epoche con forme d'onda aberranti; la rilevazione dei artefatti sarà completata con un algoritmo per l'analisi delle componenti indipendenti (ICA) sviluppato in EEGLAB. Verranno prese in considerazione gli spezzoni privi di artefatti per le successive analisi. Le bande di frequenza di interesse saranno delta (2-4 Hz), theta (4-8 Hz), alfa 1 (8-10,5 Hz), alfa 2 (10,5-13 Hz), beta1 (13-20 Hz), beta2 (20-30 Hz) e gamma (30-40 Hz).

I dati EEG sono normalizzati e viene calcolata la densità di corrente di attivazione delle sorgenti corticali su 6239 voxels usando standardized Low Resolution Electromagnetic Tomography (sLORETA), disponibile come pacchetto di software gratuito.

Tale metodo si basa sulla risoluzione del problema inverso, ricostruendo la distribuzione corticale delle sorgenti di attività elettrica neuronale in maniera tridimensionale, partendo dai dati EEG. Data la bassa risoluzione spaziale insita del metodo, sono ricostruite 12 regioni cerebrali di interesse (centrale, frontale, occipitale, temporale e limbica nell'emisfero destro e sinistro), basandosi sull'atlante di Talairach.

L'analisi di coerenza spettrale EEG valuta l'accoppiamento funzionale tra le aree cerebrali in esame. Tale procedura è stata implementata con un software sviluppato presso il nostro laboratorio (Matlab, Mathworks Inc).

La Connettività cerebrale è calcolata con il software eLORETA su 84 regioni di interesse definite in base alle 42 aree di Brodmann, per gli emisferi destro e sinistro.

Attraverso le 84 regioni di interesse di eLORETA, è calcolata la Lagged Linear Coherence con il metodo “all nearest voxels” tra tutte le possibili coppie di regioni di interesse. I valori di connettività calcolati per ogni banda di frequenza e per ogni soggetto, vengono utilizzati come peso del grafo calcolato con la teoria dei grafi.

Teoria dei grafi:

Sono utilizzate innovative misure di analisi dei network cerebrali per studiarne la connettività e seguirne la sua modulazione successiva al trattamento riabilitativo.

Per ogni partecipante ed in ogni banda di frequenza sono calcolati almeno i seguenti parametri sulle sorgenti di attivazione cerebrale:

- Characteristic path length (L): rappresenta una misura di integrazione cerebrale ed è data dalla media del più breve path tra ogni coppia di nodi connessi.
- Clustering coefficient (C): rappresenta una misura di segregazione cerebrale quantificata come la tendenza del network a formare cluster.
- Small-worldness (S): è calcolato il rapporto tra C ed L normalizzati.

Viene effettuata l'analisi parametrica. Le variabili continue sono descritte come media \pm deviazione standard, mentre le variabili di categoria sono riportate usando frequenza e valore percentuale.

Le medie delle misure sono analizzate separatamente attraverso misure ripetute di ANOVA testando differenti fattori sperimentali.

Verranno calcolate correlazioni specifiche tra indici comportamentali e neurofisiologici all'inizio dello studio, dopo il trattamento e nel follow-up.

Sulla base di precedenti studi scientifici che analizzavano sia i follow up successivi ad un trattamento riabilitativo che la variabilità dei ritmi cerebrali, è stata utilizzata l'analisi di potenza per determinare la dimensione campionaria.

Considerando l'80% della potenza e un intervallo di confidenza al 5%, è stata calcolata la minima dimensione campionaria necessaria. Tale valore sarà incrementato del 20%, considerati i possibili problemi di non compliance e di perdita di pazienti nel corso dello studio.

Il progetto è stato avviato nel mese di Ottobre 2016 e nei primi mesi si sono attuate le operazioni di armonizzazione delle procedure per una più efficace preparazione dei soggetti e delle registrazioni EEG. Inoltre, si è improntata la procedura di presentazione del progetto al Comitato Etico per la approvazione prima della partenza del protocollo sui soggetti sperimentali.

Bando 2013. NEUROMASTER: NEURONavigated MAgnetic STimulation in patients with mild-moderate Alzheimer disease combined with Effective cognitive Rehabilitation

La malattia di Alzheimer (AD) è la causa più frequente di demenza. I trattamenti farmacologici disponibili hanno un'efficacia limitata, sono costosi, e con significativi effetti collaterali. Una riabilitazione cognitiva combinata con stimolazione magnetica transcranica (TMS) neuronavigata nei pazienti con AD lieve o moderato può essere considerato un potenziale trattamento non invasivo avanzato e promettente per la cura della malattia. Il progetto consiste in uno studio clinico randomizzato controllato con placebo per testare l'efficacia del sistema NeuroAD (Neuronix Ltd), che offre riabilitazione cognitiva computerizzata combinata con TMS. Il paziente siede su una sedia dotata di computer e TMS neuronavigata. La sua innovazione consiste nella duplice stimolazione dei compiti cognitivi e TMS, che permettono di migliorare e rafforzare il long-term potentiation (LTP) attraverso il potenziamento sinaptico della connessione all'interno dei network cerebrali che sono importanti per le funzioni di apprendimento e memoria e che possono essere facilmente registrati attraverso l'elettroencefalografia (EEG).

L'obiettivo dello studio consiste nell'esplorare il miglioramento a lungo termine delle funzioni cognitive globali e la neuroplasticità nei pazienti con AD dopo ripetute sessioni di trattamento, basate su una combinazione di rTMS ad alta frequenza su specifiche reti cerebrali e training cognitivo (rTMS - COG) che coinvolge le stesse reti, rispetto a gruppi di controllo o placebo. L'ipotesi è che la stimolazione cerebrale non invasiva moduli la neuroplasticità cerebrale a livello patologico. La "doppia stimolazione" (stimolazione magnetica e compiti cognitivi) potrebbe migliorare e potenziare la connettività all'interno di network cerebrali soprattutto per l'apprendimento e la memoria. Ci si aspetta anche di trovare nei biomarcatori citati, un continuum da anziani, AD lieve fino a AD moderato.

L'attività elettrica cerebrale viene registrata tramite EEG (0,3-100 Hz passa-banda, frequenza di campionamento: 512 Hz) da almeno 32 elettrodi posizionati secondo Sistema Internazionale 10-20 aumentato durante le condizioni di riposo ad occhi chiusi e aperti (5 minuti ciascuno). Per monitorare i movimenti degli occhi, è acquisito elettrooculogramma orizzontale e verticale (0,3-70 Hz passa-banda).

Per eliminare le interferenze causate da artefatti di origine oculare, muscolare, cardiaca ed altri tipi di rumore, l'EEG sarà frammentato in epoche da 2-s e verranno utilizzati due processi: i dati saranno rivisti per eliminare manualmente le epoche con forme d'onda aberranti; la rilevazione dei artefatti sarà completata con un algoritmo per l'analisi delle componenti indipendenti (ICA) sviluppato in EEGLAB. Verranno prese in considerazione gli spezzoni privi di artefatti per le successive analisi. Le bande di frequenza di interesse saranno delta (2-4 Hz), theta (4-8 Hz), alfa 1 (8-10,5 Hz), alfa 2 (10,5-13 Hz), beta1 (13-20 Hz), beta2 (20-30 Hz) e gamma (30-40 Hz).

I dati EEG sono normalizzati e viene calcolata la densità di corrente di attivazione delle sorgenti corticali su 6239 voxels usando standardized Low Resolution Electromagnetic Tomography (sLORETA), disponibile come pacchetto di software gratuito.

Tale metodo si basa sulla risoluzione del problema inverso, ricostruendo la distribuzione corticale delle sorgenti di attività elettrica neuronale in maniera tridimensionale, partendo dai dati EEG. Data la bassa risoluzione spaziale insita del metodo, sono ricostruite 12 regioni cerebrali di interesse (centrale, frontale, occipitale, temporale e limbica nell'emisfero destro e sinistro), basandosi sull'atlante di Talairach.

L'analisi di coerenza spettrale EEG valuta l'accoppiamento funzionale tra le aree cerebrali in esame. Tale procedura è stata implementata con un software sviluppato presso il nostro laboratorio (Matlab, Mathworks Inc).

La Connettività cerebrale è calcolata con il software eLORETA su 84 regioni di interesse definite in base alle 42 aree di Brodmann, per gli emisferi destro e sinistro.

Attraverso le 84 regioni di interesse di eLORETA, è calcolata la Lagged Linear Coherence con il metodo “all nearest voxels” tra tutte le possibili coppie di regioni di interesse. I valori di connettività calcolati per ogni banda di frequenza e per ogni soggetto, vengono utilizzati come peso del grafo calcolato con la teoria dei grafi.

Teoria dei grafi:

Sono utilizzate innovative misure di analisi dei network cerebrali per studiarne la connettività e seguirne la sua modulazione successiva al trattamento riabilitativo.

Per ogni partecipante ed in ogni banda di frequenza sono calcolati almeno i seguenti parametri sulle sorgenti di attivazione cerebrale:

- Characteristic path length (L): rappresenta una misura di integrazione cerebrale ed è data dalla media del più breve path tra ogni coppia di nodi connessi.
- Clustering coefficient (C): rappresenta una misura di segregazione cerebrale quantificata come la tendenza del network a formare cluster.
- Small-worldness (S): è calcolato il rapporto tra C ed L normalizzati.

Viene effettuata l'analisi parametrica. Le variabili continue sono descritte come media \pm deviazione standard, mentre le variabili di categoria sono riportate usando frequenza e valore percentuale.

Le medie delle misure sono analizzate separatamente attraverso misure ripetute di ANOVA testando differenti fattori sperimentali.

Verranno calcolate correlazioni specifiche tra indici comportamentali e neurofisiologici all'inizio dello studio, dopo il trattamento e nel follow-up.

Sulla base di precedenti studi scientifici che analizzavano sia i follow up successivi ad un trattamento riabilitativo che la variabilità dei ritmi cerebrali, è stata utilizzata l'analisi di potenza per determinare la dimensione campionaria.

Considerando l'80% della potenza e un intervallo di confidenza al 5%, è stata calcolata la minima dimensione campionaria necessaria. Tale valore sarà incrementato del 20%, considerati i possibili problemi di non compliance e di perdita di pazienti nel corso dello studio.

Il progetto è stato avviato nel mese di Ottobre 2016 e nei primi mesi si sono attuate le operazioni di armonizzazione delle procedure per una più efficace preparazione dei soggetti e delle registrazioni EEG. Inoltre, si è improntata la procedura di presentazione del progetto al Comitato Etico per la approvazione prima della partenza del protocollo sui soggetti sperimentali.

Anno 2009. NEurocontrolledMEchatronicprostheSIS (NEMESIS)

Il progetto NEMESIS ha rappresentato il primo ambizioso tentativo di condurre prove cliniche per indagare l'usabilità e l'efficacia delle protesi di mano biomeccatroniche controllate dall'amputato attraverso elettrodi intraneurali impiantati nel sistema nervoso periferico (SNP). Al fine di dimostrare che gli approcci, descritti da Raspopovic et al., 2014 e utilizzati durante il primo impianto NEMESIS, possono essere utilizzati cronicamente da amputati in applicazioni cliniche è stato effettuato un secondo studio clinico a partire dal mese di novembre 2015, con un amputato transradiale.

L'obiettivo di ricollegare i nervi prossimali dell'arto amputato con una protesi biomeccatronica ha richiesto da un lato (i) la registrazione dei segnali motori efferenti dai muscoli (segnali elettromiografici, EMG) o dai nervi (segnali elettroencefalografici, ENG) e la decodifica di questi segnali per controllare la protesi di mano e dall'altro lato (ii) la stimolazione elettrica delle vie afferenti residue sulla base delle informazioni ottenute dai sensori presenti all'interno della protesi. Il progetto NEMESIS si propone quindi di affrontare il problema clinico di realizzare una protesi di mano che può essere controllata in modo naturale dall'amputato e che non venga percepita come un corpo estraneo. L'obiettivo del progetto NEMESIS è stato raggiunto attraverso specifiche innovazioni tecnologiche quali: (i) strategie di "Shared Control" atte ad incrementare la destrezza di una protesi; (ii) elettronica "embedded" per la registrazione e la stimolazione e per l'elaborazione e l'estrazione di informazioni dal segnale neurale; (iii) algoritmi di decodifica per il controllo di arti artificiali; (iv) algoritmi di codifica per il feedback sensoriale invasivo; e (v) analisi delle prestazioni dei soggetti mentre usano la protesi di mano neurocontrollata NEMESIS.

È stato selezionato un soggetto 37enne con amputazione transradiale della mano sinistra. La sperimentazione è stata condotta da novembre 2015 a luglio 2016. Quattro elettrodi intrafascicolari TIME sono stati impiantati nei nervi ulnare e mediano dell'amputato al fine di valutare la possibilità di ripristinare il feedback sensoriale naturale e di integrarlo nel loop di controllo EMG della protesi di mano. Durante la sperimentazione è stata utilizzata la protesi biomeccatronica Prensilia IH2 Azzurra, i segnali EMG utilizzati per controllare la protesi sono stati registrati con un sistema commerciale RIPPLE mentre la stimolazione elettrica dei nervi afferenti è stata effettuata con uno stimolatore elettrico ad-hoc.

Le risposte del soggetto alla stimolazione elettrica, effettuata attraverso 4 elettrodi TIME impiantati nei nervi mediano e ulnare, sono state registrate settimanalmente durante differenti esperimenti per 6 mesi dopo l'impianto. È stato osservato che durante tutta la sperimentazione (6 mesi) è stato possibile suscitare nella mano fantasma del soggetto sensazioni tattili ripetibili in termini di tipologia, posizione e intensità della sensazione evocata. I risultati sono stati molto promettenti e corroborano l'usabilità in applicazioni cliniche della stimolazione intraneurale per il ripristino di feedback sensoriale in pazienti con protesi di mano.

Bando Ricerca 2011-2012. Daily at-home follow-up of Parkinson's Disease patients motor performance through robotic and portable devices

La malattia di Parkinson (MP) è una malattia neurodegenerativa, che porta alla progressiva degenerazione e morte dei neuroni dopaminergici, localizzati nella Substantia Nigra a livello del mesencefalo. I sintomi motori cardinali della MP sono rappresentati dalla bradicinesia, il tremore a riposo e la rigidità muscolare. Il disturbo usualmente all'inizio della malattia è unilaterale, per poi peggiorare progressivamente, divenendo bilaterale e determinando un'alterazione della deambulazione fino alla perdita dell'autonomia. Lo scopo del presente progetto è di sviluppare dei sistemi meccatroniche indossabili dal paziente (PDMeter), in grado di fornire una valutazione domiciliare affidabile ed oggettiva delle performance motorie dei pazienti, contribuendo ad un migliore approccio terapeutico, ad una riduzione delle liste d'attesa ambulatoriali e ad un risparmio nella spesa sanitaria. Inoltre, lo studio dei parametri motori, quindi il monitoraggio continuo del tremore, della rigidità e della

bradicinesia, potrebbe rivelare degli spunti interessanti sulla fisiopatologia della MP.

Per lo scopo del progetto sono stati arruolati 10 pazienti (gruppo VP) affetti da MP (età media: 64.5 ± 8.5 anni; sesso: 4F), in accordo ai criteri scelti: diagnosi di Malattia possibile-probabile secondo i criteri della UK PD Society Brain Bank (Daniel and Lees 1993) e stadio Hoehn and Yahr compreso tra 1 e 2.5. I risultati ottenuti nei pazienti sono stati confrontati con quelli ottenuti in un gruppo di 10 controlli sani (gruppo VS), di età e sesso omogenei rispetto ai pazienti (età media: 63.6 ± 14.5 anni; sesso: 4F), in cui fossero assenti disturbi neurologici e psichiatrici, o patologie che limitassero il fisiologico range di movimento articolare dell'arto superiore e inferiore.

Nelle prime fasi del progetto sono stati conseguiti i seguenti risultati: 1) ottenuta l'approvazione dello studio da parte dei comitati etici delle due strutture coinvolte (IRCCS San Raffaele Pisana e Università Campus Bio-Medico); 2) definita la configurazione dei sensori per le registrazioni durante i protocolli sperimentali (PS); 3) eseguite le sessioni di registrazione dei PS precedentemente definiti nei gruppi VP e VS; 4) estrapolati i parametri cinematici principali in grado di definire i sintomi cardine della MP: bradicinesia, tremore, rigidità; a tale fine le valutazioni sul gruppo VP sono state eseguite nei pazienti sia in fase OFF (in assenza di terapia) che in fase ON (dopo terapia dopaminergica con buona risposta motoria); 5) Progettazione del PDbmeter.

Allo scopo di individuare i parametri maggiormente informativi per il monitoraggio dei sintomi motori, sono stati definiti tre protocolli sperimentali (PS):

- PS1: registrazione mediante sensori magneto-inerziali di alcuni task motori, selezionati dalla scala clinica comunemente utilizzata per la valutazione dei pazienti con MP (MDS-UPDRS parte III);
- PS2: misurazione e caratterizzazione dell'impedenza del polso nella MP per mezzo del dispositivo robotico InMotion WRIST™ (Krebs, Volpe et al. 2007)
- PS3: studio della cinematica dei movimenti del polso durante un esercizio di puntamento attraverso un sensore magneto-inerziale.

Dai risultati raccolti nei PS, precedentemente presentati, è stato osservato che è possibile monitorare bradicinesia e tremore con un solo sensore posto sul secondo dito. Tale approccio, infatti, è già stato adoperato da altri autori (Dai, Otten et al. 2013). Si è comunque deciso di utilizzare altri due sensori posti sull'avambraccio destro e sinistro per ottenere maggiori informazioni. Per quanto riguarda invece la misura di rigidità si è proceduto con la progettazione di un dispositivo apposito cercando di ridurre l'invasività, i pesi e aumentarne la vestibilità. Ci si è concentrati sull'articolazione del polso e in particolare sui movimenti di flessione-estensione (FE). Nello specifico il dispositivo indossato dal paziente nell'arco della giornata aveva lo scopo di perturbare minimamente i movimenti durante le attività di vita quotidiana e misurare la rigidità solo in alcuni momenti. A tal fine si è scelto di progettare un'ortesi con un grado di libertà attuato sulla FE e uno passivo sul movimento radio-ulnare (RUD) controllata in coppia tramite un algoritmo a "zero force control", cioè con un'impedenza percepita molto bassa (Tagliamonte, Scorcia et al. 2011). L'ortesi avrà la possibilità di funzionare in due modalità. Nella prima, il controllo si occuperà di ridurre al minimo le forze di interazione tra ortesi e paziente in modo da minimizzare il disturbo durante i movimenti, ciò avviene durante le fasi di non misura. Nella seconda il paziente sarà avvisato dell'inizio della fase di misura e dovrà cercare di restare per qualche secondo nella posizione di riposo. Il controllo del dispositivo inizierà a incrementare il guadagno del controllo in forza fino a portarlo ai margini d'instabilità. Infatti, nel sistema accoppiato ortesi/mano la stabilità dipende dai guadagni di controtensione dei due sottosistemi, che nel caso della mano a riposo dipende dalla rigidità dell'articolazione. Quindi, dopo una fase di calibrazione in laboratorio i valori del controllo di forza che portano il sistema ai margini d'instabilità possono fornire una stima della rigidità in FE del polso del paziente. Nella Figura 1 si riporta il design del dispositivo per la stima della rigidità con un rendering esplicativo sulla vestibilità (sinistra). A destra vengono indicate le componenti principali.

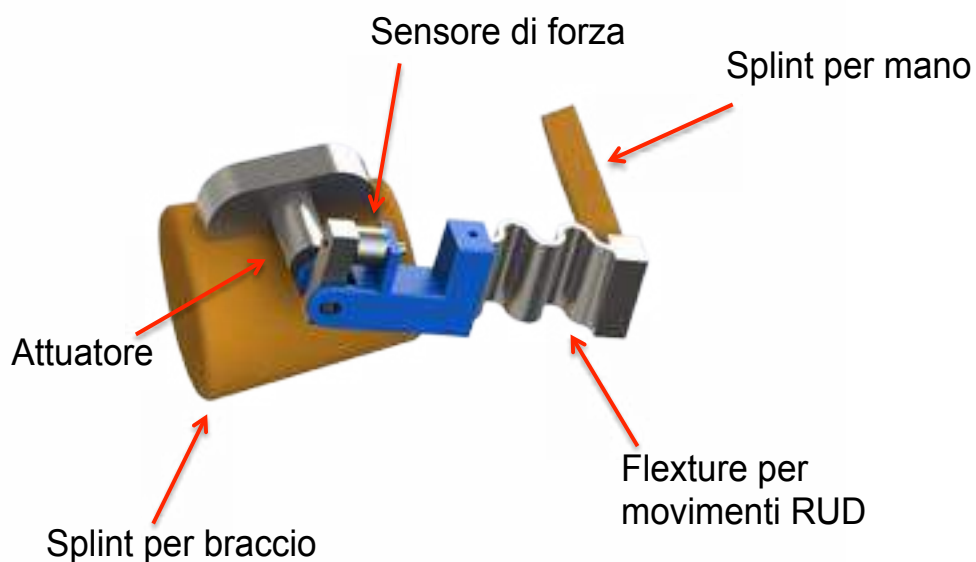


Fig.1

L'obiettivo della successiva fase del progetto è la validazione clinica del PDmeter progettato in pazienti affetti da MP. Lo studio nell'ultima fase prevede l'arruolamento di 50 soggetti con MP idiopatica lieve-moderata. Infine, in uno studio pilota con un sottogruppo selezionato di pazienti affetti da MP in uno stadio più avanzato, verranno valutate le performance motorie a domicilio attraverso il dispositivo portatile. I sintomi motori del paziente saranno monitorati on-line grazie ad un'unità telemetrica basata sulla piattaforma LinkCare (www.linkcare.es).

Progetto Giovani Ricercatori - Bando 2011-2012

Dissecting the role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha (PGC-1a) and adipose triglyceride lipase (ATGL) in Parkinson's disease.

Caratterizzare il ruolo di PGC-1 α e ATGL nel morbo di Parkinson

Il morbo di Parkinson (MP) è un disordine neurologico caratterizzato dalla disfunzione dell'attività metabolica mitocondriale, morte selettiva dei neuroni dopaminergici e debolezza muscolare. PGC-1 α , un coattivatore trascrizionale sensibile allo stato nutrizionale (bassi livelli di ATP ed elevati livelli di NAD⁺), è uno dei regolatori principali della funzione mitocondriale e dei geni coinvolti nel metabolismo lipidico. Il metabolismo lipidico dipende fortemente dai mitocondri e interagisce con le lipasi come ATGL (lipasi dei trigliceridi adipocitari), responsabile della prima reazione limitante dell'idrolisi dei trigliceridi (TG). Mutazioni di ATGL nell'uomo causano la malattia da accumulo di lipidi neutri, nonché disfunzioni neurologiche e muscolari scheletriche. PGC-1 α e ATGL sono espresse anche nel cervello e, recentemente, è stata dimostrata la loro interazione funzionale nel muscolo scheletrico e nel tessuto adiposo. In particolare, nel laboratorio è stato dimostrato che in condizioni di carenza di nutrienti si ha un'induzione redox-mediata dell'espressione di ATGL. L'acido grasso (FFA) liberato da ATGL è responsabile dell'attivazione di importanti fattori di trascrizione (PPARs) FA-sensibili a loro volta responsabili dell'espressione dei geni ossidativi mitocondriali e di molecole anti-infiammatorie. Tra i geni regolati dalle PPARs, vi è anche PGC-1 α . Pertanto, l'asse di segnalazione lipidica ATGL/FFA/PGC-1 α , durante condizioni di restrizione di nutrienti, attiva il catabolismo lipidico con conseguente aumento dell'attività metabolica mitocondriale.

Un importante studio condotto su cervelli post-mortem di pazienti con MP ha dimostrato la selettiva attivazione di un repressore della trascrizione del gene PGC-1 α . Questo repressore, denominato PARIS (PARKin, Interacting Substrate), risulta essere normalmente inattivato per degradazione previa ubiquitinazione dall'enzima ubiquitina 3-ligasi (Parkin). Sia nel MP sporadico sia familiare, la proteina Parkin è inattivata e PARIS, non essendo degradata, agisce a livello nucleare inibendo l'attività trascrizionale sul promotore PGC-1 α .

Nel laboratorio, è stato dimostrato che in risposta alla carenza di nutrienti il fattore di trascrizione p53 è un potente induttore dell'espressione di PGC-1 α sia nel cervello che nel muscolo scheletrico. L'attivazione di p53 è strettamente dipendente da un'aumentata biodisponibilità dell'ossido nitrico (NO). L'induzione di PGC-1 α , oltre a potenziare l'attività mitocondriale, determina l'incremento dei livelli di antiossidanti endogeni, tra cui la SOD2, contrastando gli effetti avversi dello stress nitrossidativo normalmente associato a condizioni patologiche.

Anche se è riportato che la repressione di PGC-1 α induce una perdita selettiva dei neuroni dopaminergici e un malfunzionamento dei geni regolatori dell'assorbimento e del metabolismo lipidico, ad oggi, non ci sono evidenze a riguardo di un potenziale coinvolgimento di ATGL nella MP. Nel loro complesso, queste nozioni suggeriscono che il metabolismo e la segnalazione lipidica potrebbero ricoprire un ruolo critico nella MP.

L'ipotesi è che in modelli sperimentali di MP l'attività di p53 sul promotore di PGC-1 α sia ridotta, causando una diminuzione dell'espressione del suo mRNA. Questo può essere spiegato dal fatto che l'aumento dello stress ossidativo nella MP sottrae l'NO biologicamente attivo dai suoi ruoli di segnalazione fisiologica (ad esempio la trascrizione del gene di PGC-1 α mediata dall'asse NO/p53). L'idea è che possano diminuire anche i livelli di ATGL come conseguenza della down-regolazione di PGC-1 α , a sua volta dovuta alla perdita di PPAR gamma, un noto fattore di trascrizione responsabile anche dell'espressione di ATGL.

È atteso che l'inibizione di ATGL possa contribuire ad un ulteriore decremento dell'espressione di PGC-1 α a causa del danneggiamento della via di segnalazione FFA/PPARs. L'alterazione di PGC-1 α e ATGL potrebbe esacerbare il deficit energetico tipico del MP a causa della ridotta biogenesi mitocondriale e del basso turnover lipidico. Tutti questi eventi potrebbero portare ad un accumulo intracellulare di lipidi con conseguente morte neuronale e disfunzione della cellula muscolare. Siamo fiduciosi che la restrizione di nutrienti, nota per aumentare l'espressione di ATGL e PGC-1 α , possa prevenire l'accumulo lipidico, ritardando e migliorando i sintomi e le caratteristiche cliniche della MP. Scoprire nuovi meccanismi molecolari che portano alla carenza di PGC-1 α sia nel cervello che nel muscolo scheletrico nel MP e mettere a punto delle strategie nutrizionali che possano prevenire e/o migliorare i sintomi e le caratteristiche cliniche del MP ristabilendo la giusta funzionalità di ATGL e PGC-1 α . Una particolare attenzione è rivolta verso:

- p53, in quanto in grado di indurre l'espressione di PGC-1 α ;
- PPARs, la cui attività può dipendere da PGC-1 α e dagli FA rilasciati da ATGL;
- il metabolismo lipidico regolato da ATGL e PGC-1 α ;
- l'effetto della limitazione dei nutrienti sulla funzione mitocondriale ed il metabolismo lipidico nella cellula neuronale e muscolare.

Anno 2011. Action observation therapy: a chance for Parkinson Disease patients of improving mobility through a home-based training

Progetto in collaborazione con il Dipartimento di Neuroscienze dell'Università di Genova e il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, sezione Neuroscienze Cliniche dell'Università Politecnica delle Marche

La scoperta dei neuroni mirror (Gallese et al., 1996; Rizzolatti et al., 1996) ha aperto la strada allo studio dell'attivazione dei network neurali corticali in relazione ad atti motori finalizzati; non solo movimenti, quindi, ma azioni. La percezione si immerge, grazie a queste teorie, nella dinamica stessa dell'azione. Il grande merito di queste ricerche è stato dimostrare che il riconoscimento delle azioni altrui dipende dal proprio patrimonio motorio. Il fatto che la comprensione del gesto sia prelinguistica e che la capacità di agire nasca dall'esperienza sociale prima che individuale, ha inoltre aperto numerose strade per l'interpretazione, dal punto di vista cognitivo, del significato delle arti sceniche, delle forme di linguaggio, dell'empatia. Il presente progetto si basa sull'idea di una terapia neuroriabilitativa che fa uso dell'Osservazione dell'Azione (AO) e si propone di valutare l'efficacia di tale terapia e nell'aumentare la velocità di movimento degli arti superiori, l'agilità e la locomozione, e nel migliorare le attività e la qualità della vita in persone con malattia di Parkinson.

Lo scopo di questo studio è quello di verificare l'efficacia della terapia Action Observation (AO) sulla disabilità correlata al PD e verificare la fattibilità di un protocollo AO home-based. In particolare, l'obiettivo principale era quello di aumentare la velocità di movimento degli arti superiori, l'agilità e la locomozione, che quello di migliorare le attività e la qualità della vita in persone con malattia di Parkinson (PD) durante un follow-up di 4-6 mesi.

Il secondo obiettivo è quello di valutare la fattibilità e l'efficacia di un protocollo di tele-riabilitazione che fa uso della terapia AO a domicilio.

120 pazienti con PD sono considerati ammissibili e arruolati consecutivamente sulla base delle seguenti caratteristiche: diagnosi di PD idiopatica secondo i criteri UK BRAIN BANK; Età compresa tra i 18 e gli 80 anni; Il primo obiettivo dello studio è realizzato mediante la costruzione di un trial randomizzato, controllato, con osservatore in cieco per valutare l'efficacia della terapia AO nel migliorare la funzione degli arti superiori, promuovere l'indipendenza nelle attività quotidiane e aumentare la qualità della vita, rispetto alla terapia standard motoria nella malattia di Parkinson. Il secondo obiettivo dello studio è realizzato mediante la costruzione di un trial randomizzato, controllato, con osservatore in cieco per valutare l'efficacia della terapia AO nel migliorare la funzione di andatura, promuovere l'indipendenza nelle attività e aumentare la qualità della vita, rispetto alla terapia motoria standard nella PD. Il terzo obiettivo dello studio è raggiunto attraverso una indagine pre-post della fattibilità e l'efficacia di un protocollo di teleriabilitazione per garantire prestazioni stabili nell'arto superiore e nella funzionalità del passo lungo un periodo di 4/6 mesi.

Nel corso del 2016, per il PROTOCOLLO ARTO INFERIORE sono stati valutati 35 soggetti potenzialmente arruolabili; di questi sono risultati corrispondenti ai criteri di inclusione 19 soggetti in totale. All'interno del gruppo dei 19 pazienti si è verificato un dropout in seguito alla prima valutazione. A seguito della costruzione del trial randomizzato, controllato, con osservatore in cieco, i soggetti sono stati chiamati a partecipare ad una prima valutazione (T0- baseline). Per il PROTOCOLLO ARTO SUPERIORE sono stati valutati 40 soggetti potenzialmente arruolabili; di questi sono risultati corrispondenti ai criteri di inclusione 23 soggetti in totale. A seguito della costruzione del trial randomizzato, controllato, con osservatore in cieco, i soggetti sono stati chiamati a partecipare ad una prima valutazione (T0- baseline). Le analisi sono in corso di elaborazione.

Ci si aspetta di:

- Determinare la caratteristica dei pazienti da includere nei trattamenti;
- Determinare l'efficacia dei trattamenti proposti;
- Dimostrare la fattibilità del trial;
- Dimostrare un rapporto favorevole costi/benefici rispetto all'approccio tradizionale;
- Dimostrare la trasferibilità al Sistema Sanitario come tecnica riabilitativa riconosciuta e validata.

LABORATORIO DI FARMACOLOGIA CELLULARE E MOLECOLARE

Progetto Giovani Ricercatori - Bando 2010

New nanotechnology and biomedical approaches to improve postoperative pain treatment reducing risks related to opioids

Unità Operativa

Il dolore post operatorio (PP) acuto è un fenomeno complesso irrisolto che può portare a complicanze post-operatorie, sindrome di dolore cronico post-chirurgico (CSPS) e costi maggiori. Il passaggio dal dolore acuto al CSPS dovuto sia al background genetico sia alla risposta infiammatoria varia molto da paziente a paziente, come anche il consumo degli oppioidi. Ad oggi, ancora non sono stati trovati strumenti diagnostici per identificare il grado di dolore PP e la quantità necessaria di farmaci antidolorifici efficace, evitando effetti collaterali indesiderati.

L'obiettivo dello studio è quello di validare l'uso del metilprednisolone tramite CWI (Continuous Wound Infusion) per ridurre il consumo di morfina e i suoi effetti collaterali in seguito ad un intervento chirurgico addominale. Inoltre, si sta valutando il ruolo dei polimorfismi genetici come possibili biomarkers per il dolore post-operatorio e per il consumo di oppioidi.

Si tratta di uno studio multicentrico, prospettico, in doppio cieco, di fase III di sperimentazione clinica. Sono coinvolti tre centri nel reclutamento dei pazienti (IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, Parma, Italia, e Humanitas Research Center, Milano, Italia), e due centri che si occupano di analisi genetiche (AOU di Parma) e dello stress ossidativo (IRCCS San Raffaele Pisana).

I pazienti che hanno subito un intervento chirurgico addominale durante le prime 24 ore hanno ricevuto CWI di robivacaina 0,2% + metilprednisolone 1mg/Kg. Nelle successive 24 ore, i pazienti sono stati suddivisi, in maniera casuale, tra i due gruppi di trattamento: robivacaina+steroidi oppure placebo.

A 48 ore dall'operazione i pazienti sono stati trattati con una controllata CWI di sola robivacaina 0,2% o placebo secondo il gruppo di randomizzazione, fino ad un massimo di 7 giorni dopo l'intervento. Tutti i pazienti sono stati analizzati al termine della chirurgia, a 3,6,12,24,48 ore e al settimo giorno post-operatorio o fino alla rimozione del catetere e sono stati registrati tutti i valori riguardanti dolore, consumo di analgesici, effetti collaterali legati ai farmaci, e qualsiasi complicazione del catetere (come l'occlusione o dislocazione).

Il gruppo di ricerca del laboratorio si è occupato delle analisi dello stress ossidativo (malondialdeide (MDA) e 8-OHdG), in campioni di sangue e urine di pazienti trattati con anestetico + steroide o placebo al tempo 0, 6, 24, 48, 72 ore dall'intervento chirurgico. In particolare, è stato messo a punto un adeguato protocollo sperimentale per la misurazione dell'MDA in campioni di sangue e urine; è stato osservato come i pazienti trattati con analgesico + steroide mostravano una diminuzione dei livelli di MDA nel plasma e nelle urine alle 48 e 72 ore dall'intervento chirurgico rispetto ai pazienti placebo.

Attraverso saggi ELISA è stato valutato l'andamento della 8-OHdG nelle urine ed è stato osservato

una diminuzione dei livelli di 8-OHdG in pazienti trattati con analgesico + steroide rispetto ai pazienti placebo, analogamente alla variazione di MDA.

Gli studi pre-clinici, inoltre, si sono focalizzati sul ruolo di antiossidanti di origine naturale nel trattamento del dolore. I ricercatori hanno quindi valutato l'azione di composti polifenolici con azione antiossidante dimostrando che sono in grado di ridurre significativamente i livelli di nitrato delle tirosine e di conseguenza l'iperalgisia e la tolleranza indotte dalla somministrazione cronica di morfina.

Risultati significativi dell'approccio tecnologico possono identificare nuovi pathways nel trattamento con gli oppioidi o per gestire il dolore di varia natura. L'ampia implicazione di queste scoperte suggerisce che la nitrato proteica dei residui tirosinici è una dei possibili bersagli per la manipolazione terapeutica.

LABORATORIO DI NEUROFISIOLOGIA E NEUROBIOLOGIA MOLECOLARE

Progetto Giovani Ricercatori – Bando 2011

Overnutrition and brain health impairment: Epigenetic mechanisms potentially correlating metabolic and neurodegenerative diseases

Il progetto di ricerca si svolge in collaborazione con l'Istituto di Fisiologia Umana dell'Università Cattolica di Roma.

L'ipotesi sperimentale è che alterazioni del metabolismo durante la fase iniziale di sviluppo del sistema nervoso possano alterare il benessere, la plasticità cerebrale nel corso della vita, riducendo le funzioni cognitive, la plasticità di aree chiave per l'apprendimento e la memoria come l'ippocampo, nella vita adulta. L'ipotesi di lavoro è che i nutrienti, una dieta ricca di grassi saturi (HFD), possano modulare e condizionare, in maniera trans-generazionale, le funzioni cognitive attraverso meccanismi epigenetici.

Gli obiettivi prefissati del progetto sono:

- 1) Testare le funzioni cognitive di topi nati da femmine nutrite con una HFD.
- 2) Verificare se i cambiamenti comportamentali e funzionali siano ereditati con un meccanismo di tipo epigenetico.
- 3) Studiare il declino cognitivo di un modello murino di malattia di Alzheimer's (MA) in topi nati da femmine alimentate con una HFD.

In particolare, i risultati attesi dopo 18 mesi sono:

- 1) analisi comportamentale, elettrofisiologica ed immunoistochimica della prima generazione (F1) dei discendenti di topi alimentati con HFD (Obiettivo 1) corredate dallo studio dell'espressione genica sugli ippocampi della F1 (Obiettivo 1);
- 2) analisi comportamentale, elettrofisiologica ed immunoistochimica della seconda generazione (F2) dei discendenti di topi alimentati con HFD (Obiettivo 2).

E' stato inizialmente messo a punto il modello sperimentale consistente in topi C57/Bl6 nati da madri alimentate con dieta di controllo (SD) o HFD da 4 settimane prima della gravidanza fino alla terza settimana di allattamento. Gli animali generati (prima generazione, F1-SD e F1-HFD) sono stati alimentati con dieta standard sin dal momento dello svezzamento ed analizzati all'età di 3 mesi. Alcuni topi maschi della F1 sono stati invece accoppiati con femmine di controllo per ottenere la seconda generazione di animali da testare (F2-SD e F2-HFD). Allo stesso modo è stata successivamente ottenuta ed analizzata la terza generazione (F3-SD e F3-HFD) di topi discendenti da un progenitore femmina alimentato con SD o HFD nel periodo temporale precedentemente descritto.

Di seguito uno schema esplicativo del modello sperimentale.



Sono stati eseguiti test comportamentali in grado di esplorare funzioni cognitive ippocampo-dipendenti. In particolare sono stati utilizzati il test di riconoscimento di nuovi oggetti (NOR) per analizzare la memoria a lungo termine e il labirinto di acqua di Morris (MWM) per investigare la capacità di apprendimento e la memoria spaziale.

Per analizzare la neurogenesi adulta sono stati effettuati esperimenti di immunistochimica sul cervello della prole valutando la proliferazione delle cellule staminali neurali nella zona sottogranulare dell'ippocampo mediante iniezione di Bromodesossauridina (BrdU) e saggio di immunofluorescenza. Per quanto riguarda gli studi di elettrofisiologia, fettine di cervello di topo contenenti l'ippocampo sono state preparate come precedentemente descritto (Fusco S et al., PNAS. 2012.). Il potenziamento a lungo termine (LTP) è stato indotto utilizzando protocolli standard di stimolazione. Le risposte sinaptiche ai protocolli di induzione sono state studiate effettuando registrazioni "di campo" con tecnica "patch clamp". È stata inoltre studiata l'eccitabilità neuronale e l'attività sinaptica utilizzando la tecnica del "patch clamp" effettuando misurazioni in configurazione "whole cell". Ampiezza e frequenza delle correnti post sinaptiche in miniatura sono state valutate con registrazioni da 180s su neuroni in modalità "voltage-clamp" ad un potenziale di membrana di -70 mV. L'analisi dell'espressione genica è stata condotta estraendo l'mRNA dall'ippocampo di questi animali e utilizzando un sistema array su piastra per studiare l'espressione dei geni codificanti per le principali proteine sinaptiche mediante Real Time PCR.

Il contenuto di Bdnf nell'ippocampo è stato misurato mediante saggio ELISA.

Al termine dei 18 mesi dalla data di inizio del progetto sono state completate tutte le analisi comportamentali, elettrofisiologiche, immunistochimiche e molecolari previste.

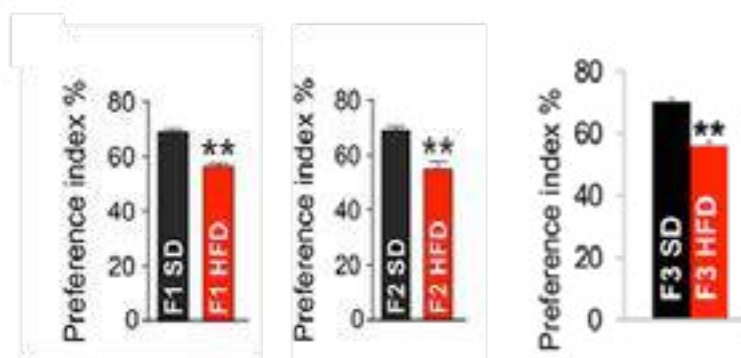
Gli esperimenti di comportamento hanno permesso di dimostrare come la HFD materna sia in grado di indurre alterazioni della memoria e della capacità di apprendimento rilevabili fino alla terza generazione dei discendenti. Inoltre, nell'ippocampo delle generazioni F1 e F2 fino ad ora analizzate, abbiamo evidenziato una compromissione della plasticità sinaptica e della proliferazione delle cellule staminali neurali (CSN) mediante, rispettivamente, esperimenti di LTP e immunohistochimica. L'analisi dell'espressione genica negli ippocampi di questi animali ha messo in evidenza una diminuita espressione del gene BDNF nelle tre generazioni di discendenti da madre alimentata con HFD. La nostra attenzione si è dunque focalizzata su questo gene, sia per il ruolo chiave che questo fattore neurotrofico ricopre nella modulazione della plasticità cerebrale, sia per la consistente riduzione della sua espressione in tutte le generazioni di discendenti HFD. È stata dunque analizzata l'espressione dei nove esoni i quali, mediante splicing alternativo, vanno a comporre i diversi trascritti del BDNF nel tessuto nervoso. Il saggio RT-PCR ha dimostrato una ridotta espressione degli esoni 1, 4 e 9 nell'ippocampo delle generazioni F1-HFD, F2-HFD e F3-HFD. Inoltre il saggio ELISA ha confermato la ridotta espressione proteica del fattore neurotrofico nei medesimi tessuti. Nel corso della seconda parte del progetto verranno analizzati in dettaglio le modificazioni epigenetiche nelle sequenze regolatorie di questo gene per individuare alterazioni in grado di determinare la ridotta espressione genica osservata. Inoltre verrà completata l'analisi elettrofisiologica ed immunohistochimica della F3-HFD e si investigherà se questo modello di danno metabolico transgenerazionale sia in grado di modificare l'insorgenza della patologia in un modello di malattia di Alzheimer.

Esperimenti condotti durante questa fase del progetto hanno inoltre permesso di conseguire già dei risultati meritevoli di pubblicazione. Infatti, nell'ambito degli studi sugli effetti dell'eccesso di nutrienti sulla plasticità cerebrale, abbiamo identificato un circuito molecolare alla base del danno metabolico sulla neurogenesi adulta.

I risultati raggiunti, descritti nella pubblicazione dal titolo "A creb-sirt1-hes1 circuitry mediates neural stem cell response to glucose availability" (Fusco S, Leone L, Barbati SA, Samengo D, Piacentini R, Toietta G, Maulucci G, Spinelli M, McBurney M, Pani G, Grassi C. Cell Reports, 2016 Feb 9;14(5):1195-205. doi: 10.1016/j.celrep.2015.12.092), suggeriscono nuovi bersagli molecolari potenzialmente coinvolti anche nel danno della HFD sulle CSN.

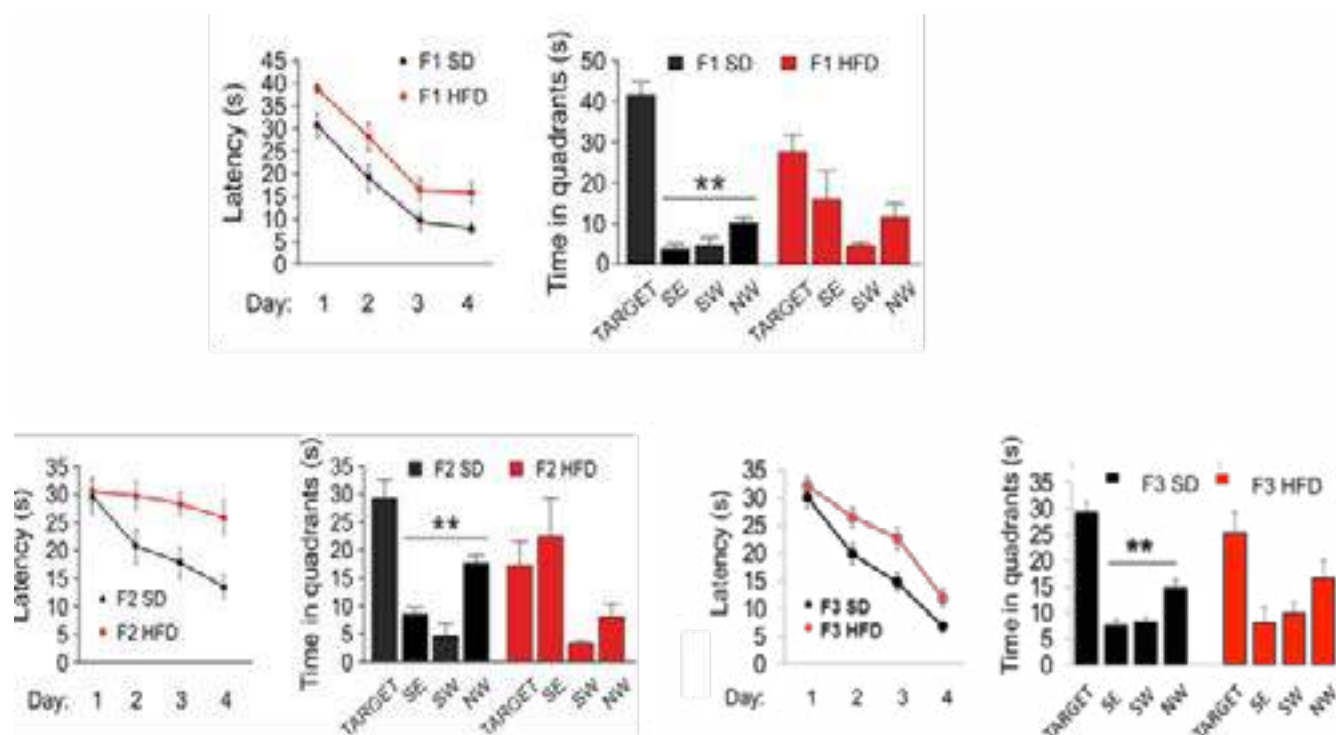
Inoltre, i dati raccolti nel corso dei primi 18 mesi, sono stati presentati ai seguenti convegni e seminari. Il laboratorio di Neurofisiologia e Neurobiologia Cellulare dell'IRCCS San Raffaele Pisana (UO 1) ha messo a punto e caratterizzato il modello sperimentale (indicato nella sezione Metodologia applicata) avvalendosi di una convenzione con il Centro Sperimentale dell'Università Cattolica dove il modello sperimentale è stato stabilizzato. Innanzitutto, gli animali sono stati analizzati dal punto di vista metabolico. I topi discendenti da madre alimentata con HFD non presentavano significative variazioni di peso, glicemia e insulinemia basali, né nella quantità di cibo assunto giornalmente. Successivamente, l'UO 1 ha analizzato dal punto di vista comportamentale le funzioni cognitive (capacità di apprendimento e memoria) degli animali confrontando i discendenti dell'animale alimentato con HFD con quelli di un animale di controllo (SD). I topi F1-HFD, F2-HFD, F3-HFD mostravano un minor indice di preferenza per il nuovo oggetto (F1-HFD = $56.5 \pm 1.1\%$, F2-HFD = $54.6 \pm 1.5\%$, F3-HFD = $55.9 \pm 0.5\%$ vs SD = $68.9 \pm 0.6\%$; n=8-10, p<0.01 per ciascun gruppo) quando analizzati con test NOR (Fig. 1).

-Fig. 1



- Inoltre gli stessi animali impiegavano un tempo significativamente maggiore, in particolare durante il terzo e quarto giorno del test MWM (+71.4% e +99.6%, rispettivamente al terzo e quarto giorno, la F1-HFD; +78.1% and +91.3% la F2-HFD; +70.3% and +58.6% la F3-HFD ; n=8-10 , p<0.01 per ciascun gruppo) rispetto a topi di controllo per raggiungere la piattaforma (tempo di latenza) durante la fase di allenamento volta ad investigare la capacità di apprendimento (Fig. 2).

- Fig. 2

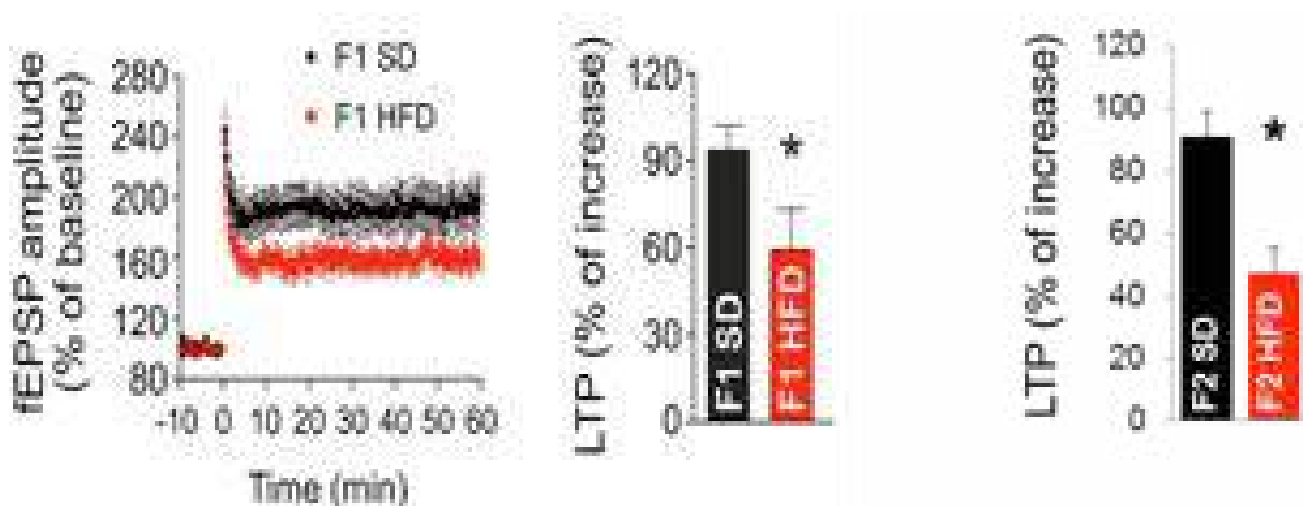


- Nel corso del medesimo test è stata esaminata la memoria spaziale degli animali, rimuovendo durante l'ultimo giorno la piattaforma e misurando il tempo trascorso da ogni topo in ciascuno dei quadranti in cui viene suddivisa la vasca del test. Il tempo speso nel quadrante "target" (dove era posizionata la piattaforma durante la fase di allenamento) da un animale di controllo è generalmente maggiore di quello trascorso in ciascuno degli altri quadranti. Al contrario, i discendenti del topo alimentato con HFD spendevano un tempo non significativamente diverso in almeno un altro dei quadranti, indice di un deficit della memoria spaziale.

- Contestualmente una altra coorte di animali discendenti da femmine alimentate con SD o HFD è stata analizzata presso l'Istituto di Fisiologia Umana dell'Università Cattolica di Roma (UO2) per investigare gli effetti dell'ambiente dismetabolico del progenitore su la plasticità sinaptica e la neurogenesi adulta.

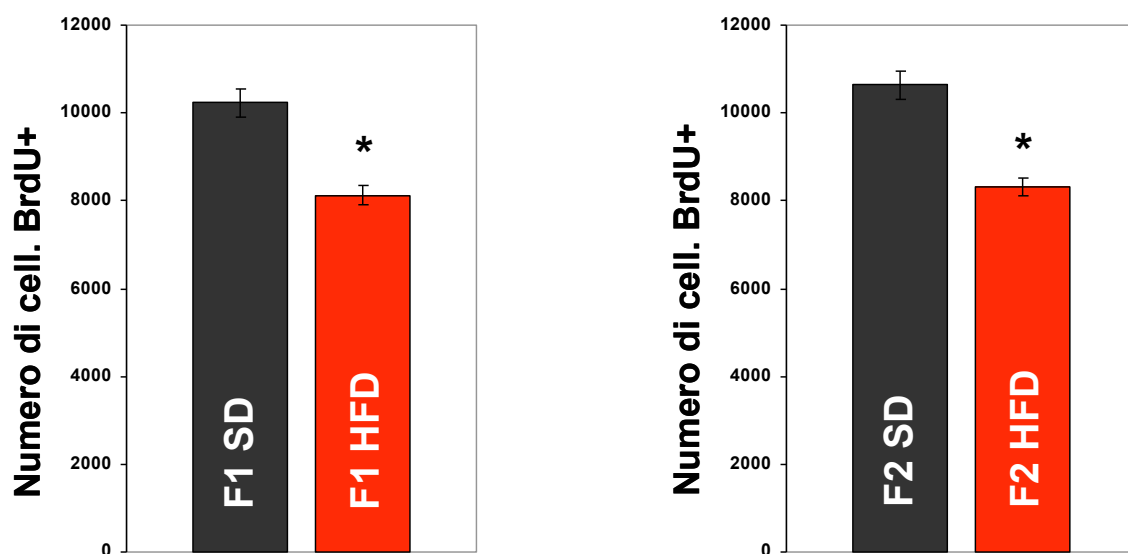
- Fettine di cervello contenenti l'ippocampo prelevate da topi F1-HFD e F2-HFD mostravano un deficit significativo del potenziamento a lungo termine, rispettivamente -37.3% e -49.2% (n. 11 fettine e n.4 topi per gruppo; p<0.05), delle sinapsi nella regione CA3-CA1 (Fig. 3)

Fig. 3



- Un secondo gruppo di animali è stato invece iniettato intraperitonealmente con BrdU (50 mg/Kg) per cinque giorni e al termine del trattamento, fettine di cervello contenenti l'ippocampo sono state cimentate con anticorpo anti-BrdU per rilevare le cellule proliferanti nell'area neurogenica dell'ippocampo. L'analisi di immunofluorescenza ottenuta al microscopio confocale ha evidenziato come nella zona sottogranulare dell'ippocampo di topi F1-HFD e F2-HFD vi sia una ridotta proliferazione di CSN, ad indicare un danno multigenerazionale anche a carico del compartimento staminale del cervello (Fig. 4 ; n. 10 fettine e n.3 topi per gruppo; $p < 0.05$).

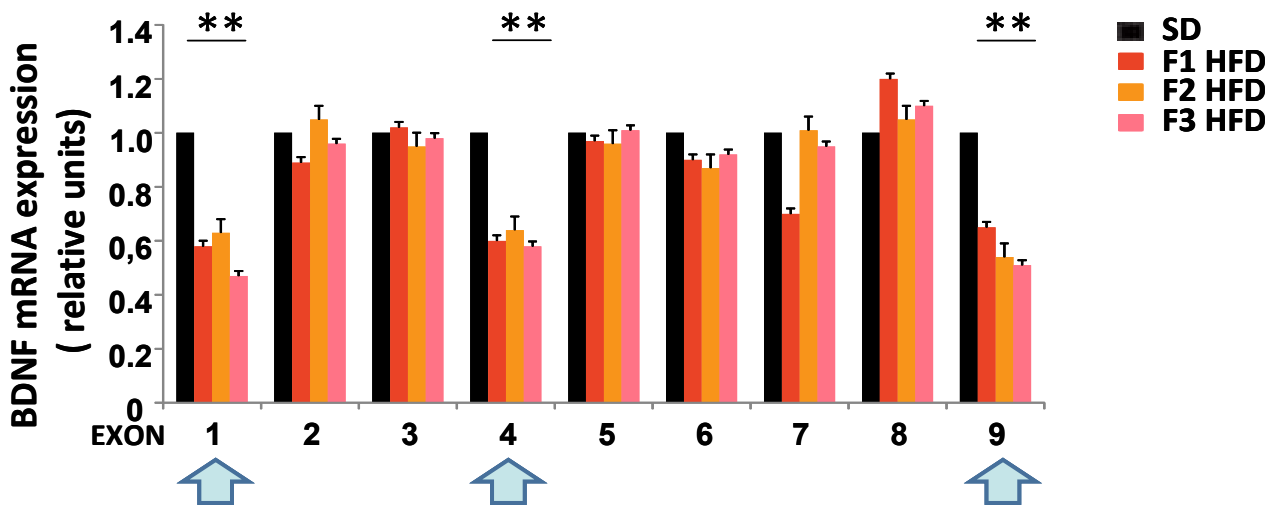
Fig. 4



- Infine, l'UO1 ha condotto una analisi di espressione genica per i principali geni codificanti proteine coinvolte nella regolazione della plasticità cerebrale. Da una prima analisi è emerso che l'mRNA del BDNF risultava ridotto nell'ippocampo dei topi generati da madre alimentata con HFD (F1-HFD). E' stata dunque valutata l'espressione dei 9 diversi esoni compresi nel gene del BDNF nell'ippocampo dei discendenti HFD fino alla terza generazione. Ogni esone può dar luogo ad una isoforma diversa del fattore neurotrofico con caratteristiche (ad es. localizzazione, emivita) diverse ed è finemente regolato da modificazioni epigenetiche che potrebbero essere trasmesse da una generazione all'altra.

L'analisi, mediante RT-PCR, ha rivelato una significativa e costante riduzione del trascritto degli esoni 1, 4 e 9 negli ippocampi dei topi F1-HFD, F2-HFD e F3-HFD (Fig. 5; $p < 0.01$).

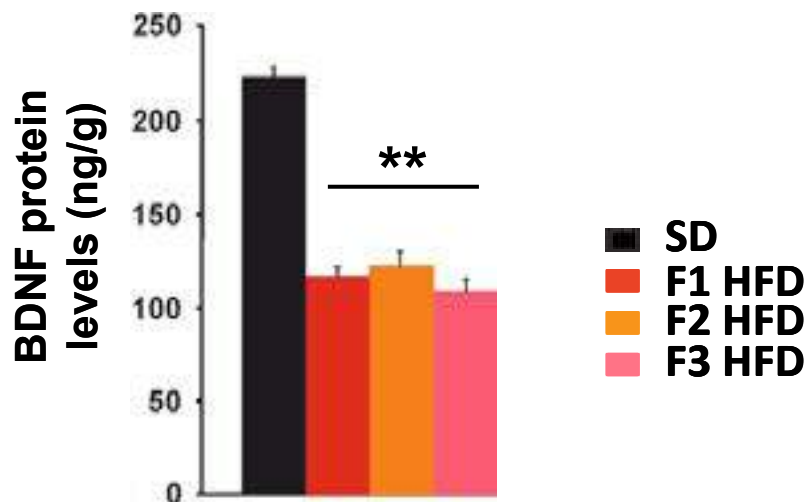
Fig. 5



Al fine di verificare la concomitante riduzione della sintesi proteica del Bdnf nell'ippocampo degli animali analizzati, è stato realizzato un saggio ELISA specifico per dosare il contenuto della neurotrofina nel lisato tissutale ottenuto dai discendenti HFD.

Il saggio ELISA ha confermato un ridotto contenuto della forma attiva del fattore neurotrofico Bdnf nell'ippocampo dei topi F1-HFD, F2-HFD e F3-HFD (Fig. 6; $p < 0.01$).

Fig. 6



Lo studio sta proseguendo, in sinergia tra le unità operative, al fine di raggiungere tutti i risultati attesi sulla base della cronologia sperimentale prevista.



ALTRE TIPOLOGIE DI RICERCA

PROGETTO 5 PER MILLE

I SISTEMI ESOSCHELETRICI INDOSSABILI PER IL RECUPERO FUNZIONALE IN SOGGETTI CON LESIONI DI TIPO NEUROLOGICO: MECCANISMI NEUROFISIOLOGICI E VALUTAZIONE MULTIMODALE DI EFFICACIA

Recentemente, è stato acquistato dall'IRCCS San Raffaele Pisana un esoscheletro indossabile (Ekso™) per il riapprendimento assistito della locomozione, permettendo al paziente di camminare (Mertz 2012). L'Ekso™ è utilizzabile con differenti modalità in cui il fisioterapista (FirstStep™) o il paziente (ActiveStep™) attiva l'esecuzione del passo premendo un bottone, oppure in cui il paziente attiva l'esecuzione del passo spostando il peso lateralmente (ProStep™) e la gamba in avanti (ProStep Plus™) in base ad alcuni parametri scelti dall'operatore. Tuttavia, la letteratura scientifica non presenta studi clinici sulla riabilitazione del cammino mediante Ekso™ nelle varie modalità e sulle procedure di ottimizzazione della scelta dei parametri.

Il presente studio si prefigge di:

- osservare eventuali variazioni dei segnali EMG degli arti inferiori durante l'utilizzo dell'esoscheletro Ekso™ al variare delle modalità di uso dell'esoscheletro e dei parametri scelti.

- individuare un algoritmo per la selezione automatica ottimizzata dei parametri in modalità ProStep™ in base ai segnali EMG acquisiti durante l'utilizzo del robot (fine tuning)

Segnali EMG degli arti inferiori (bicipite femorale, retto femorale, tibiale anteriore, gastrocnemio mediale) sono acquisiti: durante la posizione eretta ed il cammino (ove possibile); a soggetto seduto durante la dorsiflessione di caviglia (a ginocchio flesso ed esteso) e durante la triplice flessione dell'arto inferiore; e durante il primo uso dell'Ekso™ in modalità ProStep Plus™ con i seguenti parametri: assistenza bilaterale; oscillazione sx e dx massima; flessione plantare = 0; stiffness = 2. Il fine tuning è effettuato mediante verifica del pattern EMG. In particolare i parametri sono scelti nel modo seguente:

- Spostamento laterale pari a 1, tempo di oscillazione 1.3 s, lunghezza del passo 12

- Spostamento laterale pari a 0, tempo di oscillazione 1.3 s, lunghezza del passo 12

- Spostamento laterale pari a -1, tempo di oscillazione 1.3 s, lunghezza del passo 12

Sulla base del pattern EMG ed in base al feedback dato dal fisioterapista che "guida" il paziente si sceglie il parametro migliore. Successivamente si modifica il tempo di oscillazione:

- Tempo di oscillazione pari a 1.5s, con spostamento laterale definito in precedenza

- Tempo di oscillazione pari a 1.1s, con spostamento laterale definito in precedenza

Sulla base del pattern EMG ed in base al feedback dato dal fisioterapista che "guida" il paziente si sceglie il parametro migliore. Successivamente si modifica del tempo di oscillazione:

- Modifica della lunghezza del passo (aumento/riduzione), se ritenuto idoneo

- Modifica dell'angolo relativo, se ritenuto idoneo

I risultati ottenuti nel 2016 hanno riguardato la sperimentazione della riabilitazione del cammino di 5 pazienti post-ictus subacuti (età: 66 ± 10) sottoposti a 15 sessioni di terapia (1 ora per 3 volte a settimana) di riabilitazione del cammino tramite Ekso™. In particolare, il protocollo per la scelta automatica dei parametri dell'esoscheletro è stato applicato analizzando i segnali EMG degli arti inferiori durante la prima seduta di terapia supportata da Ekso™. Il confronto tra le tracce ottenute utilizzando diversi set di parametri ha permesso di scegliere la combinazione in grado di instaurare un pattern elettromiografico molto simile a quello di un soggetto sano deambulante.

L'attività di ricerca attesa per il 2017 riguarderà lo studio di un numero più ampio di pazienti e

un'analisi avanzata del segnale EMG al fine di automatizzare il setting dei parametri Ekso™.

PROGETTO CONTO CAPITALE – MINISTERO DELLA SALUTE

RIABILITAZIONE ROBOT-ASSISTITA DELL'ARTO SUPERIORE: NUOVE PROSPETTIVE DI TRATTAMENTO E DI RICERCA (PROGETTO SUD)

Nell'ambito di questo progetto si sono acquisite alcune strumentazioni a tecnologia complessa: due sistemi di riabilitazione in realtà virtuale, un robot per la riabilitazione della mano (Amadeo della Tyromotion) e due sistemi di valutazione (EMG ed EEG).

Per quanto attiene i due strumenti di realtà virtuale, non si sono attivate linee di ricerca specifiche, ma sono utilizzati nei percorsi assistenziali dei nostri pazienti al fine di garantire un intervento al massimo livello possibile in termini di originalità ed attualità. Per quanto attiene l'uso dell'amadeo si sta lavorando sull'idea di costituire un gruppo multicentrico internazionale per sperimentare l'efficacia di tale strumento. Si è individuata una prima bozza di protocollo di studio che prevede un RCT che dovrebbe includere persone con emisinrome piramidale a 2-6 mesi dall'evento acuto, che abbiano sviluppato un ipertono flessorio a livello del gomito, polso e dita di grado moderato. Deve essere presente un minimo di motilità attiva ($MRC \geq 2$ ad almeno un segmento o prossimale o mediano o distale). I soggetti saranno suddivisi in 4 gruppi: 1) trattati solo col robot, 2) trattati con tossina botulinica e robot, 3) trattati con tossina botulinica e riabilitazione tradizionale, 4) trattati solo con approccio rieducativo tradizionale. I principali sistemi di valutazione che dovrebbero essere adottati, oltre ai dati demografici e clinici generali, sono i seguenti: Ashworth Scale Modified, Tardieu Scale, Motricity Index, Fugl-Meyer 66-item, Box and Block test, Nine Hole Peg Test, Range of Motion, Visual Analogic Scales e Neuropathic Pain Scale x il dolore. Si utilizzerà anche la EMG di superficie per l'analisi delle attività muscolari.

ISTITUTO NAZIONALE PER L'ASSICURAZIONE CONTRO GLI INFORTUNI SUL LAVORO (INAIL)-BANDO 2010

STUDIO DEL RUOLO DELL'AMBIENTE LAVORATIVO NELLA PATOGENESI DEL MORBO DI PARKINSON

La raccolta dei casi per lo studio caso-controllo si è svolta nelle due strutture dell'IRCCS San Raffaele Pisana e presso il San Raffaele di Cassino. La diversa tipologia geografica e sociale delle due aree ha suggerito un'analisi differenziata, per tener conto delle diverse tipologie di rischi ambientali e occupazionali prevalenti. Nel corso dello studio, presso gli Ambulatori Neurologici dell'IRCCS San Raffaele Pisana, sono stati raccolti 994 questionari somministrati a pazienti con Malattia di Parkinson (MdP) e controlli sani. Presso il San Raffaele Cassino sono stati inclusi 172 soggetti (87 casi e 85 controlli).

Fra le variabili considerate nello studio, i principali fattori di rischio sono confermati essere il sesso, con un rischio aumentato di circa il 50% di sviluppare MdP nei maschi. Similmente, l'incremento dell'età provoca un aumento del rischio di sviluppo della malattia pari a circa il 2% per ogni anno. Infine, è risultato particolarmente elevato il rischio per coloro che hanno dichiarato di avere un parente affetto da MdP, con un valore dell'OR raddoppiato. Dalla valutazione dell'analisi univariata è emersa chiaramente la presenza di alimenti che aumentano il rischio di malattia e di alimenti il cui consumo, al contrario, riduce il rischio di malattia. Il consumo di carni e di salumi è significativamente associato alla condizione di caso, così come, invece, il consumo di verdura risulta protettivo. Meno chiaro risulta il ruolo della frutta e del pesce, il cui effetto benefico non raggiunge il livello di significatività statistica. Emerge chiaramente come il consumo giornaliero di carni e di salumi, quando confrontato con chi non consuma mai questi alimenti, rivela circa un raddoppio del rischio di sviluppare MdP. Il consumo giornaliero di frutta e verdura, da quanto emerge dai risultati dello studio, è in grado di dimezzare il rischio di malattia, anche se i risultati non sono supportati dalla significatività statistica. Il consumo di caffè ed altri stimolanti, ha mostrato un'associazione inversa con il rischio di MdP, in accordo con quanto riportato dalla letteratura. Lo studio ha evidenziato come il consumo, una o più volte al giorno, di caffè risulti in una riduzione del 30% della probabilità di sviluppare MdP, anche se, come nei casi precedenti, questa associazione non è risultata statisticamente significativa. Un particolare interesse è stato rivolto al ruolo eziologico dell'esposizione a fattori di rischio occupazionali. Un'attenta anamnesi occupazionale è stata condotta in casi e controlli per ricostruire esposizioni professionali attuali e pregresse. In particolare, per ogni occupazione è stato valutato il datore di lavoro, la mansione e la presenza di esposizione a sostanze a rischio tramite la consultazione di matrici lavoro-esposizione estratte dalla letteratura. Dal confronto delle distribuzioni di frequenza si osserva come alcune categorie risultino distribuite in maniera notevolmente asimmetrica, come i medici (16 casi e 6 controlli), i militari (15 casi e 7 controlli), i piloti di aereo ed il personale di volo (6 casi e 2 controlli), gli agricoltori (9 casi e 5 controlli). Queste indicazioni sono di particolare interesse, in quanto la letteratura sulla MdP riporta un'estesa valutazione dei rischi di tipo occupazionale per alcune professioni (agricoltori, saldatori), mentre non segnala un aumento del rischio in alcune categorie che sono in corso di ulteriore valutazione, quali piloti e militari. L'attività extraprofessionale è stata valutata anche tramite un modello di regressione logistica. I risultati hanno mostrato valori significativi per le attività associate all'uso di vernici e pitture (quindi di solventi, trichloroetilene ed altre sostanze tossiche contenute nelle vernici) che hanno presentato, dopo correzione per sesso, età e

familiarità, un rischio elevato anche se solo con una significatività borderline. Passando alle esposizioni legate allo stile di vita, particolare attenzione è stata rivolta al fumo di sigaretta, esposizione che la letteratura lega ad un ridotto rischio di MdP. Dopo correzione per età, sesso, dieta, e familiarità i soggetti che non hanno mai fumato presentano un rischio circa doppio di contrarre la malattia, mentre per gli ex-fumatori, categoria che include molti individui che hanno cessato di fumare dopo la diagnosi, il rischio è solo poco più basso. È stato poi effettuato uno studio genetico dei polimorfismi MTHFR (metilen-tetraidrolato reductasi) C677T (rs1801133) and SEM5A (semaforina 5A) T/A (rs7702187), polimorfismi associati all'insorgenza di malattie neurodegenerative quali la malattia di Alzheimer e il morbo di Parkinson. Lo studio ha coinvolto un campione di 50 pazienti affetti da MdP consecutivamente afferenti agli ambulatori San Raffaele e su 50 controlli sani appaiati ai casi per sesso ed età. I risultati hanno dimostrato una tendenza di entrambi i polimorfismi ad una sovra-rappresentazione della condizione di omozigosi nei casi (MdP).

Does the Action Observation treatment improve the upper limb speed of movement and deftness of parkinsonian patients?

Tale studio randomizzato controllato a doppio-cieco, ha come obiettivi:

- Valutare l'efficacia dell' "Action Observation Treatment" (AOT), quindi osservando azioni finalizzate per aumentare la velocità e precisione dei movimenti degli arti superiori e migliorare lo svolgimento di attività della vita quotidiana dei pazienti affetti da Malattia di Parkinson.
- Verificare la stabilità dell'effetto dell'AOT a 4+15 mesi di follow-up nel miglioramento funzionale e pertanto la qualità della vita quotidiana.

Nel corso del 2016 sono stati reclutati 15 soggetti con la diagnosi di MdP idiopatico e con il regime terapeutico stabile da almeno 4 settimane dall'inizio del trattamento, MOCA \geq 21, Beck Depression Inventory \leq 1. 3 pazienti esclusi dallo studio (Drop-Out) e altri 12 (età:64+ 10, 3 F. e 9 M.) sono stati suddivisi in 3 gruppi:

- EX1 (Live Movement Observation): 4 pazienti hanno eseguito l'osservazione delle azioni effettuate dal terapeuta per 3 minuti e la riproduzione delle azioni per 2 minuti.
 - EX2 (Video Observation): 4 pazienti hanno eseguito l'osservazione delle azioni mostrate in un video per 3 minuti e la riproduzione delle azioni per 2 minuti.
 - EX3 (Placebo): 4 pazienti hanno eseguito l'osservazione dei video placebo ed inanimati per 2 minuti e la riproduzione delle stesse azioni del Ex1 e Ex2 suggerite verbalmente dal terapeuta per 2 minuti.
- Tutti i pazienti sono stati valutati con seguenti test e scale di valutazione all'inizio (T0), dopo 10 sedute (T1) e alla fine del trattamento (T3):
- Scala di Hoehn and Yahr;
 - Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS);
 - Parkinson's Disease Questionnaire-8 (PDQ-8);
 - Clinical Global Impression (CGI);
 - Beck Depression Inventory (BDI);
 - Brown's Disability Scale;
 - Box and Block;
 - Nine Hole Peg Test;
 - Small Coin Rotation Task (SCR);
 - Small Lock Rotation Task (SLR);

Un follow-up a 4 mesi +15 giorni dalla fine del trattamento (T3) è stato effettuato a 4 pazienti. Lo studio è ancora in corso di svolgimento.

PROFILASSI DELL'EMICRANIA MEDIANTE TRATTAMENTO RIABILITATIVO MANUALE: STUDIO PILOTA RANDOMIZZATO CONTROLLATO CON CROSS-OVER INCOMPLETO (TRATTAMENTO MANUALE VERO VS TRATTAMENTO MANUALE PLACEBO O 'SHAM') PROTOCOLLO REHAB - MIGRAINE

L'emicrania è responsabile di disabilità e di scadimento della qualità di vita nei soggetti che ne sono affetti ed è direttamente proporzionale all'intensità ed alla frequenza degli attacchi. Il trattamento farmacologico sintomatico dell'emicrania si basa sull'uso di triptani e FANS per l'attacco acuto e, nel caso di forme ad alta frequenza o croniche, anche di terapie preventive (triciclici, beta-bloccanti, calcio-antagonisti, antiepilettici) che vanno assunte per diversi mesi. Negli ultimi anni si è progressivamente ampliato il ventaglio di possibilità terapeutiche della cefalea mediante l'introduzione di metodiche complementari non farmacologiche, come la terapia manuale riabilitativa. I lavori presenti in letteratura scientifica dimostrano un'efficacia statisticamente significativa per la terapia fisica manuale nel ridurre i giorni, la durata e l'intensità dell'emicrania. In questo progetto saranno sottoposti a terapia fisica i pazienti affetti da emicrania ad alta frequenza (8-14 attacchi/mese), con l'intento di effettuare una profilassi non farmacologica.

Lo scopo di questo progetto è quello di valutare l'efficacia del trattamento riabilitativo manuale rispetto al placebo, mediante una accurata selezione dei pazienti da parte di neurologi esperti in Cefalea, includendo quella fascia di pazienti affetti da emicrania episodica ad alta frequenza nei quali c'è spazio per poter offrire un approccio manuale riabilitativo, piuttosto che iniziare sin da subito una terapia farmacologica quotidiana di profilassi antiemicranica. La riduzione dei giorni di cefalea e la migliore gestione degli attacchi di emicrania potrà ridurre il tasso di disabilità di questi pazienti.

Lo studio è disegnato in modo randomizzato con un cross over incompleto, ha una durata per ogni paziente di 8 mesi; per i primi 4 mesi i pazienti effettuano i trattamenti riabilitativi veri o trattamenti placebo, i 4 mesi successivi tutti i pazienti effettuano i trattamenti veri. Vengono arruolati nel progetto i soggetti con diagnosi di emicrania senza aura ad alta frequenza di attacchi di cefalea (8-14 attacchi mese). Il medico dell'Unità per la Cura della Cefalea raccoglie le informazioni socio-demografiche quali età, sesso, luogo di residenza, attuale occupazione, quadro clinico, ecc. e le caratteristiche legate alla cefalea. E' prevista anche la somministrazione di test relativi alla cefalea e alla qualità di vita (questionario MIDAS, SF-36, VAS).

Sono stati arruolati 21 soggetti (19 F:2 M). Si è verificato 1 drop out dopo il primo trattamento per scarsa compliance da parte del soggetto. 3 paziente hanno completato lo studio. Non si sono verificati eventi avversi. L'arruolamento è in corso.

5 PER MILLE - ANNO 2012 EMPOWERMENT DEL PAZIENTE ED IL RUOLO DELLE ASSOCIAZIONI DEI PAZIENTI

Studi epidemiologici, clinici e di laboratorio hanno fornito evidenze definitive sulle capacità dell'attività fisica di ridurre la morbilità e la mortalità delle malattie cardiovascolari (MCV) e di migliorare le prestazioni fisiche e la qualità di vita di chi la pratica.

L'AISC - Associazione Italiana Scompensati Cardiaci - è un'organizzazione senza scopo di lucro costituita nel 2014 la cui mission consiste nel sostenere e diffondere tra i pazienti, i loro familiari la conoscenza dello scompenso cardiaco, creando una rete di contatto tra i pazienti incoraggiandoli ad aiutarsi e sostenersi reciprocamente attraverso la condivisione di informazioni e di esperienze.

Si è deciso quindi di attivare una collaborazione tra l'AISC e il reparto di Cardiologia Riabilitativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma con lo scopo di diffondere l'importanza della prevenzione e della riabilitazione cardiovascolare.

Lo scopo di questo progetto, al quale partecipano medici, psicologi, infermieri e fisioterapisti dell'IRCCS San Raffaele Pisana, è in particolare quello di promuovere l'esercizio fisico, quale strumento che impatta in modo positivo/significativo sulla prognosi, ma soprattutto sulla qualità di vita in questi pazienti.

L'obiettivo del progetto è quello di informare ed educare i pazienti con scompenso cardiaco a svolgere attività fisica.

Significativo è il ruolo dell'esercizio nella prevenzione del trattamento delle principali malattie cardiovascolari, ma nel prescrivere un programma individualizzato bisogna tener conto del difetto metabolico prevalente dei soggetti. Sicuramente efficaci sono le attività fisiche ad intensità moderata, durata >30 minuti, svolte anche non continuativamente, per 3-5 volte la settimana. L'esercizio fisico è quindi uno strumento in grado di modificare l'abitudine sedentaria per migliorare la qualità e l'aspettativa di vita dei pazienti.

Questo progetto si pone come scopo quello di insegnare ai pazienti con scompenso cardiaco, che un esercizio regolarmente svolto è in grado di migliorare la totalità dei fattori di rischio cardiovascolari modificabili.

Inoltre i pazienti devono essere consapevoli che l'esercizio fisico, affinché risulti efficace, sia come mezzo preventivo che terapeutico, debba necessariamente accompagnarsi al trattamento degli altri fattori di rischio cardiovascolari.

Durante gli incontri, gli argomenti maggiormente trattati sono:

- gli effetti del training fisico nel paziente con scompenso cardiaco: meccanismi di azione, tolleranza all'esercizio e sopravvivenza;
- i benefici del training fisico sullo stato psicologico del paziente scompensato;
- l'esercizio fisico nello scompenso cardiaco: modalità di esecuzione, tipi di training, fasi di sviluppo di una sessione di training.

Ci si aspetta un miglioramento della qualità di vita in tutti quei pazienti con scompenso cardiaco che eseguono il training fisico previsto e finalizzato al miglioramento e/o mantenimento dell'efficienza fisica.

CENTRO NAZIONALE PER LA PREVENZIONE E IL CONTROLLO DELLE MALATTIE – CCM2011

MODELLI INNOVATIVI DI GESTIONE INTEGRATA TELE-GESTITA OSPEDALE-TERRITORIO DEL MALATO CRONICO A FENOTIPO COMPLESSO: STUDIO DI IMPLEMENTAZIONE, VALIDAZIONE ED IMPATTO

Centro coordinatore: Fondazione Salvatore Maugeri Lumezzane
IRCCS San Raffaele Pisana, Unità Operativa 2

Altre Unità Operative coinvolte: Regione Veneto, Università di Firenze.

AGENZIA SPAZIALE ITALIANA (ASI)

PROGRAMMA DI ESERCIZIO FISICO STRUTTURATO COME CONTROMISURA VERSO L'INTOLLERANZA ORTOSTATICA INDOTTA DALLA PERMANENZA NELLO SPAZIO

Secondo i dati disponibili, nessun programma di esercizio fisico strutturato è mai stato svolto dagli astronauti specificamente rivolto a valutare gli adattamenti neurovegetativi in risposta a uno specifico programma di allenamento quale definito dalla dose di attività fisica da svolgere al fine di prevenire o almeno ridurre l'intolleranza ortostatica che si verifica al rientro nello spazio gravitazionale terrestre dopo voli spaziali.

La prescrizione ottimale di esercizio (in termini di modalità, frequenza, intensità e durata) per raggiungere questo scopo negli astronauti non è stata ancora identificata.

In altre parole la domanda "quanto e quale tipo di esercizio fisico è necessario per migliorare la tolleranza ortostatica" rimane attualmente senza risposta.

Recentemente, il gruppo di ricerca ha sviluppato un nuovo metodo chiamato TRIMPi (individualized Training IMPulses) che rappresenta una misura integrata, e individualmente determinata, delle risposte biologiche al carico di allenamento. Questo metodo utilizza un unico parametro che tiene conto degli effetti sia del volume che dell'intensità del programma di allenamento, cioè la dose di esercizio, sulla regolazione nervosa cardiovascolare. Questo metodo è stato utilizzato sia in corridori di maratona che in pazienti affetti da insufficienza cardiaca.

E' stato riscontrato un rapporto dose-response curvilineo tra il carico di allenamento individualizzato (cioè il valore di TRIMPi) e i parametri che esprimono il funzionamento del sistema nervoso autonomo con un incremento della variabilità del componente a bassa frequenza del battito cardiaco e della pressione arteriosa, marker di modulazione simpatica cardiaca e vascolare, al picco del carico di esercizio allenante.

L'aumento di attività simpatica diretta al cuore e ai vasi potrebbe essere fondamentale nel prevenire l'intolleranza ortostatica, poiché una ridotta risposta simpatica vasocostrittrice rappresenta un meccanismo predominante dell'intolleranza ortostatica assieme al contributo di un incremento relativamente attenuato della FC. Pertanto piani di allenamento di resistenza aerobica, di elevata intensità, programmati individualmente sulla base del TRIMPi, potrebbero dimostrarsi efficaci nel contrastare l'intolleranza ortostatica degli astronauti dopo voli spaziali.

Di conseguenza lo scopo di questo progetto è di valutare l'efficacia di un programma strutturato di allenamento aerobico strutturato, personalizzato in base al TRIMPi, nel prevenire l'intolleranza ortostatica e i meccanismi che ne sono all'origine, legati principalmente alla regolazione nervosa

cardiovascolare, in astronauti durante un volo spaziale. Come consolidata metodologia per la valutazione del controllo nervoso del sistema cardiovascolare durante lo stress ortostatico (ortostatismo attivo) pre- e post-volo spaziale, saranno utilizzati l'analisi spettrale della variabilità della FC e della pressione arteriosa e la sensibilità baroriflessa.

A questo fine, gli astronauti fanno uso dei sistemi esistenti di esercizio e di monitoraggio cardiovascolare presenti a bordo della ISS come il tapis-roulant, il modulo ARMS, un sistema di ricerca fornito dall'Agenzia Europea Spaziale che dovrebbe essere disponibile a terra e a bordo dello shuttle o dell'European Physiological Module. Tutto ciò consente di prevedere un'alta possibilità di successo di questo progetto.

I dati ottenuti da questo studio potrebbero fornire una base per la progettazione efficace di programmi di addestramento all'esercizio fisico che possono effettuare gli astronauti in future missioni di lunga durata sull'ISS, in cui protocolli di contromisure di attività fisica sono fortemente consigliate dall'Agenzia Spaziale Europea e dalla NASA.

Lo sviluppo di contromisure specifiche per accelerare la riabilitazione di equipaggi in missioni di esplorazione potrebbe trovare delle applicazioni cliniche nel prevenire disturbi legati all'inattività o a problemi di gravitazione e ai disabili qui sulla terra. Queste contromisure sono benefiche per prevenire disfunzioni autonome legate allo stress gravitazionale come quelle riscontrate nei soggetti allettati e con scompenso cardiaco come ipotensione ortostatica, l'atrofia o antigravità dei muscoli, ecc. Questo punto è particolarmente importante nella nostra società che sta invecchiando con molte persone anziane costrette a letto. La conoscenza accumulata dagli studi sulle funzioni neurali autonome nello spazio dovrebbe essere di grande utilità per stabilire contromisure e metodi preventivi efficaci per diverse categorie di pazienti caratterizzati da segni e sintomi di disfunzioni autonome.

In conseguenza della indisponibilità dell'astronauta italiana Samanta Cristoforetti ad eseguire il protocollo oggetto dello studio durante la fase di baseline data collection a terra prima del volo, in accordo con L'Agenzia Spaziale Italiana si è stabilito di procrastinare lo studio alla prossima missione spaziale sulla ISS prevista per il 2017, con a bordo l'astronauta italiano Paolo Nespoli.

AGENZIA ITALIANA DEL FARMACO (AIFA) – BANDO 2009

TRATTAMENTO FARMACOLOGICO NELL'ANZIANO CON PATOLOGIA CARDIOVASCOLARE ASSOCIATA A MALATTIE CRONICHE: INAPPROPRIATEZZA PRESCRITTIVA E VALUTAZIONE DI ESITO NELLA POPOLAZIONE ISTITUZIONALIZZATA E RESIDENTE IN COMUNITÀ

Centro Coordinatore: Dipartimento di Farmacologia Clinica e Preclinica, Università di Firenze
Unità 1: IRCCS San Raffaele Pisana, in collaborazione con le Regioni Lazio e Puglia.

Ruolo dell'Unità: definizione degli indicatori di prescrizione inappropriata (PI); raccolta dati; analisi statistiche.

RICERCA SPONSORIZZATA

GIBIEX - ANTIOXIDANT EFFECT OF TREATMENT WITH GINKGO BILOBA L. LEAF EXTRACT (IDN 5933) ON DNA CELL MAINTENANCE AND GENOMIC STABILITY: A RANDOMISED STUDY VERSUS PLACEBO **SPONSOR INDENA S.P.A.**

La pianta di Ginkgo Biloba, originaria dell'Asia orientale, ha da sempre svolto la funzione di erba medica per le sue innumerevoli proprietà benefiche in virtù delle sostanze in essa contenute.

Gli estratti delle foglie di Ginkgo Biloba, contenenti il 24% di flavonoidi e il 6% di terpeni, sono ad oggi utilizzati in diverse patologie e per il miglioramento delle funzioni cognitive. Il principale meccanismo di azione di Ginkgo Biloba è il suo effetto antiossidante multiplo; inoltre recenti studi suggeriscono benefici derivanti da Ginkgo Biloba, nella prevenzione della demenza.

In letteratura esistono numerosi studi sulle proprietà antiossidanti dell'estratto di Ginkgo Biloba L. foglie ed in particolare sul suo ruolo anti-demenza.

La stabilità del DNA è in molti casi il fattore chiave nell'eziologia e nello sviluppo di malattie croniche, dalle quali nella maggioranza dei casi risultano affetti gli anziani.

La sperimentazione clinica GiBiEx, Trattamento con Estratto di Ginkgo Biloba L. foglie (IDN 5933) e riduzione del danno al DNA e dell'instabilità genomica: uno studio randomizzato versus placebo, consiste in una ricerca medico-scientifica volta a valutare i benefici della somministrazione prolungata nel tempo su soggetti sani, dell'estratto del Ginkgo Biloba (IDN 5933), integratore alimentare dalle proprietà antiossidanti, in termini di mantenimento dell'integrità del DNA e di stabilità genomica.

La sostanziale mancanza di effetti clinici avversi a seguito di assunzione dell'estratto di Ginkgo biloba L. foglie da parte della popolazione nel corso dei secoli è ampiamente accertata ed è anche documentata in letteratura e, pertanto, la presente ricerca ha lo scopo di valutare la sicurezza del suddetto trattamento con IDN 5933 in soggetti umani a livello molecolare per verificare che accanto a benefici attesi non insorgano potenziali reazioni avverse al prodotto (ADR), tra cui epatotossicità e genotossicità.

La sperimentazione clinica GiBiEx è promossa e finanziata dalla Società INDENA S.p.A. e coinvolge 3 residenze sanitarie assistenziali della rete San Raffaele, la RSA San Raffaele Rocca di Papa, la RSA San Raffaele Montecompatri e la RSA San Raffaele Sabaudia, in collaborazione con l'IRCCS San Raffaele Pisana, quale centro coordinatore e di analisi dei dati.

Lo Studio GiBiEx prevede l'arruolamento complessivo di 100 soggetti assistiti presso le suddette RSA San Raffaele, in possesso dei seguenti criteri di inclusione:

1. pazienti residenti in RSA di età \geq di 65 anni
2. aspettativa di vita $>$ 1 anno
3. rilascio di consenso informato firmato.

Si tratta di uno studio clinico randomizzato, controllato con placebo e a doppio cieco e della durata complessiva di 6 mesi, a partire dalla data di arruolamento, per ogni soggetto.

Il progetto si prefigge 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.

Gli endpoint primari dello studio sono:

a) valutazione dell'integrità del DNA, effettuata per mezzo del Comet Assay, una tecnica microelettroforetica, atta alla misura ed alla visualizzazione del danno al DNA a livello di cellule individuali. Come test biomarcatore valuta l'esposizione nell'ambiente di lavoro ad agenti mutageni testando l'integrazione alimentare con antiossidanti, o controllando i livelli di stress ossidativo in relazione alle diverse malattie.

b) valutazione della stabilità genomica, effettuata per mezzo del Micronucleous Assay, test che consente di misurare la frequenza dei micronuclei nei linfociti del sangue periferico (in 1000 cellule binucleate), correlata, se superiore a valori normali, a danni cromosomici indotti.

Lo studio si prefigge inoltre di effettuare una valutazione preliminare della sicurezza di IDN 5933 in soggetti umani trattati con dosi terapeutiche in termini di reazioni avverse ai farmaci, epatotossicità e genotossicità.

Gli endpoint secondari, con riferimento a tutti i pazienti arruolati, sono:

a) valutazione clinica completa all'inizio ed alla fine dello studio.

b) verifica dell'insorgere di eventuali effetti derivanti dal trattamento con IDN 5933 o placebo.

c) monitoraggio delle funzioni epatiche sulla base degli esami biologici di laboratorio e dei sintomi clinici.

In un sottogruppo di pazienti:

d) monitoraggio dell'espressione genica associata ad eventi precoci mutageni (c-myc, p53, and ctnnb1).

La popolazione è stata randomizzata in due gruppi di trattamento: un gruppo sperimentale trattato con IDN 5933 ed un gruppo di controllo trattato con placebo.

Prima dell'inizio dello studio è stata condotta la fase di selezione dei soggetti partecipanti secondo i criteri di inclusione ed esclusione.

Al tempo T0, ciascun soggetto selezionato, di entrambi i gruppi, è stato sottoposto ad un esame clinico completo e ad un'intervista clinica.

I soggetti selezionati hanno donato 20 ml di sangue per la misurazione degli endpoint primari (Comet Assay e Micronucleus Assay) e dei livelli di funzionalità epatica (GOT/AST, GPT/ALT, GGT).

Nel corso dei 6 mesi di sperimentazione ai soggetti del gruppo sperimentale sono state somministrate dosi di 120 mg di IDN 5933 due volte al giorno, mentre ai soggetti del gruppo di controllo sono state somministrate le stesse dosi di placebo.

Al termine dei 6 mesi di sperimentazione i soggetti che hanno completato lo studio (47 soggetti) hanno donato 20 ml di sangue per la misurazione degli endpoint primari e secondari.

In un sottogruppo di 17 soggetti, di cui 8 trattati con IDN5933 e 9 placebo, sono state effettuate analisi di Gene Expression (c-myc, p53, and ctnnb1).

La partecipazione allo studio non ha modificato ed influito sul regolare trattamento farmacologico, ove prescritto dal geriatra o dal medico di base, di ciascun soggetto partecipante allo studio.

L'arruolamento dei soggetti è terminato nel gennaio 2016. La Sperimentazione è stata completata da 66 soggetti residenti nelle tre RSA San Raffaele coinvolte nello studio.

Nessuno dei marcatori valutati ha evidenziato un rischio più elevato nel gruppo sperimentale, a sostegno della sicurezza del Estratto di Ginkgo Biloba L. foglie (IDN 5933), prescritto a tali soggetti secondo le dosi e i tempi indicati dal protocollo di studio.

Di seguito vengono riportati i risultati relativi ai test effettuati e le tabelle (1-5) esemplificative.

Micronucleous assay: No differenze statisticamente significative fra gruppo Sperimentale e gruppo di Controllo, pre e post trattamento;

Comet assay: No differenze statisticamente significative fra gruppo Sperimentale e gruppo di Controllo per TAIL L, T1%, TAIL MOMENT, pre e post trattamento;

Gene Expression: No differenze statisticamente significative, fra gruppo Sperimentale e gruppo di Controllo, nel profilo di espressione dei tre geni studiati.

Test epatici: No differenze statisticamente significative fra gruppo Sperimentale e gruppo di Controllo, pre e post trattamento.

Nessun evento avverso è stato riportato dai soggetti appartenenti al gruppo sperimentale.

Table 1. Caratteristiche demografiche dei partecipanti allo Studio GIBIEX

Characteristics	N.	GBLE treated	Placebo	P-value*
	47	27 [57,5%]	20 [42,5%]	-
Age [Mean±SD]	47	79,2 ±10,7	81,2 ±10,3	n.s.
Age Tertiles [%]	47			n.s.
	<77 y.	11 [40,7%]	6 [30,0%]	
	78-85 y.	8 [29,6%]	7 [35,0%]	
	≥86 y.	8 [29,6%]	7 [35,0%]	
Sex [% Male]	18	9 [33,3%]	9 [45,0%]	n.s.
Marital Status [%]	43			n.s.
	Unmarried	8 [32,0%]	3 [16,7%]	
	Married	5 [20,0%]	4 [22,2%]	
	Divorced	1 [4,0%]	-	
	Widower	22 [44,0%]	11 [61,1%]	
Education [%]	35			n.s.
	No degree/Elementary	27 [76,5%]	14 [77,8%]	
	Middle School	4	4 [22,2%]	
	High School/University/Other	4 [23,5%]	-	
Current Weight Kg [Mean±SD]	38	68,3±12,8	67,9±18,9	n.s.
Usual Weight Kg [Mean±SD]	32	70,4±10,6	67,5±13,5	n.s.
Height Mt. [Mean±SD]	40	1,64±0,1	1,63±0,1	n.s.
Smoking habit [%]	47			n.s.
	Never Smoker	20 [48,2%]	7 [35,0%]	
	Current Smoker	7 [14,8%]	3 [15,0%]	
	Ex-smoker	12 [25,9%]	5 [25,0%]	
	Not responding	8 [11,1%]	5 [25,0%]	

*T-test quantitative [for unequal variances] or Chi square qualitative [Sig. <0,05]

Table 2. Funzionalità epatica

Liver function test **		GBLE treated n.27	Placebo n.20
Aspartate Aminotransferase [AST]			
T0	Normal	26	20
	Pathological	1	0
T1	Normal	27	20
	Pathological	0	0
Alanine Aminotransferase [ALT]			
T0	Normal	26	20
	Pathological	1	0
T1	Normal	27	20
	Pathological	0	0
Gamma Glutamyl Transferase [γGT]			
T0	Normal	23	18
	Pathological	4	2
T1	Normal	23	18
	Pathological	4	2

Table 3. Frequenza Micronuclei

Characteristics	N.	GBLE treated [MN%]	N.	Placebo [MN%]	P-value*
MN% T0	27	10,00±5,32	20	9,84±4,95	n.s.
MN% T1	27	12,08±6,11	20	12,68±7,07	
Age Tertiles					
65-77 y.	11	11,91±6,75	6	8,10±3,35	n.s.
78-85 y.	8	8,27±3,11	7	10,84±3,85	
≥86 y.	8	9,10±4,53	7	10,13±6,99	
Sex					
Male	9	10,22±4,55	9	8,73±5,13	n.s.
Female	18	9,89±5,79	11	10,74±4,84	
Marital Status					
Unmarried	8	8,97±4,37	3	5,50±2,02	n.s.
Married	5	9,29±3,25	4	8,81±3,31	
Divorced	1	6,13± -	-	-	
Widower	11	11,44±7,02	11	11,67±5,57	
Education					
No degree/Elementary	13	11,61±6,78	14	9,93±5,37	n.s.
Middle School	-	-	4	10,06±4,75	
High School/University	4	10,31±3,85	-	-	
Smoking habit					
Never	13	9,28±5,67	7	9,01±3,56	n.s.
Current Smoker	4	8,93±5,52	3	8,25±2,99	
Ex-smoker	7	10,82±4,86	5	11,44±6,06	
Not responding	3	12,50±6,39	5	10,34±7,05	

Table 4. Danno al DNA [Mean±SD] valori a T0

Characteristics	N.	GBLE treated [T%]	N.	Placebo [T%]	P-value*
T% T0	27	7,12±4,72	20	8,30±3,83	n.s.
T% T1	27	6,03±4,06	20	7,15±4,43	
Age Tertiles					
65-77 y.	11	8,15±6,51	6	7,33±2,87	n.s.
78-85 y.	8	6,23±3,09	7	9,51±4,83	
≥86 y.	8	6,59±3,18	7	7,94±3,67	
Sex					
Male	9	9,31±4,78	9	7,06±2,28	n.s.
Female	18	6,03±4,43	11	9,32±4,60	
Marital Status					
Unmarried	8	7,92±6,35	3	8,42±5,23	n.s.
Married	5	6,72±3,82	4	5,66±2,36	
Divorced	1	6,07±0	-	-	
Widower	11	7,39±4,61	11	9,63±3,88	
Education					
No qualify/Elementary	13	8,52±5,22	14	8,65±4,01	n.s.
Middle School	-	-	4	8,70±4,06	
High School/University	4	8,97±1,60	-	-	
Smoking habit					
Never	13	6,91±4,27	7	11,32±3,79	n.s.
Current Smoker	4	4,77±1,36	3	6,35±2,51	
Ex-smoker	7	9,52±6,52	5	8,36±3,63	
Not responding	3	5,57±3,91	5	5,19±0,99	

Tabella 5. Expression profiling dei geni c-myb e p53 in linfociti

<i>c-myb</i> expression [T1 vs. T0]					
	Up-regulated	Down-regulated	No change	No detectable	Total
GBLE- Treated	3	3	1	1	8
Placebo	1	4	4	0	9
Total	4	7	5	1	17

<i>p53</i> expression [T1 vs. T0]					
	Up-regulated	Down-regulated	No change	No detectable	Total
GBLE-Treated	4	2	1	1	8
Placebo	2	1	3	3	9
Total	6	3	4	4	17

Sono in fase di completamento la analisi dei dati.

FONDAZIONE PER LA RICERCA SCIENTIFICA TERMALE (FORST)

EFFECTIVENESS OF THERMAL WATER NASAL INHALATION AND IRRIGATION IN RHINOPHARYNGITIS AND SINUSITIS

Rinofaringite e sinusite sono un problema di salute comune. Alcuni effetti benefici di cure inalatorie con acque termali sono stati dimostrati in termini di sintomi, funzionalità nasale, citologia e microbiologia. Tali effetti potrebbero dipendere dalla regolazione dell'espressione di diverse componenti del sistema immunitario innato nelle cellule dell'epitelio nasale.

La ricerca intende valutare l'efficacia di un ciclo standard di 2 settimane di cure inalatorie con acqua termale in 200 pazienti adulti con rinofaringite o sinusite, reclutati consecutivamente tra quanti vi si sottopongono presso le Terme di Genova srl, Acquasanta (Genova). Le misurazioni includono scala dei sintomi, valutazione clinica, rinomanometria e livelli locali di un pannello di biomarker dell'infiammazione (High Throughput RT PCR analysis, Western Blotting). Nell'analisi dei dati si terrà conto di fattori quali fumo di tabacco, esposizioni lavorative, dieta.

Obiettivi secondari sono la valutazione dell'efficacia a un anno dalle inalazioni, in termini di sintomatologia e di eventi acuti; dei fattori clinici e socio-economici che influenzano la compliance dei pazienti e i cambiamenti nella sintomatologia a breve e a lungo termine; degli eventuali eventi avversi.

All'accettazione (T0), il medico responsabile della ricerca intervista il paziente utilizzando un questionario strutturato per la raccolta delle informazioni su lavoro, fumo, dieta, anamnesi patologica remota e a un anno (in particolare ORL), punteggio sulla scala dei sintomi. Viene effettuata una valutazione clinica comprendente una rinomanometria con lavaggio nasale e la raccolta di cellule della mucosa nasale.

Dopo 2 settimane (T1), terminato il ciclo standard di cure inalatorie, si ripetono scala dei sintomi e valutazione clinica, e si valuta la tollerabilità della terapia.

Un anno dopo (T2), il paziente viene intervistato telefonicamente su anamnesi patologica a un anno, particolarmente ORL, scala dei sintomi ed eventuali cambi di abitazione, lavoro, fumo, dieta.

Questionari, schede cliniche e campioni biologici vengono contrassegnati con un codice alfanumerico, per assicurare la cecità dello studio e il rispetto della privacy. Un database dedicato con accesso ristretto raccoglie dati e informazioni relativi ai pazienti.

Le cellule nasali sono analizzate con High Throughput (HT) real-time PCR utilizzando una card con 48 mini-pozzetti contenenti altrettanti geni implicati nel sistema immunitario innato e nell'infiammazione, per identificare in 25 pazienti un numero appropriato di geni candidati da testare in seguito in singoli saggi per Real-time PCR negli altri campioni. Le proteine pro-infiammatorie corrispondenti vengono visualizzate nel lisato cellulare per Western blot con gli anticorpi appropriati.

Dopo analisi statistica uni- e multivariata, i risultati dello studio sono condivisi con la comunità scientifica internazionale.

Il reclutamento dei pazienti e la raccolta di campioni biologici proseguono, mentre è cominciato il follow-up telefonico a un anno. Dopo la pausa estiva, il reclutamento è ripreso in settembre. In totale, a circa 200 pazienti eleggibili è stato chiesto di partecipare allo studio, 160 hanno aderito, 140 hanno concluso la fase il ciclo standard dopo le due settimane e 40 la fase dell'intervista telefonica a un anno. Il ricercatore principale incontra regolarmente il personale delle Terme per il monitoraggio e il supporto al reclutamento e per la gestione dei campioni biologici.

Tali campioni, opportunamente codificati, vengono conservati presso la struttura in un congelatore dedicato e sono periodicamente inviati al laboratorio di Roma per le analisi.

I dati clinico-epidemiologici e i parametri rinomanometrici vengono inseriti in un database costruito appositamente.

Sono stati realizzati alcuni incontri con il personale addetto alle analisi di laboratorio e alle analisi statistiche, nonché con un esperto otorinolaringoiatra.

Proseguono le analisi di espressione genica e proteine sui campioni nasali raccolti, (Università "Sa-

pienza” - Fisiopatologia Umana e IRCCS San Raffaele Pisana – Unità di Patologia Cellulare e Molecolare). In particolare, è stata misurata l’espressione di geni della risposta infiammatoria-riparativa tramite l’uso di una card microfluidica. Inoltre, è stata validata l’espressione genica, misurando l’espressione delle proteine codificate da quei geni che hanno mostrato un aumento o una diminuzione significativa nei pazienti sotto trattamento, paragonati a soggetti di controllo. È stata ripresa la revisione della letteratura sull’utilizzo di acqua termale nella terapia delle patologie nasali.

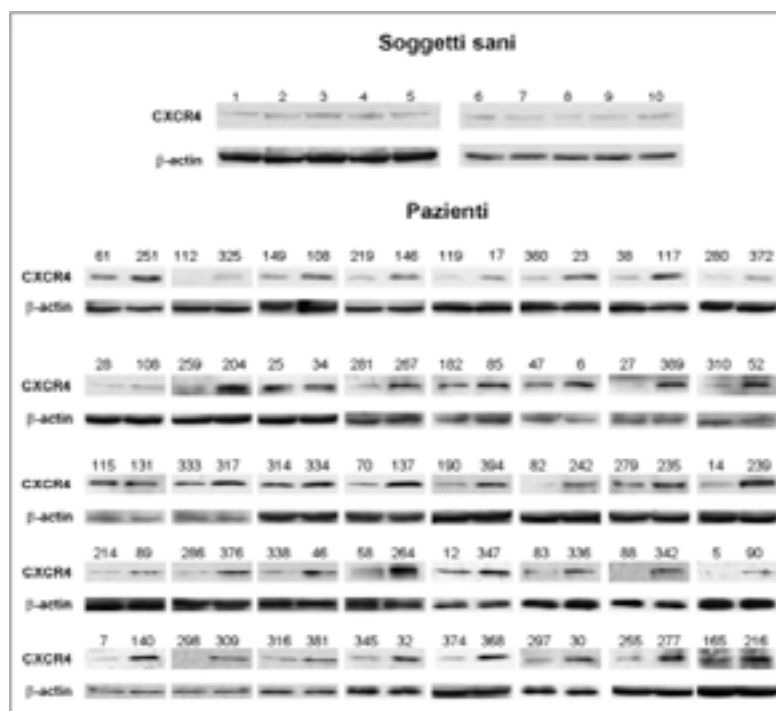
Profilo dei pazienti reclutati: 183 soggetti in ingresso (T0), 60% femmine, età media 61 anni. Metà sono pensionati e 12% casalinghe. Metà hanno sinusite, il 29% faringite, un quarto rinite cronica vasomotoria o allergica (alcuni indicano più patologie). La metà sono normopeso, il 38% in sovrappeso o obesi (gli uomini più delle donne). L’89% completa la terapia inalatoria a due settimane.

I pazienti sono caratterizzati da una maggior attenzione ai comportamenti connessi al mantenimento di un buono stato di salute, rispetto al campione della popolazione ligure oggetto della sorveglianza “Passi” (ISS). Percentualmente, ci sono la metà dei fumatori attuali e quasi il doppio degli ex fumatori; i forti consumatori di frutta e verdura sono il 42% del campione delle terme (≥ 6 porzioni/die) contro il 16% dei pazienti liguri in Passi (≥ 5 porzioni/die). Quasi un quarto del campione inoltre assume vitamine o antiossidanti.

L’analisi dell’espressione genica con microcard fluida (48 geni) su 40 soggetti mostra che l’espressione del gene CXCR4 è triplicata a T1 rispetto a T0, differenza altamente significativa. L’espressione di FLT1 diminuisce significativamente solo nei soggetti con sinusite e nei non fumatori. Il profilo complessivo dell’espressione genica sembra essere differente nei fumatori attuali rispetto agli altri soggetti.

L’analisi dell’espressione della proteina CXCR4 mostra un aumento di due volte e mezza a T1 rispetto a T0, differenza altamente significativa. Nel sottogruppo dei fumatori attuali si suggerisce una differenza minore, non significativa.

L’analisi dell’espressione genica di CXCR4 su 143 pazienti conferma il dato già osservato nei primi 40 pazienti, con un valore quasi triplo in uscita rispetto all’ingresso (altamente significativo), sostanzialmente invariato stratificando per patologia (rinite, faringite, sinusite) e in ex e mai fumatori. Nei fumatori attuali l’aumento di espressione è significativamente più contenuto che nel resto del campione. Non si evidenziano variazioni significative nell’analisi stratificata per sesso, età, allergia, fumo passivo, esposizione a sostanze inalabili, consumo di frutta e verdura. La Figura illustra l’espressione proteica di CXCR4 nei 10 soggetti sani e nei 40 pazienti. Si osserva chiaramente un incremento di due volte e mezza dell’espressione di tale proteina nei pazienti al tempo T1 (a due settimane).



Sia l'espressione genica di CXCR4 che l'espressione proteica aumentano in modo fortemente significativo nei pazienti dopo trattamento (T1) rispetto a 10 soggetti di controllo sani e non fumatori. Riguardo la scala dei sintomi, il punteggio medio di 5.7 in ingresso è risultato più che dimezzato in uscita (differenza altamente significativa statisticamente), e rimane su livelli analogamente bassi anche nel campione che ha completato il follow up. Questo andamento si riscontra sia nel campione totale sia stratificando per patologie (riniti, faringite, sinusite).

La media del punteggio che riassume la presenza di alterazioni della cavità nasale e del faringe dopo esame clinico obiettivo risulta più che dimezzata dopo la terapia inalatoria (1.4 in T0, 0.6 in T1, differenza statisticamente significativa). Stratificando per patologie non si evidenziano grosse variazioni.

La resistenza totale misurata con la rinomanometria è risultata globalmente più alta in T1 che non in T0 (statisticamente significativa solo la espiratoria nel totale del campione, solo la sinusite stratificando per patologie). La correlazione tra delta della resistenza inspiratoria ed espiratoria è positiva e significativa.

Nove pazienti su dieci non hanno denunciato alcun tipo di evento avverso o associato. Il 4% ha segnalato una riacutizzazione dei sintomi ("crisi termale") e il 7% eventi associati di qualsiasi natura (es. mal di testa, stanchezza).

Il confronto T0/T2 per total symptom score, episodi ORL e assunzione di farmaci nei 12 mesi precedenti depone a favore dell'efficacia anche a lungo termine della terapia inalatoria con acqua termale per le riniti, faringiti e sinusiti, pur tenendo conto di alcuni limiti.

I pazienti che si sottopongono a terapia inalatoria con acqua termale per rinofaringiti e sinusiti sono in maggioranza donne, prevalgono pensionati e casalinghe, in media dimostrano attenzione ai comportamenti salutari e una buona compliance. L'analisi di laboratorio mostra alcuni cambiamenti nell'espressione genica e proteica dopo il trattamento, particolarmente a carico di CXCR4, recettore noto per esercitare un'azione nella riparazione dei tessuti. Si suggerisce inoltre un ruolo di FLT1 nella risposta dei pazienti con sinusite, mentre il particolare profilo dei fumatori attuali merita ulteriori approfondimenti. Gli score complessivi della scala dei sintomi e dell'esame clinico obiettivo, più che dimezzati dopo la terapia inalatoria, depongono fortemente a favore di un effetto positivo della stessa, che sembra mantenersi a un anno (vedi anche episodi ORL e assunzione di farmaci nei 12 mesi precedenti). Le indicazioni che vengono dalle rinomanometrie sembrano più contraddittorie, anche se sono in linea con quanto risulta dalla letteratura, in particolare per quanto riguarda la sinusite. Trascurabili per quantità e qualità gli eventi avversi e associati.

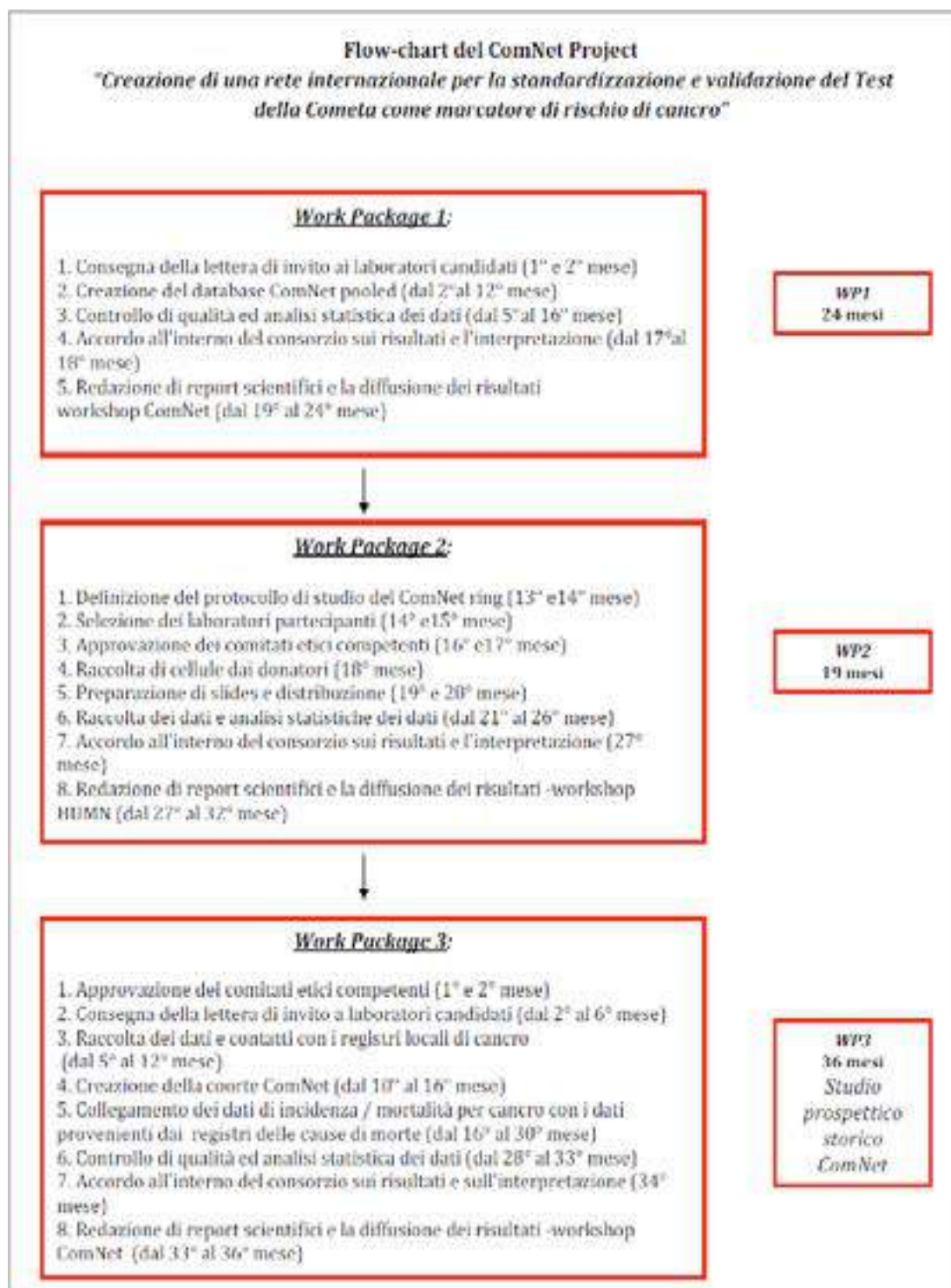
Sono in fase di completamento la analisi dei dati e le pubblicazioni sono previste nel corso del 2017.

AIRC -ASSOCIAZIONE ITALIANA PER LA RICERCA SUL CANCRO

AN INTERNATIONAL NETWORK FOR STANDARDISATION AND VALIDATION OF THE COMET ASSAY AS A CANCER RISK BIOMARKER

ComNet è un network di ricercatori, lanciato nel settembre del 2011, che utilizza la Comet Assay, o Test della Cometa, negli studi di biomonitoraggio umano. ComNet affronta i problemi che insorgono nella comparazione dei risultati del Test della Cometa tra diversi laboratori e ha come finalità la validazione di tale test come strumento di biomonitoraggio e come indicatore di rischio di cancro e di altre malattie cronico-degenerative associate all'invecchiamento o alla presenza di mutazioni. Le principali priorità del ComNet Project sono di accertare che il Test della Cometa 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". Il progetto ComNet, della durata complessiva di 36 mesi, si articola in 3 Work Packages (come da seguente Flowchart).



Il progetto si propone di:

- Creare di una coorte di soggetti in cui è stata valutata la presenza di alterazioni del DNA con il Comet Assay, per stabilire i livelli basali di danno al DNA e per valutare l'associazione con il livello di danno al DNA di alcune variabili critiche quali sesso, età, fumo, occupazione, fattori nutrizionali/stile di vita;
- Identificare caratteristiche tecniche che riguardano la misurazione del danno al DNA e proposta di protocolli standard;
- Valutare la presenza di associazione tra le misure del danno al DNA in soggetti sani e l'incidenza del cancro/mortalità: lo studio prospettico storico ComNet.

Si intende dimostrare l'esistenza di un legame tra il livello di danno e l'incidenza del cancro/mortalità può drasticamente cambiare l'interpretazione di tale test (come è avvenuto per le aberrazioni cromosomiche, micronuclei, addotti del DNA) soprattutto per la possibile influenza sulle strategie preventive, per l'implicazione legale e per le potenziali applicazioni cliniche.

Risultati positivi aprirebbero prospettive importanti che riguardano la possibilità di utilizzare il Test della Cometa in oncologia clinica (ad esempio per la diagnosi precoce) e nella prevenzione del cancro. La disponibilità di un metodo standardizzato e convalidato potrebbe avere conseguenze anche su altri campi in cui è utilizzato il Test della Cometa: gli studi in vitro/in vivo di genotossicità; la ricerca di base; il monitoraggio (come marker di esposizione/effetti precoci in ambito occupazionale). Il primo step è stata la validazione della metodica. Linfociti umani prelevati da soggetti volontari sani sono stati esposti a concentrazioni scalari di H₂O₂ per 10 minuti. La frammentazione del DNA è proporzionale alla concentrazione di H₂O₂. E' stata valutata anche la capacità di riparazione del DNA dopo rimozione dell'agente ossidante.

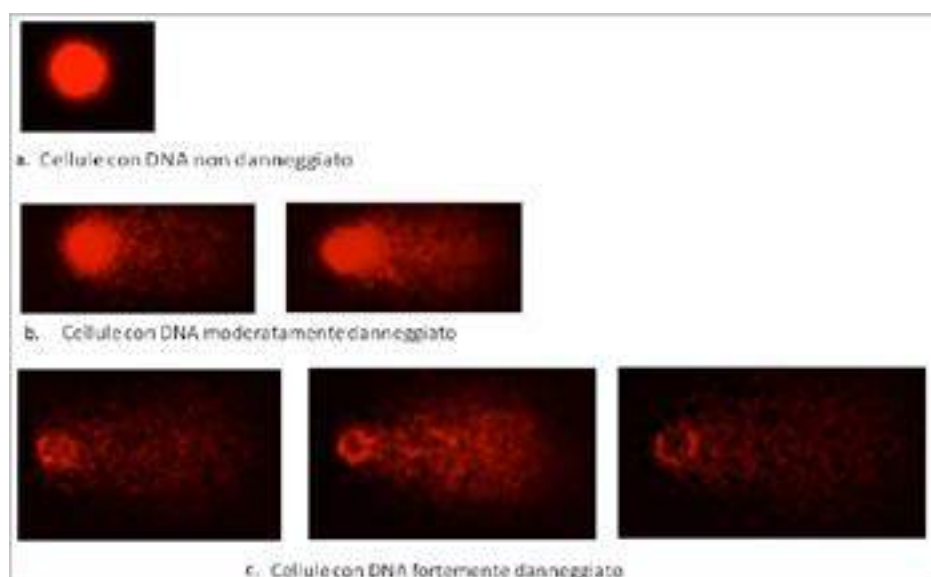
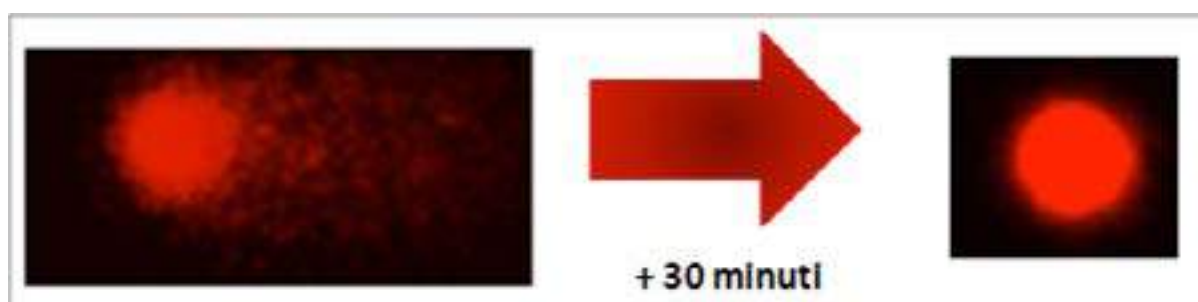


Figura 2 - Linfociti umani da soggetti "sani" esposti alla concentrazione 100 mM di H₂O₂ per 10 minuti, lavati e risospesi in mezzo completo per 30 minuti



7° PROGRAMMA QUADRO

FRAILOMIC INITIATIVE: UTILITY OF OMIC-BASED BIOMARKERS IN CHARACTERIZING OLDER INDIVIDUALS AT RISK FOR FRAILTY, ITS PROGRESSION TO DISABILITY AND GENERAL CONSEQUENCES TO HEALTH AND WELL-BEING - THE FRAILOMIC INITIATIVE

Il WP4 prevede l'identificazione di biomarcatori predittivi di fragilità in anziani con diabete, obesità e malattie cardiovascolari. Il progetto, a livello europeo coordinato da Servicio Madrileño de Salud, Spagna, vede il coinvolgimento di 27 partner provenienti da 8 Paesi europei.

L' invecchiamento della popolazione si associa ad un aumentato numero di soggetti anziani con polipatologia. Tali soggetti, fragili, sono esposti ad un rischio maggiore di sviluppare disabilità, con conseguenze disastrose sulla persona ed i familiari nonché sulla spesa sanitaria.

Il Progetto FRAILOMIC ha messo insieme piccole e medie imprese europee, centri Universitari ed Istituti di Ricerca con l'obiettivo di identificare dei biomarcatori di fragilità, che ne consentano la accurata diagnosi e predicano la sua evoluzione verso la disabilità.

Lo scopo principale è generare un modello statistico che includa biomarcatori clinici e di laboratorio accurato da trasferire alla pratica clinica mediante creazione di un kit "pronto per l' uso". Tale kit aiuterà il medico ad identificare i soggetti a più elevato rischio di sviluppare fragilità e di progressione verso la disabilità.

Al fine di consentire un rapido ed efficace trasferimento della eventuale scoperta alla pratica clinica, i biomarcatori vengono ricercati in campioni di sangue e/o urine in un gruppo di anziani tra i 75.000 partecipanti in studi di popolazione. La combinazione con i parametri clinici e gli eventuali indicatori sociali presenti nelle stesse coorti consentirà la messa a punto di adeguati modelli predittivi, diagnostici e prognostici di fragilità.

Lo studio è articolato in una Fase Esplorativa ed in una Fase di Validazione.

La Fase Esplorativa verrà condotta mediante analisi di campioni ematici ed urinari raccolti in anziani partecipanti in studi di coorte. La combinazione con i parametri clinici e gli eventuali indicatori sociali presenti nelle stesse coorti consentirà la messa a punto di adeguati modelli statistici capaci di identificare nuovi biomarcatori in grado di predire il rischio di fragilità (risk biomarkers), diagnosticare la fragilità (diagnostic biomarkers) e monitorare la progressione della fragilità verso la disabilità (prognostic biomarkers).

La capacità predittiva, l'accuratezza diagnostica ed il valore prognostico di ciascun biomarcatore identificato nella Fase Esplorativa verranno confermati durante la Fase di Validazione. Tale validazione verrà effettuata in coorti di soggetti anziani differenti da quelle della Fase Esplorativa ed in maniera prospettica.

Nel 2016 sono stati discussi i risultati della Fase di Esplorazione e come implementare i modelli predittivi nella Fase di Validazione alla luce dei problemi riscontrati nella identificazione dei biomarcatori di laboratorio e della creazione di un "common database". Nella seconda parte dell'anno 2016, si è iniziata l'analisi dei campioni biologici provenienti dalle coorti partecipanti alla Fase di Validazione ed alla creazione del relativo "common database".

Nel corso del 2017 si attende il completamento della validazione dei biomarcatori individuati nella fase esplorativa del Progetto e la pubblicazione dei risultati su riviste internazionali.

RICERCA TRASLAZIONALE

LABORATORIO DI BRAIN CONNECTIVITY

PROGETTI UNIONE EUROPEA- ERANET

RESTORATION OF VISION AFTER STROKE – REVIS

Mentre molte funzioni cerebrali, come il neglect e l'inattenzione, sono in grado di recuperare spontaneamente piuttosto bene nelle fasi acute che seguono gli ictus, altre funzioni - quali quella visiva - sono più resistenti e determinano una compromissione cronica. Poiché questi disturbi peggiorano significativamente la qualità della vita dei pazienti, occorre comprendere meglio come il cervello si adatti alla perdita funzionale cronica e trovare dei mezzi in grado di sostenere il recupero della funzione visiva. Molti studi hanno evidenziato che la plasticità neuronale post-lesionale è coinvolta nella ripresa funzionale e recentemente sono stati sviluppati metodi innovativi in grado di favorire i meccanismi di plasticità in domini quali quello cognitivo, motorio e del linguaggio. A causa del dogma generalmente accettato che il sistema visivo sia altamente specifico e rigido nella sua organizzazione neuronale si è pensato a lungo che nulla potesse essere fatto in risposta alla comparsa di deficit visivi. Tuttavia secondo la "teoria dell'attivazione della visione residua", la funzione visiva può essere parzialmente ripristinata grazie alla presenza di alcune "zolle" neuronali generalmente risparmiate in seguito ad una lesione delle aree cerebrali visive. Ricerche recenti hanno inoltre evidenziato che le strutture visive residue possono essere riattivate dalla stimolazione ripetitiva esercitata attraverso: I) esperienze visive, II) training visivo, III) stimolazione con corrente elettrica continua, tDCS.

Obiettivo del progetto è quello di migliorare la plasticità del sistema visivo mediante stimolazione cerebrale non invasiva (utilizzando la stimolazione elettrica cerebrale a corrente continua, tDCS) della corteccia visiva in un gruppo di pazienti con emianopsia da ictus occipitale.

Sono inclusi nello studio pazienti con emianopsia da ictus occipitale, di natura ischemica ed emorragica. Dopo aver completato una valutazione clinica e neurofisiologica al baseline, i pazienti sono suddivisi in due gruppi, uno di trattamento Real, mediante tDCS, e l'altro SHAM. La suddivisione nei due gruppi è effettuata in maniera randomizzata ed in doppio cieco. La stimolazione è effettuata in regione occipitale mediante l'utilizzo di due canali, uno anodico in grado di eccitare la corteccia visiva lesa, e l'atro catodico in grado di inibire la corteccia visiva controlaterale sana.

La durata del trattamento è di dieci giorni lavorativi consecutivi per ciascun paziente. La durata della singola applicazione di tDCS è di 20 minuti al giorno.

Ai pazienti appartenenti al gruppo SHAM è concessa la possibilità di eseguire un trattamento con tDCS al termine del periodo di follow-up.

Prima e dopo la stimolazione ciascuno dei pazienti dei due gruppi è sottoposto ad esami neurofisiologici per valutare le eventuali modificazioni della plasticità cerebrale indotti dalla tDCS.

La sperimentazione si è conclusa nel mese di maggio.

Più di 50 pazienti con deficit del campo visivo indotto da un ictus occipitale sono stati contattati e screenati. Molti di questi sono stati esclusi perché non rientravano nei criteri di inclusione/esclusione o perché non disponibili per motivi personali a partecipare.

Sono stati reclutati complessivamente 15 pazienti, 8 dei quali sono stati inclusi nel gruppo real ed i restanti 7 in quello SHAM.

L'analisi degli spettri di potenza delle diverse bande di frequenza dell'attività elettroencefalografica, eseguita mediante sLORETA, ha evidenziato un aumento statisticamente significativo del alpha 1 power density a livello delle regioni parietali ed occipitali nei pazienti trattati con tDCS rispetto a quelli inseriti nel gruppo real.

L'analisi di connettività mediante graph theory ha evidenziato un trend di significatività per quanto riguarda l'indice di Small World nei pazienti trattati con tDCS rispetto a quelli del gruppo SHAM.

COST ACTION

ADMIRE COST ACTION è un network di ricercatori principalmente europei il cui obiettivo è promuovere studi scientifici riguardanti il ruolo del Recettore Mineralcortioide (MR) nella funzionalità renale, cardiaca, nella fibrosi, nell'infiammazione e nel metabolismo. Gli studi più recenti hanno evidenziato il coinvolgimento di MR in varie patologie e il trattamento con antagonisti di MR risulta essere una strategia efficace già approvata nello scompenso cardiaco. L'ADMIRE COST ACTION nasce per supportare nuovi studi che consentono di approfondire i meccanismi con cui MR regola i processi cellulari e di sviluppare nuovi antagonisti di MR e terapie innovative basate su tali composti per il trattamento di scompenso cardiaco ed altre rilevanti patologie. L'ADMIRE COST ACTION è stato fondato nel 2013 coll'intenzione di estendere un piccolo network di ricercatori dell'MR nato in Francia negli anni '90 e chiamato European Section of Aldosterone Council (ESAC) e creare una rete più grande e articolata attualmente costituita da gruppi di ricerca della Francia, Germania, Regno Unito, Irlanda, Svizzera, Italia, Paesi Bassi, Polonia, Spagna, Austria, Danimarca, Grecia, Polonia, Portogallo, Romania, Turchia, con laboratori di Cile e Messico che hanno aderito, per un totale di 33 gruppi di Ricerca e 400 ricercatori. I principali obiettivi del consorzio sono: 1) elevare il livello europeo della ricerca sull'argomento aumentandone l'impatto scientifico al livello mondiale; 2) identificare patologie che possano essere trattate con antagonisti di MR; 3) identificare nuovi "pathways" dell'MR e quindi individuare nuovi "target" terapeutici; 4) identificare nuovi biomarcatori dell'attivazione di Aldosterone/MR in modo da selezionare con più facilità pazienti che possano beneficiare del trattamento con antagonisti di MR; 5) coinvolgere e stimolare l'interesse di medie e grandi compagnie farmaceutiche a partecipare e finanziare tali ricerche per sviluppare nuovi "tools" diagnostici e nuovi bloccanti di MR. Per promuovere la collaborazione tra i gruppi di ricerca che hanno aderito al network, il consorzio ha finanziato e finanzia borse di studio per permettere ai ricercatori di svolgere ricerche e collaborazioni in altri laboratori del network, consentendo quindi lo scambio di conoscenze, di competenze e metodologie. In parallelo il consorzio consente la più ampia diffusione al network di dati e studi in corso e in pubblicazione da tutti i gruppi di ricerca partecipanti organizzando simposi, "meetings" e "workshops", e proponendo periodi di "training schools" per studenti di dottorato e post-dottorandi del network per migliorare ulteriormente la preparazione scientifica dei giovani scienziati e alzare la qualità della ricerca svolta dall'ADMIRE.

Per dare la massima divulgazione agli scienziati del network ma anche a quelli esterni ad esso sulle attività menzionate, passate ed attuali, e' stato inoltre realizzato il sito-internet <http://www.admirecost.eu/>.

Più in dettaglio all'organizzazione interna, il COST ACTION ha costituito al suo interno 5 gruppi di lavoro (WG) per promuovere la collaborazione tra laboratori di ricerca su MR che lavorano nei seguenti ambiti:

WG1: ALDO synthesis: physiology, physiopathology and diseases

WG2: MR structure and function

WG3: Pathophysiological roles of ALDO/MR in cardiovascular diseases

WG4: Pathophysiological roles of ALDO/MR in the kidney

WG5: Pathophysiological roles of ALDO/MR in the novel target tissues

WG6: Translational and clinical studies.

In particolare, il responsabile del Laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare è coordinatore del WG5 a cui afferiscono i gruppi di ricerca guidati da Italia, Francia, Paesi Bassi, Francia, Pernille B. Danimarca, Svizzera. Esistono inoltre stretti rapporti di collaborazione scientifica tra il laboratorio e i laboratori del Centre de Recherches Cordeliers, Parigi; presidente del COST-ADMIRE e quello dell'Università Jagiellonian University Medical College, Cracovia, Polonia.

PROGETTI SPONSORIZZATI DA PRIVATI

COMPARISON OF THE EFFECTS OF THE NOVEL NON-STEROIDAL MRA BR-4268 WITH CLASSICAL MRAS SPIRONOLACTONE AND EPLERENONE IN CELLULAR MODELS RELATED TO THE METABOLIC SYNDROME

PROGETTO SPONSORIZZATO DA BAYER HEALTHCARE

Recenti ricerche hanno dimostrato che il Recettore Mineralcorticoide (MR) non rappresenta solo un regolatore del metabolismo idro-salino e della pressione sanguigna al livello del rene, ma è espresso anche da altri tessuti come cervello, cuore, vasi, tessuto adiposo dove influenza processi come infiammazione, stress ossidativo, differenziamento cellulare. In particolare, nell'endotelio vascolare MR induce l'espressione di molecole di adesione cellulare come ICAM-1 che promuove il reclutamento di leucociti circolanti all'endotelio e favorisce lo sviluppo dell'aterosclerosi. Nel tessuto adiposo MR regola il processo di adipogenesi e in modelli murini di obesità l'impiego di antagonisti di MR conferisce protezione dall'aumento di peso e della massa grassa. Nell'uomo, trials clinici hanno dimostrato chiaramente che il trattamento con antagonisti di MR aumenta la sopravvivenza di pazienti con patologia cardiaca. Complessivamente questi dati suggeriscono che gli antagonisti di MR possono costituire un valido approccio terapeutico nella Sindrome Metabolica, una condizione caratterizzata da un insieme di alterazioni metaboliche a carico di tessuti in cui il blocco di MR può contrastare l'alterata funzionalità.

Scopo del progetto è stato quello di investigare gli effetti del blocco di MR con BR-4268, un antagonista di MR non-steroidale di recente sintesi, e confrontarne l'azione con spironolattone (Spiro) ed eplerenone (Eple), classici antagonisti steroidei di MR, in colture di adipociti murini (3T3-L1, adipociti primari), come pure in colture di cellule endoteliali umane. In particolare è stato valutato il grado di differenziamento di colture di precursori di adipociti murini, bianchi e bruni, trattati con i tre antagonisti di MR. E' stata inoltre valutata, in cellule endoteliali trattate con gli antagonisti di MR, l'espressione di molecole coinvolte nell'infiammazione vascolare (ICAM-1, IL-6)

Il differenziamento delle colture di adipociti 3T3-L1, preadipociti primari murini, è stato analizzato mediante colorazione Oil Red O e tramite real-time RT-PCR sono stati analizzati, in adipociti e cellule endoteliali, leptina, adiponectina, IL-6, TNF α , ICAM-1.

E' stato messo a punto un adeguato protocollo sperimentale per indurre il differenziamento dei preadipociti in presenza di bassa concentrazione di siero (4% siero fetale bovino), concentrazione che consente una ottimale attività di BR-4268. Un ridotto accumulo di lipidi intracellulari è stato osservato trattando i preadipociti murini 3T3-L1 in differenziamento con i 3 antagonisti di MR. Preadipociti 3T3-L1 indotti a differenziare e trattati con concentrazioni decrescenti di BR-4268 (da 10^{-5} a 10^{-9} M) hanno mostrato una ridotta espressione del trascritto della leptina (marcatore di differenziamento adipocitario "white") a tutte le concentrazioni utilizzate, riduzione paragonabile a quella osservata con Spiro ed Eple (entrambi 10^{-5} M). L'utilizzo di BR-4268 riduce l'espressione di UCP-1 (marcatore del differenziamento adipocitario "brown") in preadipociti murini bruni. Inoltre si è osservato che BR-4268 riduce l'espressione dell'mRNA di IL-6 e ICAM-1 in cellule endoteliali, con efficienza paragonabile a quella dell'antagonista Spiro.

Il conseguimento di tali risultati ha consentito al Laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare di ottenere dalla Bayer HealthCare un ulteriore finanziamento per proseguire l'analisi di composti MRA in modelli preclinici di obesità.

LABORATORIO DI PATOLOGIA MOLECOLARE, CELLULARE E ULTRAISTRUTTURALE

AGENZIA ITALIANA DEL FARMACO (AIFA) – BANDO 2012

STUDIO RANDOMIZZATO SULL'EFFICACIA DELLA TERAPIA IMMUNOSOPPRESSIVA NEI PAZIENTI CON CARDIOMIOPATIA INFIAMMATORIA VIRUS-NEGATIVA

La miocardite rappresenta la principale causa di arresto cardiaco. Recentemente studi del laboratorio hanno documentato un alto tasso di risposta alla terapia immunosoppressiva in pazienti con cardiomiopatia infiammatoria in assenza di infezioni virali.

Lo scopo del presente studio è quello di valutare i benefici di una terapia immunosoppressiva combinata con la terapia convenzionale anti-arresto cardiaco rispetto alla sola terapia convenzionale per il trattamento di pazienti con cardiomiopatia infiammatoria virus negativa. In particolare vengono valutati: il miglioramento della funzione ventricolare sinistra, il miglioramento dei sintomi di arresto cardiaco e le modificazioni istopatologiche, immunologiche e i parametri molecolari.

Sono stati arruolati pazienti (età 18-74 anni) con arresto cardiaco cronico resistenti alla terapia convenzionale con miocardite virus negativa.

Una biopsia endomiocardica è analizzata tramite PCR per escludere la presenza di virus cardiotropici. I pazienti selezionati ricevono una terapia placebo o immunosoppressiva a base di una combinazione di prednisone e azatioprina in aggiunta alla normale terapia anti-arresto cardiaco. Tutti i pazienti vengono sottoposti a controllo clinico e ad una biopsia di controllo a sei mesi.

Il progetto di ricerca continuerà nel 2017.

I risultati attesi permetteranno di confermare l'importanza della terapia immunosoppressiva in aggiunta alla terapia convenzionale per l'arresto cardiaco in pazienti con cardiomiopatia infiammatoria virus negativa.

AGENZIA SPAZIALE ITALIANA (ASI)

STUDIO TRASLAZIONALE SUGLI EFFETTI DELL'IPOSSIA CRONICA INTERMITTENTE SUL TONO E SULLO STATO D'ANSIA HYPOX – AIR CAPOFILA IRCCS NEUROMED

L'ipossia intermittente seguita da ri-ossigenazione è associata a diverse patologie come i disturbi respiratori del sonno. E' interessante notare che un'ipossia intermittente si osserva in seguita a viaggi aerei ad un'altitudine di circa 2000 metri.

L'ipossia intermittente incrementa la neurogenesi e ha effetti anti-depressivi. Per questo motivo è interessante studiare le implicazioni mediche degli effetti antidepressivi dell'ipossia intermittente cronica in quegli individui esposti a viaggi ad elevata altitudine o a disturbi respiratori del sonno.

Il progetto si propone di esaminare se e come l'ipossia intermittente cronica influenzi il comportamento e l'ansia. Si utilizzano modelli animali (ratti e topi), piloti di aerei e ragazzi e adulti con apnea da sonno. Presso l'istituto capofila si utilizzano i seguenti modelli animali: ratti Flinders Sensitive Line (FSL) come modello di depressione endogena; ratti adulti che sono stati esposti a stress neonatale (modello epigenetico di depressione); ratti sottoposti a stress occasionale come modello di depressione reattiva. Tutti gli animali sono sottoposti ad ipossia intermittente o a moderata-severa ipossia da sonno. L'ipossia intermittente cronica viene indotta per 21 giorni usando un OxyCycler (BioSpherix,

. modello A44X0), connesso alle gabbie degli animali tramite tubi flessibili. L'ipossia viene mimata abbassando i livelli di ossigeno a 100 mm Hg per 70 minuti.

Presso l'IRCCS San Raffaele Pisana il reclutamento viene condotto su base volontaria tra i pazienti del Dipartimento di neuroriabilitazione dell'IRCCS San Raffaele Pisana.

I partecipanti completano una valutazione psico-fisica con esame fisico e questionari da riempire. Le misurazioni includono le versioni del medico e del paziente del Hamilton Depression Rating Scale and CGI-I Scale.

L'Insomnia Severity Index [ISI], il Pittsburgh Sleep Quality Index [PSQI], il PSQI Addendum for PTSD [PSQI-A], e il PghSD sono usati come misurazioni primarie di base.

I partecipanti completano un diario del sonno che fornisce una stima della latenza del sonno, il tempo totale del sonno, ecc. Durante la notte vengono registrati la posizione del corpo, i movimenti di occhi e gambe, pulsoxiometria, ecc.

Meccanorecettori per la gravità e loro signaling. Effetti fisiopatologici correlati all'assenza di gravità e ruolo delle sirtuine

Questo progetto ha come scopo primario di dimostrare e caratterizzare due famiglie di proteine, candidate sensori/recettori per la gravità e di descrivere i segnali generati in alcuni tessuti post-mitotici dove maggiormente si sono evidenziati gli effetti a lungo termine della assenza di gravità.

Questo progetto si avvale di esperimenti su cellule e piccoli animali sottoposti all'assenza di gravità on ground mediante una Random Positioning Machine (RPM)

Vengono utilizzate linee cellulari di muscolo scheletrico, di miocardiociti, di neuroni e di osteoblasti, wild type o transgenici (KO o overesprimenti geni di interesse, oppure variamente doppi transgenici); inoltre, sono disponibili (UO4 di Marie-Louise Bang) una serie di topi transgenici per i geni di interesse (vedi WP4), alcuni dei quali (es. KO per mlp o per miopalladine) possono mimare l'assenza di gravità, altri saranno sottoposti on ground alla microgravità in una RPM opportunamente modificata per trattare un singolo topo per un periodo ininterrotto di 3 giorni.

Ciascun WP deve tener conto degli obiettivi prefissati nell'ambito della specificità tissutale e cellulare di pertinenza:

- Dimostrare e/o ulteriormente caratterizzare come sensore di stress meccanico mlp e palladine/miopalladine nei sistemi cellulari di pertinenza
- Identificare e/o caratterizzare il signaling del meccanosensore: al livello citosolico e nucleare, dopo stimolazione dose-dipendente (durata della permanenza nella RPM); ipotizzare e identificare fattori di trascrizione eventualmente coinvolti.
- Identificare set genici cellulo-specifici, associati a funzioni tipiche del sistema cellulare di pertinenza. Vanno privilegiati i geni che potrebbero essere coinvolti nelle manifestazioni patologiche prese in esame.

Le metodologie disponibili sono:

1) Proteomica e Biochimica: identificazione e caratterizzazione di proteine, misurazione attività enzimatica. Strumenti disponibili: apparato per elettroforesi capillare, elettroforesi bidimensionale, Western Blot, luminometro per saggi ELISA multiplex, HPLC, Fluorimetro, Spettrofotometro.

2) Colture cellulari: colture linee cellulari primarie e immortalizzate, co-colture, separazione, purificazione e caratterizzazione di frazioni subcellulari (nucleo, citosol, mitocondri, microsomi). Strumenti disponibili: cappe e incubatori a CO₂, Microscopi invertiti, Centrifughe refrigerate e non, citofluorimetro e sorter. E' importante notare che molte delle linee cellulari che vengono utilizzate nel progetto sono già disponibili. Tra queste sono già utilizzabili linee cellulari overesprimenti o silenziate per le CRPs, per Palladina o miopalladina e per varie sirtuine.

3) Biologia Molecolare. Biologia molecolare di base (trasfezione, silenziamento), trasfezione vettori GFP e RFP, estrazione di DNA/RNA/Proteine da cellule e tessuti. Espressione genica cellulo-specifica. Arrays a bassa densità. Microdissezione laser da tessuti per ottenere popolazioni cellulari omogenee. Strumenti disponibili: spettrofotometro, Agilent 2100, Real-Time PCR 7900HT, apparato per elettroforesi capillare, Piattaforma Affimetrix per profili di espressione genica, piattaforma

Genome Analyzer GA-II Illumina sequenziamento profondo parallelo e massivo e per analisi di SNPs, congelatori, cappe, centrifughe.

4)Microscopia e microdissezione: istopatologia, morfologia digitale, immunoistochimica, immunofluorescenza confocale, colocalizzazione, FRET, FLIM, citometria confocale e morfometria a fluorescenza, Microdissezione laser da tessuti e cellule. Strumenti disponibili: facility per preparazione istologica, microtomo, criomicrotomo, microscopi ottici, microscopi a fluorescenza, microscopio confocale standard e multifotonico, cimometro confocale, apparato per microdissezione laser, cappe e congelatori.

5)Microscopia elettronica: studio ultrastrutturale di cellule e tessuti, immunogoldlabelling, microscopia elettronica. Strumenti disponibili: facility preparativa per SEM e TEM, ultramicrotomo, crioultramicrotomo, microscopio elettronico a trasmissione, microscopio elettronico a scansione, facility di computer grafica per digital imaging.

6)Facility per piccoli animali (topi): mantenimento di piccole colonie (un totale di 1000 animali) di topi, studio del comportamento. Strumenti disponibili: strutture di nursery per piccoli animali.

7)Animali normali e transgenici/KO. Alcuni topi di specifico interesse per i differenti WP sono già disponibili. Inoltre il gruppo di Marie-Louise Bang metterà a disposizione i topi transgenici per le palladine e miopalladine. Tali topi, insieme ai wild type, saranno mantenuti e analizzati come di seguito riportato.

8)Microchirurgia e diagnostica in vivo: diagnostica per piccoli animali, microchirurgia per piccoli animali. Strumenti disponibili: fluorescenza in vivo, ecocardiogramma, elettroencefalogramma, facility di microchirurgia, microscopio per fluorescenza in vivo.

9)Statistica, informatica e bioinformatica: analisi statistica, bioinformatica per microarrays ad alta e bassa densità su card microfluide. Strumenti disponibili: computers e relativo specifico software.

10)Linee cellulari normali e transgeniche. Nei nostri laboratori sono presenti tutte le tecnologie e le competenze necessarie a costruire linee transgeniche (KO, overexpression e doppi transgenici) per i geni di interesse. Molte di queste linee sono già in dotazione per essere state precedentemente usate per altri progetti.

11)Animali normali e transgenici. Alcuni topi di specifico interesse per i differenti WPs sono già disponibili. Inoltre, il gruppo di Marie-Louise Bang mette a disposizione i topi transgenici costruiti per le palladine e miopalladine.

Con l'identificazione di recettori, sensori di attività meccanica e di gravità, con la caratterizzazione del loro signaling e dell'espressione genica adattativa ad esso correlata si ritiene di porre la base razionale che aiuti a spiegare tre aspetti importanti sia dal punto di vista conoscitivo che applicativo:

1) Capire la patogenesi di possibili danni a cellule e tessuti postmitotici durante la prolungata assenza di gravità nei lunghi viaggi spaziali (per es. verso Marte).

2) Ideare strategie per prevenire o comunque minimizzare tali effetti.

3) Sulla base di futuri studi dei polimorfismi (SNPs) di queste proteine si potrebbero identificare i soggetti più suscettibili al danno (SNPs con perdita di funzione del signaling, come nei topi KO), oppure i soggetti avvantaggiati (SNPs con guadagno di funzione del signaling, come nei topi overesprimenti) e pertanto, selezionare individui più resistenti alla prolungata deprivazione della gravità. Parametri molto utili ai fini della selezione di astronauti per lunghe missioni nello spazio.

Queste conoscenze potrebbero avere una notevole ricaduta anche su alcune patologie umane in cui è presente la degradazione (malattia o invecchiamento) delle cellule post-mitotiche studiate. A tal fine va notato che lo stesso signaling è stato variamente chiamato in causa per patologie come lo scompenso cardiaco (cardiomiopatia dilatativa), l'ipotrofia muscolare dell'anziano e del paziente cachettico, l'osteoporosi e alcune forme di ipotrofia cerebrale.

Questi aspetti aiutano anche a comprendere su base molecolare e cellulare i noti effetti benefici dell'attività fisica e, viceversa, la patologia associata a uno stile di vita sedentario e la possibilità di rallentare l'invecchiamento di questi tessuti post-mitotici.

Centro Hi-Tech di Morfologia Avanzata

Fondazione Roma – ente finanziatore

La correlazione struttura/funzione introdotta da Morgagni alla fine del XVIII secolo nello studio della Patologia d'organo è stata una pietra miliare nella comprensione delle Malattie Umane e nell'identificazione di strategie razionali per la loro diagnosi e cura. Altre importanti tappe sono rappresentate dalla Patologia Cellulare di Virchow con l'uso del microscopio ottico e dalla Patologia ultrastrutturale e sopramolecolare con l'uso del microscopio elettronico. Oggi sia la Clinica che la Ricerca non possono fare a meno di esplorare questa stretta correlazione fra struttura e funzione, ampiamente confermata anche a livello molecolare (Patologia molecolare).

Perciò è necessario che le competenze morfologiche avanzate di pari passo con quelle molecolari siano mantenute, stimolate e trasmesse per il reciproco beneficio tra Clinica e Ricerca. Purtroppo, in questi ultimi decenni, nel periodo post-microscopia elettronica, e con l'esplosione della Biologia Molecolare, si è assistito ad un affievolimento delle competenze di morfologia avanzata, nonostante i grandi progressi tecnologici nei classici mezzi di indagine e nella microanalisi ad essi associata.

La competenza morfologica tipicamente richiede un lungo training e un notevole accumulo di esperienza sia per la preparazione che per la valutazione del campione; da qui la necessità di un'alta specializzazione tecnica e culturale da parte dell'operatore.

La Morfologia moderna ha avuto sviluppi indipendenti nelle varie sottospecializzazioni, come la morfologia ottica digitale, l'immunomicroscopia, la microscopia a fluorescenza, la microscopia confocale, la microscopia elettronica, le tecniche di microanalisi ad esse associate, la microscopia a forza atomica e, infine, tutte le variazioni di morfometria quantitativa sviluppate per i vari tipi di immagini. Molto spesso queste non sono state sufficientemente correlate. Infatti, oggi è sempre più raro trovare tutte queste competenze localizzate in un solo Centro per essere facilmente utilizzate in maniera comparativa ed, inoltre, è difficile individuare esperti che possano fornire risposte complete di natura morfologica sia alla Ricerca che alla Clinica. Infine, sono rari i Centri che si dedicano sistematicamente alla formazione culturale e tecnica degli operatori in Morfologia, in maniera globale e correlata, tra le varie sottospecializzazioni, per formare quei nuovi ricercatori che si affianchino con pari dignità ai biologi molecolari.

Attraverso il Consorzio interuniversitario MEBIC presso l'IRCCS San Raffaele Pisana si intende creare un Centro Hi-Tech dedicato alla Morfologia.

Un moderno centro che risponda alle suddette esigenze deve possedere tutte le tecniche avanzate attualmente disponibili.

In particolare:

1) Microscopia ottica digitale (MOD): la qualità e l'utilizzazione delle immagini della microscopia ottica tradizionale è migliorata grazie alla MOD. Telecamere digitali ad alta risoluzione accoppiate direttamente, o con fibre ottiche, a microscopi con ottiche di grande qualità e disegno rappresentano il primo approccio alla morfologia. Nuove e specifiche colorazioni e metodiche immunoistochimiche aiutano per la prima identificazione e localizzazione di molecole a livello cellulare e, parzialmente, subcellulare. Le immagini digitali ottenute possono essere facilmente utilizzate per la morfometria in true-color, con l'uso di opportuni software. La stereomicroscopia permette l'osservazione (in genere a modesti ingrandimenti) di campioni tridimensionali, con informazioni sulla forma e sulla superficie o, in caso di campioni trasparenti, anche delle strutture interne del campione (es. un embrione in stadi non avanzati). Una telecamera digitale ad alta risoluzione permette di avere immagini digitali (eventualmente utilizzabili per la morfometria).

2) Microscopia a fluorescenza standard digitale (MFS): la classica fluorescenza è notevolmente migliorata sia per le tecniche di preparazione che per le nuove tecnologie di acquisizione dell'immagine. Oggi nuovi traccianti fluorescenti e specifici fluorocromi e la disponibilità di un grande numero di anticorpi monoclonali di qualità, rendono l'analisi più sicura e multiforme. Inoltre, la sensibilità delle telecamere digitali ad alta definizione per la fluorescenza (Peltier cooled cameras) permettono di

ottenere buone immagini anche con bassi livelli di segnale di disturbo. Anche in questo caso le immagini digitali possono essere utilizzate per la morfometria e ottenere dati quantitativi, sfruttando la specificità della fluorescenza. Un sistema di fluorescenza applicata a uno stereomicroscopio permette di avere immagini digitali di un preparato tridimensionale con strutture fluorescenti, come un embrione transfettato con GFP (green fluorescent protein) e/o RFP (red fluorescent protein), potendo avere rapidamente informazioni sulla distribuzione in tutto l'organismo di un gene associato all'espressione di GFP o a RFP.

3) Microscopia confocale multifotonica (MCM): l'introduzione della MCM ha segnato uno straordinario miglioramento della microscopia a fluorescenza, sia per la qualità delle immagini, sia per il tipo di informazioni ottenibili. Grazie a speciali diaframmi (pinhole) è possibile focalizzare uno specifico piano focale del campione, mediante la scansione con luce laser, acquisire immagini digitali di diversi piani di un campione spesso e ricostruirlo in 3D al computer con opportuno software. Nuove informazioni vengono ottenute valutando la colocalizzazione di diversi segnali e ottenendo precise indicazioni sulla localizzazione subcellulare (nucleo, citosol, mitocondri, reticolo, apparato di Golgi, lisosomi) di una o più molecole, oppure le possibili interazioni (contatti) tra molecole. Il MCM permette con le metodiche FRET e FLIM di definire le interazioni tra due molecole in termini di distanza e di numero. Con le immagini digitali confocali multifotoniche ottenute su un grande numero di cellule (con un piano portaoggetto motorizzato e controllato da un computer) si possono ottenere dati quantitativi (pixels di fluorescenza specifica) da paragonare a quelli ottenuti mediante tecniche analitiche di biologia molecolare o biochimica.

4) Microscopia elettronica a trasmissione (TEM): La TEM ottiene immagini standard di un preparato attraversato dal fascio elettronico e può documentarle mediante telecamere digitali ad alta risoluzione sensibili agli elettroni a diversa energia. Le immagini digitali possono essere facilmente utilizzate per una morfometria subcellulare (volume nucleare, volume mitocondriale medio e totale, superficie del reticolo, della cellula, ecc.). La moderna TEM, con l'uso di opportuni e specifici detectors posti lungo il percorso del fascio elettronico, sfrutta le diverse interazioni elettroni/elementi del campione per ottenere informazioni sulla presenza e distribuzione di elementi biologicamente rilevanti: la microanalisi mediante lo studio degli spettri di raggi X emessi dal campione dopo l'interazione con gli elettroni (EDAX) e degli spettri della perdita di energia degli elettroni del fascio dopo l'interazione con il campione (EELA); in quest'ultimo caso si possono ottenere mappe sulla distribuzione subcellulare di elementi di interesse. Questi sono esempi di come un sistema nato per fornire immagini morfologiche ad alta risoluzione può essere utilizzato come raffinato e insostituibile mezzo microanalitico con prestazioni attualmente insuperate.

5) Microscopia elettronica a scansione (SEM): Lo stesso fascio elettronico (in questo caso ottenuto per emissione di campo o field emission) può scannerizzare la superficie di un preparato biologico che, opportunamente trattato, può riflettere gli elettroni (back-scattered electrons) o generare elettroni secondari provenienti dal preparato. Con specifici detectors si possono avere spettacolari immagini della superficie (con apparenza 3D) del campione, ma soprattutto informazioni sulla composizione del campione, analizzando sia gli elettroni secondari (caratteristici dell'atomo del campione che li ha emessi) sia quelli back-scattered (con caratteristiche dovute all'atomo del campione che li ha riflessi).

6) Sistemi di microanalisi per TEM e SEM: come si è accennato prima, sono costituiti da specifici detectors che, posti in posizione critica lungo il percorso del fascio elettronico sia di TEM che di SEM, raccolgono selettivamente i vari tipi di elettroni o di radiazione (X-rays, fotoni, elettroni secondari e retro-riflessi, ecc.), inviando l'informazione a un sistema che con opportuno software fornisce uno spettro degli elementi del campione coinvolti nella modificazione energetica degli elettroni oppure permettono di avere mappe (immagini) di distribuzione dell'elemento in analisi. L'attuale tecnologia ha reso relativamente economici e di facile uso questi apparati di microanalisi.

7) Sistemi di morfometria per i vari tipi di immagini: la morfometria fornisce dati quantitativi sulle strutture biologiche sotto osservazione con una risoluzione e una qualità che dipende dal tipo di immagini utilizzate (dal microscopio ottico o elettronico). Lunghezze, perimetri, superficie, volume, fattore di forma, numero di strutture (per superficie o volume o cellula), pixels di densità o di colore ecc. sono i più comuni parametri geometrici e fisici che possono essere rilevati dai vari tipi di immagini

digitali acquisite con i diversi sistemi sopra esaminati. Le metodiche di acquisizione dei diversi parametri sono tipici dagli specifici software utilizzati. Questi ultimi forniscono anche la validità statistica dei dati generati, diretti (es. numero di pixels o valori di densità o colore) o indiretti, calcolati mediante i dati diretti elaborati da opportune equazioni (es. densità o colore che forniscono perimetro o superficie e fattore di forma che portano al calcolo del volume o della distribuzione di strutture/cellula). La correlazione di questi dati morfometrici con le analisi di natura biochimica e molecolare si è rivelata importante in ricerca e diagnostica per la validazione reciproca delle diverse tecniche. Infine, saranno disponibili software per la ricostruzione tridimensionale (deconvolution) da immagini 2D.

8) Tecniche di preparazione dei campioni per ciascun tipo di immagini: l'osservazione dei campioni biologici solo raramente può essere condotta a fresco a causa della loro rapida degradabilità, per cui esistono vari accorgimenti che permettono la stabilizzazione del campione, la sua conservazione, la sua manovrabilità e la sua leggibilità con una minimale introduzione di artefatti. Molte di queste tecniche sono ormai codificate e parte del patrimonio delle competenze morfologiche, altre sono di nuova concezione e richiedono attrezzature sofisticate, soprattutto per la conservazione della immunotracciabilità delle proteine e della localizzazione di componenti (inclusi gli elementi) a livello subcellulare.

- Fissazione. Serve a mantenere la struttura dei tessuti e delle cellule e, possibilmente, a conservarne la composizione. La fissazione chimica utilizza formaldeide, paraformaldeide, alcool, glutaraldeide, tetrossido di osmio, e altri agenti che non necessitano di complesse o costose apparecchiature. La fissazione mediante bassa temperatura (criofissazione) di solito avviene per immersione in azoto liquido e conserva in maniera accettabile la immunotracciabilità delle proteine, ma introduce artefatti consistenti nella morfologia (microcristalli di ghiaccio) soprattutto per la TEM. Per questo recentemente si è reso disponibile un apparato per una criofissazione a temperatura ultrabassa (es. elio liquido, propano), ad alta pressione e ad alta velocità. In questa maniera i primi 50 μm della superficie esterna del campione presentano una buona conservazione della immunotracciabilità delle proteine, è praticamente indenne da artefatti morfologici e con opportuni accorgimenti mantiene intatta la sua composizione ionica per la microanalisi.

- Inclusione. Sia per la microscopia ottica che per la TEM è necessario che i campioni siano attraversabili rispettivamente dalla luce e dal fascio elettronico e questo implica che si possano studiare solo sezioni sottili (5-10 micron) per la MO o ultrasottili (60-65 nm) per la TEM. Queste si ottengono includendo il campione originale in un mezzo che una volta solidificato (paraffina o resina epossidica o altro) può essere sezionato con un microtomo o un ultramicrotomo, quindi colorato o contrastato con metalli pesanti e osservato al MO o al TEM. Gli unici apparecchi di un costo relativamente alto sono il microtomo e l'ultramicrotomo. Per i campioni congelati esistono apparati più costosi per ottenere criosezioni come il criomicrotomo e il crioultramicrotomo.

- Tracciabilità delle proteine. La conservazione dei gruppi antigenici delle proteine permette l'interazione con anticorpi specifici (generalmente monoclonali) che possono essere evidenziati con varie metodiche. Per esempio, con anticorpi anti-anticorpi o anticorpi secondari legati a fluorocromi (immunofluorescenza) oppure streptavidina legata a particelle d'oro visibili al TEM (immunogoldlabelling). La nuova espressione di una proteina può essere evidenziata anche in vivo mediante bioluminescenza in animali transgenici dove questa espressione è associata a quella di proteine reporter fluorescenti (GFP o RFP).

- Traccianti fluorescenti. Oggi sono disponibili numerosi composti con interessanti proprietà che li rendono preziosi per lo studio (in vivo) di importanti parametri funzionali come i movimenti del Ca^{++} , del Mg^{++} e di altri ioni, del pH e della concentrazione di protoni in siti subcellulari specifici, come citosol, mitocondri e cisterne del reticolo endoplasmatico. Le principali proprietà comprendono: a) localizzazione o sequestrazione da parte di un compartimento cellulare; b) legame specifico a un componente cellulare (Calcio, magnesio, ecc.); c) in seguito a questo legame in alcuni casi il composto acquista la capacità di emettere una fluorescenza intrinseca, oppure, se già presente originariamente, di modificarla e virare verso una diversa lunghezza d'onda. Con questi traccianti per esempio è possibile seguire i movimenti del Ca^{++} e altri ioni attraverso differenti compartimenti cellulari oppure di misurare il potenziale di membrana della matrice mitocondriale (concentrazione di

protoni) oppure il pH di altri compartimenti cellulari. Queste tecniche non richiedono speciali apparati, se non microscopi a fluorescenza, possibilmente confocale, con acquisizione rapida.

9) Banca di immagini per la formazione: Tutte le immagini digitali prodotte da queste tecniche possono essere opportunamente immagazzinate in un database con le tutte le informazioni di natura scientifica, clinica e tecniche disponibili. Attualmente abbiamo oltre 50.000 immagini di varia natura (macrofotografie, microfotografie al MO, in fluorescenza, confocale, TEM, SEM, schemi, ecc.) sulle varie discipline afferenti alle Scienze della Vita e queste potranno essere progressivamente sistematicamente incrementate con il funzionamento di questo Centro.

L'uso di queste immagini è molteplice e di grande utilità per la comunità scientifica che vi accederà:

- a) costituisce un grande atlante/manuale di consultazione per la Morfologia, la Diagnostica, per l'interpretazione di reperti sperimentali da parte di non esperti;
- b) costituirà, mediante opportuni software di consultazione, un testo/atlante per la formazione di esperti (tecnici, ricercatori, studenti) in Morfologia;
- c) le immagini potranno essere utilizzate da editori, industrie farmaceutiche, organizzazione di congressi, case editrici, ecc. e in genere per l'illustrazione scientifica di alto livello.

LABORATORIO DELLE PATOLOGIE CRONICO-DEGENERATIVE

MINISTERO DELLA SALUTE – DISPOSITIVI MEDICI

STUDIO DELLE CONTAMINAZIONI MICROBICHE E POLIMICROBICHE A CARICO DEI DISPOSITIVI MEDICI PER LA NUTRIZIONE ENTERALE/PARENTERALE UNIVERSITÀ SAPIENZA DI ROMA, IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

L'obiettivo generale del progetto consiste nel valutare l'eventuale contaminazione ed il conseguente rischio infettivo (paziente-gorgogliatore, gorgogliatore-paziente) del dispositivo medico gorgogliatore presso il reparto di Pneumologia Riabilitativa. I ceppi isolati vengono analizzati ulteriormente per valutare la resistenza alle terapie antibiotiche convenzionali ed ai disinfettanti comunemente utilizzati per sterilizzare tali dispositivi. Particolare attenzione è dedicata all'identificazione di forme vitali più frequentemente coinvolte nella formazione di biofilm. L'obiettivo finale consiste nel prevenire la trasmissione di microrganismi veicolati da attrezzature e dispositivi utilizzati per l'ossigenoterapia al fine di ridurre l'incidenza delle infezioni delle basse vie aeree attraverso la gestione corretta degli umidificatori per l'ossigenoterapia.

La fase preliminare del progetto è stata dedicata al delineare e definire le caratteristiche che devono presentare i pazienti che devono essere arruolati nello studio. Inoltre, essendo lo studio di tipo osservazionale si è provveduto a stilare la documentazione necessaria per richiedere l'approvazione da parte del comitato etico. La fase successiva comprende l'analisi dei dispositivi utilizzati dai pazienti arruolati nello studio.

Ogni apparato di ossigeno terapia è analizzato al fine di valutare la contaminazione microbiologica. Particolare attenzione è dedicata alla caratterizzazione molecolare dei microrganismi selezionati e l'eventuale resistenza nei confronti dei farmaci antimicrobici somministrati ai pazienti, così come dai disinfettanti comunemente utilizzati nella struttura di ricovero per la sterilizzazione del gorgogliatore di ossigeno.

SVILUPPO DI PROCEDURE ATTE AL MANTENIMENTO DELLA SICUREZZA MICROBIOLOGICA DI EROGATORI DI OSSIGENO UTILIZZATI IN RIABILITAZIONE RESPIRATORIA

Il progetto ha come obiettivo generale la caratterizzazione molecolare dei ceppi patogeni isolati sugli erogatori di ossigeno utilizzati presso il reparto di Pneumologia Riabilitativa.

Tale studio consente di:

- comprendere la variabilità genetica ed i rapporti filogenetici caratterizzanti le comunità microbiche presenti sui dispositivi medici;
- verificare, nell'ambito di ciascuna specie microbica, la diffusione di specifici cloni nella struttura ospedaliera.

Lo studio si propone inoltre di delineare delle procedure standardizzabili, al fine di uniformare metodiche e trattamenti di tali dispositivi medici che permettano di rendere il processo di sterilizzazione più sicuro a garanzia della qualità.

Al fine di perseguire gli obiettivi prefissati, le prime fasi del progetto sono dedicate a stabilire i criteri mediante i quali selezionare i reparti (oltre al reparto di pneumologia riabilitativa) dell'IRCCS San Raffaele Pisana ed eventualmente di altre strutture cliniche, che saranno coinvolte nello studio. Si procede anche, in questa fase, alla definizione delle caratteristiche dei pazienti da arruolare e le modalità di analisi degli erogatori (tempi di prelievo rispetto all'utilizzo, metodologie di analisi microbiologica).

EWALL

L'indipendenza nelle attività quotidiane della popolazione anziana è una delle principali sfide legate all'invecchiamento a causa dell'impatto che essa esercita su: (a) la vita delle persone in età avanzata, (b) i sistemi sanitari nazionali, (c) le compagnie assicurative, (d) i loro parenti e (e) i prestatori di assistenza. Gli anziani possono soffrire di una serie di malattie, tra cui deterioramento delle condizioni cardiopolmonari, indebolimento delle funzioni dei muscoli e alterazioni del controllo neuromuscolare dei movimenti, che si traducono in un maggiore rischio di caduta e in una maggiore vulnerabilità alle malattie cardiovascolari e polmonari. Rispetto invece alle funzioni cognitive, gli anziani possono soffrire di un declino delle capacità mnemoniche, di perdita dell'orientamento e della capacità di far fronte a situazioni complesse. La demenza lieve è un'altra malattia che colpisce questa popolazione e che richiede sia il ricovero sia il costante sostegno di prestatori di cura.

e-WALL è un sistema integrato facile da installare in un ambiente familiare e che include, nel background, tutte le tecnologie dell'informazione e della comunicazione (ICTs) necessarie a fornire una serie di servizi al cittadino anziano per coprire gli aspetti essenziali di un invecchiamento attivo e salutare, volti all'autonomia e al benessere psico-fisico dei soggetti attraverso il monitoraggio e la rilevazione di diversi parametri fisiologici, comportamentali e misure ambientali.

Il progetto ha richiesto una ricerca multi-disciplinare e una sperimentazione su larga scala con lo scopo di validare il prodotto e-WALL con un'evidenza clinica solida.

Il sistema implementato si propone di estendere lo stato dell'arte delle Piattaforme di Assistenza, che hanno lo scopo di aumentare in modo significativo la vita indipendente degli anziani. Il progetto si propone anche di realizzare studi socio-economici per fornire raccomandazioni per il settore sanitario che si tradurrà in benefici a medio e a lungo termine per la sostenibilità dei sistemi sanitari nazionali. Inoltre l'obiettivo del progetto comprende la valutazione tecnica, legale e dell'utente finale del sistema e-WALL per misurarne, con strumenti e metodologie avanzate, l'impatto sulla qualità di vita.

Uno studio sperimentale condiviso tra quattro Nazioni (Austria, Italia, Danimarca, Paese Bassi) è stato realizzato con lo scopo di dimostrare l'idoneità, l'accettazione e la fattibilità della piattaforma prodotta per l'uso nei pazienti anziani con problemi funzionali legati all'età. Lo scopo secondario dello studio è stato la valutazione preliminare dell'efficacia della piattaforma sull'autonomia nelle attività quotidiane, sullo stato fisico e cognitivo generale e sulla qualità della vita e l'analisi quantitativa sul valore aggiunto e sull'impatto potenziale delle soluzioni proposte.

La piattaforma e-WALL è un sistema domotico intelligente che fa uso di un ampio schermo con tecnologia touch per il controllo dell'interfaccia utente. e-WALL è stato sviluppato per rispondere alle esigenze di soggetti che vanno incontro al naturale declino cognitivo e fisico o a soggetti con specifiche patologie croniche che minano l'autonomia e la qualità di vita.

La piattaforma offre diversi servizi per il benessere generale (giochi cognitivi ed esercizi di ginnastica) e per un'esperienza aumentata del monitoraggio delle abitudini quotidiane e di variabili fisiologiche e comportamentali, come riportate di seguito: monitoraggio delle attività giornaliere; monitoraggio della qualità del sonno; monitoraggio della qualità degli ambienti domestici (temperatura e qualità dell'aria); monitoraggio dell'attività fisica giornaliera.

e-WALL consiste in:

- una rete di sensori domestici per la raccolta dei dati sull'ambiente e le abitudini dell'utente;
- un monitor principale di circa 40 pollici installato in casa dell'utente;
- un'unità di processamento centrale che controlla lo schermo principale e la gestione delle interfacce utente;
- una piattaforma cloud web-based per la raccolta dei dati, il processamento e il processo di intelligent decision-making.

Lo studio di fattibilità è consistito nell'installazione della piattaforma nelle abitazioni di soggetti volontari, uomini e donne, suddivisi in tre gruppi secondo specifici criteri di inclusione ed esclusione:

soggetti con declino cognitivo lieve (MCI); soggetti con diagnosi di broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), soggetti anziani con menomazioni legate all'invecchiamento (ARI). In particolare l'IRCCS San Raffaele Pisana ha finalizzato la sperimentazione su 15 soggetti MCI (di 77 soggetti contattati).

La valutazione è stata focalizzata sullo studio di parametri principali, tra cui esperienza dell'utente e utilizzo di e-WALL, con parametro di studio secondario, quale l'effetto potenziale clinico. A tal fine i soggetti sono stati sottoposti al questionario TAM, basato sul modello di Accettazione della Tecnologia (Davis, 1989), con il quale esprimere valutazioni in scala Likert, e ad una intervista con domande a risposta aperta. Il potenziale effetto clinico è stato definito con diversi strumenti di misura quali: il Short Form Health Survey (SF-36), le Attività Strumentali della Vita Quotidiana (iADL) ed altri specificamente definiti per i vari gruppi di destinatari diversi, come ad esempio il Mini-Mental State Examination per il gruppo target MCI.

Con l'unione di metodi qualitativi e quantitativi lo studio ha ottenuto un'ampia e completa gamma di conoscenza circa l'esperienza e l'accettazione degli utenti. Inoltre, l'uso di metodi misti ha contribuito a conoscere sia l'utilizzo effettivo del sistema da parte degli utenti e le sue diverse funzionalità, sia il potenziale effetto clinico di e-WALL. Sono state sviluppate procedure di formazione e linee guida etiche e di sicurezza per garantire un processo di installazione corretta, puntuale ed efficace.

Lo studio di valutazione è concluso con un totale di 48 soggetti, divisi in tre gruppi di utenti e in quattro differenti siti di valutazione, che in media hanno utilizzato e-WALL per 24 giorni.

L'analisi dell'accettazione della tecnologia dopo l'utilizzo della piattaforma ha mostrato un risultato complessivo positivo su tutti e tre i gruppi di utenti. Soprattutto il "controllo", l'"estetica", e la "facilità d'uso" del sistema hanno restituito alti punteggi. Tutte le interazioni con il sistema e-WALL sono state registrate per poter effettuare analisi successive. Anche se il servizio di registrazione conteneva una serie di questioni, i risultati ottenuti da questi dati sono stati molto validi. Dai dati registrati è stato visibile l'utilizzo del sistema su base quotidiana, con oltre 30 interazioni in media al giorno e con, in particolare, un maggior numero di interazioni nella prima settimana di impiego, risultato questo riconducibile all'effetto novità. Oltre all'uso complessivo di e-WALL, è stata effettuata un'attenta indagine sulla popolarità delle singole applicazioni implementate: tra i diversi gruppi di utenti si sono riscontrate differenze in tale aspetto, ad esempio gli utenti MCI hanno preferito i giochi cognitivi (disegnati specificatamente per loro), mentre il gruppo ARI ha mostrato un interesse più diversificato nelle applicazioni. In generale la presenza della piattaforma ha stimolato i soggetti a essere più attivi fisicamente e più attenti al proprio stato di salute.

L'analisi dei punteggi di SF-36 e iADL eseguite sui soggetti COPD, MCI e Ari (paired t-test) non ha mostrato differenze significative tra pre-test e post-test. Infatti, era improbabile riscontrare variazioni significative dello stato cognitivo o fisico in un breve periodo.

PROGETTO BANDO ESA: SATELLITE ENHANCED MULTI-CHANNEL EHEALTH ASSISTANCE FOR REMOTE TELE-REHABILITATION AND CAREGIVING - SMARTCARE

L'ictus è una delle cause che conducono a disabilità che perdurano nel tempo; chi supera la fase acuta della malattia può presentare menomazioni degli arti, oltre che problemi nell'uso della parola, che limitano le attività della vita quotidiana. La maggior parte dei pazienti affetti da questa patologia richiede riabilitazione a lungo termine per riguadagnare capacità funzionali necessarie per eseguire le attività della vita quotidiana e la deambulazione. Questo rappresenta un costo gravoso ed il notevole onere per il sistema sanitario ha sottolineato la necessità di approfondire le opportunità per migliorare la cura dei sopravvissuti all'ictus. Le migliori pratiche di riabilitazione, inoltre, comportano un'attività intensiva e ripetitiva orientata a obiettivi e compiti specifici; per i pazienti lontani dalle strutture di riabilitazione la qualità del servizio è dunque limitata da problemi logistici e ciò incide anche sulla qualità della vita.

La tele-riabilitazione è un'opzione promettente per migliorare i movimenti volontari degli arti e si basa su una terapia robot-assistita a casa, che fornisce trattamenti affidabili, con una costante misurazione a distanza delle prestazioni, senza la necessità di una supervisione umana in tempo reale.

Il progetto SmartCARE nasce per l'ideazione, l'implementazione e lo sviluppo di un sistema ICT integrato per riabilitazione, monitoraggio e comunicazione, che azzeri le distanze fisiche e comunicative tra il paziente cronico e la realtà sanitaria.

Il superamento, grazie alle tecnologie satellitari, del digital divide, ovvero l'esclusione per cause sociali, geografiche o economiche dalle realtà contemporanee di comunicazione, è tra gli obiettivi cardine del progetto. SmartCARE è un sistema di tele-riabilitazione atto ad azzerare le distanze fisiche e comunicative tra il territorio e la realtà sanitaria e vede la collaborazione di quattro partner europei: ITSLab, IRCCS San Raffaele Pisana, Alpha Consult, CNR ICAR, ed è co-finanziato dalla Agenzia Spaziale Europea nell'ambito del programma Artes 3-4 (Telecom Products Programme CALL FOR PROPOSALS Ref: AO/1-5891/08/NL/US, Contract No.4000113695/15/ NL/AD dal 5 febbraio 2015 al 7 marzo 2017).

Con l'obiettivo di valutare l'accettazione e la fattibilità della piattaforma da parte di soggetti con esiti di ictus cerebri è in corso lo studio SmartCARE-DEMO, uno studio pilota osservazionale longitudinale caso-controllo con dispositivo non medico. Lo scopo secondario dello studio è la valutazione preliminare dell'efficacia della piattaforma sulla aderenza alle attività di riabilitazione post dimissioni, lo stato fisico e cognitivo generale e la qualità della vita.

SmartCARE rappresenta un sistema domotico intelligente che fa uso di tecnologie touchless per il controllo dell'interfaccia utente e consiste in:

- un sensore ottico per la raccolta dei dati motori e per permettere l'uso delle interfaccia utente (Microsoft Kinect per Xbox One);
- un sensore accelerometrico commerciale che misura anche la frequenza cardiaca e attività (fitness activity tracker Microsoft Band 2);
- un'unità di processamento centrale che controlla lo schermo principale e la gestione delle interfacce utente (Intel NUC);
- una piattaforma cloud web-based per la raccolta dei dati, il processamento e un processo di Advanced Workflow Collaboration (Dedicata sui server di ITS Lab).

SmartCARE, nello specifico, prevede il monitoraggio degli esercizi riabilitativi, un sistema di promemoria e una piattaforma di comunicazione con il personale medico della struttura.

Per lo studio SmartCARE-DEMO verranno arruolati complessivamente 16 soggetti presso l'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma, suddivisi in modo casuale in due diversi gruppi: il gruppo SmartCARE e il gruppo di controllo StandardCARE. La popolazione in studio consiste in uomini e donne reclutati nello studio secondo specifici criteri di inclusione, tra i quali età superiore ai 18 anni, diagnosi di ictus unilaterale ischemico o emorragico accertata con Tomografia Computerizzata o Risonanza Magnetica Nucleare, distanza dall'evento acuto maggiore di 6 mesi. Tra i criteri di esclusione si

segnalano: deficit cognitivo o disfunzione comportamentale che non renda possibile la comprensione delle attività previste e la partecipazione alla sperimentazione, comorbidità che influenzino il funzionamento generale del soggetto, rifiuto al rilascio di consenso informato firmato.

La valutazione finale sarà focalizzata sullo studio di parametri, tra cui esperienza dell'utente e utilizzo di SmartCARE, sottoponendo i soggetti al questionario TAM, basato sul modello di Accettazione della Tecnologia (Davis, 1989), con il quale esprimere valutazioni in scala Likert, e ad una intervista con domande a risposta aperta. Altre misure in uscita saranno demografiche e relazionate allo stato di salute (valutazioni fisiche e sull'indipendenza nella gestione della vita quotidiana).

Nel corso del 2016 sono stati reclutati 6 soggetti per il gruppo SmartCARE. Un soggetto ha rinunciato a partecipare alla sperimentazione prima della firma del consenso informato per aggravamento delle condizioni di salute e si è verificato 1 drop-out a una settimana di distanza dall'installazione. Al 31 dicembre 2016 utilizzano la piattaforma 3 soggetti, i quali indipendentemente dalla loro confidenza con la tecnologia, dall'istruzione, o dall'età hanno trovato facile l'interazione touchless utilizzando gesti. Dopo aver sottoposto i partecipanti a test di valutazione fisica da parte del terapeuta, è stata effettuata la personalizzazione della terapia riabilitativa.

Lo studio pilota consiste in un'analisi preliminare di fattibilità e di accettazione della piattaforma e della soddisfazione degli utenti nei confronti delle sue funzionalità. Il risultato dello studio consentirà di determinare l'adeguatezza percepita e l'usabilità della piattaforma, e comprenderà anche un'analisi quantitativa sul valore aggiunto e l'impatto potenziale delle soluzioni proposte sulla capacità funzionale degli utenti. L'utilizzo della piattaforma sarà valutato misurando il numero di sessioni di riabilitazione, il numero di esercizi durante le sessioni, il tempo trascorso usando SmartCare. L'ampiezza di movimento raggiunto durante le sessioni sarà misura del guadagno funzionale.

È in corso la gestione di un'installazione del servizio satellitare a casa di un partecipante, con il fine di dimostrare la possibilità di utilizzo del sistema anche a domicilio di pazienti senza la possibilità di comunicazione su reti terrestri (mobili o adsl), azzerando le distanze fisiche con la realtà sanitaria e consentendo ai clinici il monitoraggio continuo della performance motoria anche in presenza di digital divide.

NUTRAMED

RICERCA, SVILUPPO E APPLICAZIONI TERAPEUTICHE DI PRODOTTI DI ORIGINE NATURALE NEL SETTORE NUTRACEUTICO, DEI DISPOSITIVI E DEI BIOMATERIALI DESTINATI ALLA BIOPROTESICA.

Il dolore cronico rimane ancora una sfida importante della medicina moderna; è una condizione che affligge milioni di persone in tutto il mondo, ne limita la produttività e ne diminuisce la qualità della vita. 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 (Doyle et al., 2011). Nasce quindi l'esigenza di trovare nuovi approcci terapeutici efficaci per la gestione del dolore.

I nutraceutici sono stati a lungo utilizzati nella medicina tradizionale e vi sono considerevoli prove che tali composti possano svolgere un ruolo importante nello stress ossidativo e nell'infiammazione legata allo stato di dolore persistente. Studi epidemiologici hanno mostrato che il cibo ha un impatto diretto sulla salute umana. In particolare, i metaboliti secondari delle piante (polifenoli e carotenoidi) svolgono effetti benefici nei confronti di numerose patologie cronico-degenerative come il diabete di tipo 2, le malattie cardiovascolari, la neuro-infiammazione e il cancro (Kaulmann and Bohn, 2014). Studi recenti, eseguiti principalmente sui modelli animali e sull'uomo, hanno messo in evidenza come l'utilizzo degli antiossidanti di origine naturale possa rappresentare un approccio terapeutico alternativo, efficace e conveniente per controllare lo sviluppo e la progressione di numerose patologie. Negli ultimi anni, l'uso dei polifenoli come nutraceutici è aumentato in maniera significativa.

L'obiettivo di questo progetto è quello di trovare nuovi approcci terapeutici e nuovi target biologici per la cura del dolore di diversa eziologia. Pertanto, l'impiego di polifenoli, come ad esempio l'estratto polifenolico del bergamotto e composti fenolici dell'olio d'oliva (idrossitirosole e oleuropeina), potrebbe rappresentare un presidio terapeutico di notevole interesse per il trattamento del dolore.

Gli animali sono stati sottoposti a somministrazione di morfina sottocutanea in presenza o assenza di diversi antiossidanti di origine naturale. Inoltre, per misurare il dolore infiammatorio acuto, agli animali è stata somministrata carragenina intraplantare in presenza o assenza di antiossidanti, quali idebenone formulati con ciclidestrine. Le soglie nocicettive sono state determinate misurando gli stadi di latenza degli animali su una piastra calda munita di un cilindro di plexiglass trasparente mantenuta a 52 °C (Hot Plate test); l'iperalgia termica è stata valutata misurando il tempo di latenza del ritiro della zampa a uno stimolo termico attraverso l'apparato di Hargreaves (Planta test). Sono stati effettuati saggi enzimatici funzionali per la valutazione della formazione dei prodotti della perossidazione lipidica, come la malondialdeide (MDA), ed a questi, sono state associate analisi biochimiche per la misurazione dell'attività di enzimi target e per l'identificazione di biomarkers periferici. Inoltre, è stato esaminato la correlazione temporale tra la produzione dei prodotti della perossidazione lipidica, quali la malondialdeide (MDA), la nitratura e disattivazione di proteine target, come MnSOD, GLT1, GS.

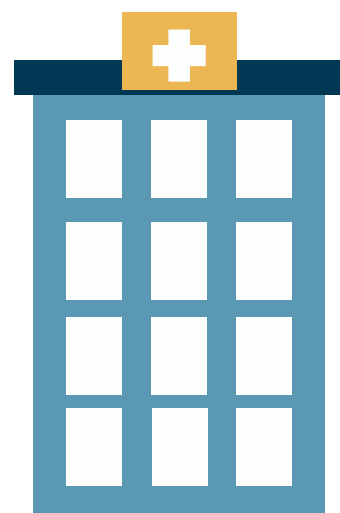
Attraverso analisi comportamentali i ricercatori del Laboratorio hanno osservato come lo sviluppo della tolleranza antinocicettiva, in seguito alla somministrazione cronica di morfina nei topi, ha portato ad una elevata produzione di superossido responsabile della nitratura dei residui tirosinici e inattivazione enzimatica di MnSOD, GLT1 e GS nel tratto lombare L4-L5 del midollo spinale. La somministrazione di idrossitirosole, oleuropeina e della frazione polifenolica del bergamotto (BPF) ha ridotto significativamente i livelli di nitratura dei residui tirosinici di tali proteine, ripristinandone, in maniera dose dipendente, l'attività enzimatica e, di conseguenza, la tolleranza indotta dalla somministrazione cronica di morfina.

In aggiunta, i dati hanno rilevato una significativa produzione di malondialdeide (MDA), nel modello di tolleranza antinocicettiva indotta dalla morfina, ridotta in maniera significativa dal trattamento degli antiossidanti.

L'utilizzo degli antiossidanti di origine naturale per il trattamento del dolore di diverse eziologie, potrebbe essere considerato un nuovo valido approccio, utile per il controllo dello sviluppo e della progressione di diverse malattie.

Inoltre, ulteriori studi sono stati condotti utilizzando l'idebenone che è un analogo sintetico del coenzima Q10 (CoQ10), antiossidante essenziale della catena di trasporto degli elettroni a livello mitocondriale; l'idebenone, infatti, è un farmaco attivo a livello del sistema nervoso centrale ed è già in commercio per l'ataxia di Friedreich e l'ischemia cerebrale ed è ampiamente utilizzato anche come prodotto anti-age per uso topico. Poiché l'idebenone è una molecola di difficile solubilizzazione, sono stati esaminati differenti approcci tecnologici per aumentare la solubilità del farmaco ed il suo eventuale impiego terapeutico. Tra questi, è stato preso in considerazione l'utilizzo di particolari eccipienti quali le ciclodestrine, oligosaccaridi ciclici costituiti da molecole di glucopiranosio, in grado di legare diversi composti attivi nella loro cavità idrofobica formando complessi d'inclusione. Per poter essere somministrato per via parenterale, infatti, è stato utilizzato idebenone incluso in ciclodestrine derivatizzate; in particolare, le idrossipropil- β -ciclodestrine (HP- β -CD), data la scarsa solubilità ed i problemi di nefrotossicità delle ciclodestrine naturali. I nostri dati hanno rilevato come la formulazione idebenone-HP- β -CD sia in grado di ridurre l'iperalgia termica e l'edema in maniera dose-dipendente rispetto all'idebenone non veicolato. Inoltre, i ricercatori hanno constatato come l'idebenone complessato sia in grado di ridurre la formazione della malondialdeide (MDA) a livello spinale. I risultati dimostrano, quindi, che l'inclusione dell'idebenone in HP- β -CD aumenta l'efficacia terapeutica di questo farmaco e che, in questa formulazione, è in grado di ridurre l'infiammazione, l'iperalgia e l'accumulo della formazione dei radicali liberi, cruciali mediatori del dolore.

COMITATO ETICO E CLINICAL TRIAL CENTER



Il Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana è un organismo indipendente, istituito con Delibera del Presidente dell'Istituto n. 35/13 del 14/11/2013, in attuazione del Decreto ministeriale 8 febbraio 2013.

Componenti Comitato Etico IRCCS San Raffaele Pisana

Prof. Ugo Luigi Aparo	Direttore Sanitario
Dott. Renato Berardinelli	Pediatra
Dott. Stefano Bonassi	Biostatistico
Dott. Francesco Brancati	Esperto di genetica
Dott. Nicola Barbato	Rappresentante professioni sanitarie infermieristiche, tecniche e della riabilitazione
Prof. Lucio Capurso Dott. Vittorio Cardaci Prof. Massimo Fini	Presidente e Clinico nell'ambito della Gastroenterologia Clinico nell'ambito della Pneumologia Riabilitativa Direttore Scientifico
Dott. Forte Giampiero	Farmacista SSR
Prof. Marco Franceschini	Responsabile Clinico nell'ambito della Riabilitazione Neuromotoria e sensoriale
Sig.ra Maria Rosaria Iardino	Rappresentante del volontariato per l'assistenza e associazionismo di tutela dei pazienti
Mons. Andrea Manto Dott.ssa Marcella Marletta	Esperto in Bioetica Esperto in dispositivi medici
Dott. Walter Marrocco	Medico di medicina generale
Dott.ssa Marzia Mensurati	Farmacista
Dott.ssa Carolina Muscoli	Farmacologo
Dott.ssa Rita Salotti	Farmacista
Dott. Carlo Tomino	Farmacologo
Dott. Giovanni Zotta	Vice-Presidente e Esperto in materia giuridica e assicurativa
Componenti a chiamata: Ing. Manuela Galli	Ingegnere clinico
Prof. Giuseppe Rotilio Prof. Natale Santucci	Esperto di Nutrizione Esperto procedure diagnostiche /terapeutiche e semi/invasive

Nel corso del 2016 il Comitato Etico ha valutato i seguenti studi:

AREA DI RICERCA	TIPO DI STUDIO	TITOLO	SPONSOR PROMOTORE	CODICE PROTOCOLLO
Parkinson e disturbi del movimento	Sponsorizzato con farmaco	Studio di fase 3, a lungo termine, in aperto, su istradefillina in soggetti con Malattia di Parkinson da moderata a grave	Kyowa Kirin Pharmaceutical Development, Inc	6002-018
Epidemiologia Clinica e Molecolare	Studio multicentrico interventistico educativo non farmacologico no profit	Studio di PRE venzione PriMaia delle Cadute domiciliari in Pazienti Anziani a rischio	FIMMG Federazione Italiana Medici di famiglia	PREMIO
Parkinson e disturbi del movimento	Sponsorizzato con farmaco	Studio di fase III controllato con principio attivo, multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, con doppio mascheramento che mette a confronto l'efficacia e la sicurezza della carbidopa/levodopa a rilascio controllato, gastroresistente Accordion Pill™ (CD/LD-AP) e la CD/LD a rilascio immediato in pazienti affetti da morbo di Parkinson fluttuante	Intec Pharma Ltd	IN11004
Parkinson e disturbi del movimento	Sponsorizzato con farmaco + DM marcato CE	Studio clinico randomizzato, multicentrico, a gruppi paralleli, con valutatore in cieco, volto a studiare l'efficacia, la sicurezza, la tollerabilità e la farmacocinetica di 2 regimi di dosaggio di ND0612H, una soluzione di levodopa/carbidopa somministrata tramite un sistema di infusione sottocutanea continua a pompa, in soggetti affetti da morbo di Parkinson in fase avanzata	NeuroDerm Ltd	ND0612H-006
Parkinson e disturbi del movimento	Sponsorizzato con farmaco	Studio in aperto, multicentrico, di follow-up concepito per valutare gli effetti a lungo termine di AP-CD/LD in soggetti con morbo di Parkinson fluttuante che hanno completato lo studio IN 11 004	Intec Pharma Ltd	IN11004LE
Parkinson e disturbi del movimento	Sponsorizzato con farmaco	Ruolo della citicolina nella terapia di supporto nella malattia di Parkinson	PIAM Farmaceutici SpA	CITIPARK

Parkinson e disturbi del movimento	Sponsorizzato con farmaco + DM marcato CE	<p>Studio multicentrico, internazionale, in aperto, volto a valutare la sicurezza di ND0612, una soluzione di levodopa/carbidopa somministrata tramite un sistema di infusione sottocutanea continua a pompa, in soggetti affetti da morbo di Parkinson in fase avanzata (Beyond) (A multicenter, international, open-label, safety study of ND012, BevoND). Titolo aggiornato con l'Em. Sost. N.1 - RP E/19/16. Quello precedente era *</p> <p>Studio multicentrico, internazionale, in aperto, volto a valutare la sicurezza di ND0612, una soluzione di levodopa/carbidopa somministrata tramite un sistema di infusione sottocutanea continua a pompa, in soggetti affetti da morbo di Parkinson in fase avanzata*</p>	NeuroDerm Ltd	ND0612H-012
Pneumologia riabilitativa	Osservazionale prospettico farmacologico sponsorizzato	Studio Osservazionale internazionale sul controllo della malattia ed esiti riportati dai pazienti durante trattamento con inalatore per polveri a combinazione di dose costante per asma persistente e BPCO (SPRINT)	Teva Pharmaceutical Europe	BFS-AS-40087
Parkinson e disturbi del movimento	Sponsorizzato con farmaco	Studio di fase II in crossover articolato in 3 periodi, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, con controllo positivo e con valutazione dell'intervallo QT, volto a valutare il prodotto APL-130277 in soggetti affetti da malattia di Parkinson complicata da fluttuazioni motorie (episodi "OFF")	Sunovion Pharmaceuticals Inc.	CTH-201
Cefalee e dolore neuropatico	Sponsorizzato con farmaco	Studio clinico di fase IIIB, multi-paese, multicentrico, di cross-vaccinazione, non randomizzato, in aperto, volto a valutare la sicurezza del vaccino contro l'Herpes zoster (HZ/su) di GSK Biologicals, quando somministrato per via intramuscolare secondo una schedula a 2 dosi in soggetti precedentemente trattati con placebo negli studi ZOSTER-006 e ZOSTER-022. A Phase IIIB, non-randomized, open-label, multi-country, multi-centric cross-vaccination study to evaluate the safety of GSK Biologicals' Herpes Zoster subunit (HZ/su) vaccine when administered intramuscularly on a two-dose schedule to subjects who previously received placebo in ZOSTER-006 and ZOSTER-022	GlaxoSmithKline Biologicals	204486 ZOSTER-056

studies.				
Parkinson e disturbi del movimento	Studio osservazionale caso-controllo non farmacologico	Studio caso-controllo sull'influenza del microbiota intestinale sulla perdita di peso nei pazienti con malattia di Parkinson - progetto pilota	IRCCS San Raffaele Pisana	MICROBIOT A-PD
Cefalee e dolore neuropatico	Studio osservazionale cross-sectionnal, multicentrico non farmacologico	HEADWORK: validazione di un questionario per la rilevazione delle difficoltà lavorative date dalla cefalea	Fondazione Istituto Neurologico "Carlo Besta" IRCCS - Milano	HEADWORK
Cefalee e dolore neuropatico	Sponsorizzato con farmaco	Efficacia e sicurezza di deferiprone in pazienti treatment-naive e non treatment-naive con malattia di Parkinson	Promotore: AOPHARMA Inc (Canada) Rappr. Legale UE: ApoPharma Inc (Regno Unito)	LA52-0215
Cefalee e dolore neuropatico	Sponsorizzato con farmaco	Studio clinico di fase IIIb, multi-paese, multicentrico, in aperto, di follow-up a lungo termine (ZOE-LTFU) degli studi 110390 e 113077 (ZOSTER-006/022), volto a valutare l'efficacia profilattica, la sicurezza e la persistenza dell'immunogenicità del vaccino contro l'herpes zoster (HZ/su) di GSK Biologicals e la valutazione di 1 o 2 dosi aggiuntive secondo uno schema a 0 o a 0, 2 mesi in due sottogruppi di adulti di età avanzata	GlaxoSmithKlin e Biologicals	201190 ZOSTER-049
Riabilitazione Neuromotoria e Robotica riabilitativa	Indagine clinica con dispositivo medico recante marcatura CE - No profit	Khymeia-based Neuro-rehabilitation after total knee replacement - La riabilitazione con Realtà Virtuale Khymeia in pazienti con sostituzione totale di ginocchio: valutazione clinica e strumentale	IRCCS San Raffaele Pisana	KNBE
Riabilitazione cardiovascolare, Telemedicina e E-health	Sponsorizzato con farmaco	Studio pivotal di outcome clinico di fase III multicentrico, randomizzato a gruppi paralleli, controllato con placebo, in doppio cieco, guidato dagli eventi, sull'efficacia e la sicurezza dello stimolatore della sGC orale vericiguat nei soggetti affetti da scompenso cardiaco con frazione di eiezione ridotta (HFrEF) - Studio VICTORIA (Vericiguat global study in subjects with heart failure and Reduced ejection fraction)	Merck Sharp Dohme Corp	MK-1242-001

Bioingegneria della riabilitazione	Studio osservazionale longitudinale caso-controllo con dispositivo non medico	SmartCare	IRCCS San Raffaele Pisana	SmartCARE_D EMO
Pearl Therapeutics Inc.	PT009003	Studio Multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, a gruppi paralleli per valutare l'efficacia e la sicurezza di PT009 rispetto a PT005 sulle riacutizzazioni di BPCO per un periodo di 52 settimane, in soggetti affetti da BPCO da moderata a molto grave (Sophos)	Sponsorizzato con farmaco	Pneumologia riabilitativa
Università Sapienza Roma Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive	COMEROS	Studio delle Contaminazioni Microbiche e polimicrobiche a carico degli ERogatori di Ossigeno utilizzati in riabilitazione respiratoria	Osservazionale con dispositivo medico marcato CE	Pneumologia riabilitativa
AMGEN Inc.	20110203	Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo volto a valutare l'efficacia e la sicurezza di omecamtiv mecarbil in termini di morbilità e mortalità nei soggetti affetti da insufficienza cardiaca cronica con frazione di eiezione ridotta	Sponsorizzato con farmaco	Riabilitazione cardiovascolare, Telemedicina e E-health
IRCCS San Raffaele Pisana	GR-2013-02358430	NEUROMASTER: NEUROnavigated MAgnetic STimulation in patients with mild-moderate Alzheimer disease combined with Effective cognitive Rehabilitation. Stimolazione magnetica neuronavigata in pazienti con Alzheimer moderato combinata a riabilitazione cognitiva	Indagine clinica con dispositivo medico recante marcatura CE	Brain Connectivity
San Raffaele Cassino	MISTERPARKINSON	Studio clinico controllato randomizzato per la valutazione dell'efficacia di un programma di educazione terapeutica nel trattamento della Malattia di Parkinson idiopatica nelle fasi complicate di malattia: "Mr. Parkinson" va a scuola	Interventistico spontaneo interno non farmacologico	Parkinson e disturbi del movimento



CONVENZIONI E COLLABORAZIONI ISTITUZIONALI

SCUOLE DI SPECIALIZZAZIONE E TIROCINI:

Sono attive le seguenti Scuole di Specializzazione:

Università degli Studi di Roma "La Sapienza"

- Scuola di Specializzazione in Medicina Fisica e Riabilitazione
- Scuola di Specializzazione Medicina e Psicologia
- Tirocinio terapisti occupazionali
- Tirocinio curriculare Facoltà di Ingegneria Civile e Industriale

Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"

- Scuola di Specializzazione in Medicina Fisica e Riabilitazione
- Convenzione per il tirocinio pratico per gli studenti che frequentano il Corso di Laurea Magistrale Biotecnologie Industriali della Facoltà di scienze MM FF NN della Scuola Istruzione a Distanza-IaD al fine di completare il percorso formativo accademico dei tirocinanti e di agevolarne la scelta professionale
- Tirocini curricolari Corso di Laurea in Biologia Cellulare e Molecolare
- Convenzioni quadro per tirocinio di formazione e orientamento in particolare con il corso di laurea triennale in terapia della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva
- Convenzione per tirocini teorico pratici presso aziende/enti

Università LUMSA

- Master in Neuropsicologia

Libera Università degli Studi di Scienza Umane e Tecnologiche (LUDES)

- Tirocinio di Formazione per i Fisioterapisti

Seconda Università degli Studi di Napoli

- Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare
- Facoltà di Psicologia

Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

- Centro Interuniversitario IRIDE, per lo svolgimento di Tirocinio in Psicologia Clinica.

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

- Facoltà di Scienze della Formazione

Università di Salerno

- Tirocinio di formazione e orientamento con il Dipartimento di Farmacia

Università di Parma

- Anestesia, Rianimazione e Medicina del Dolore - Dipartimento di Scienze Chirurgiche

Università Telematica San Raffaele Roma

- Convenzioni per tirocinio curricolari e stage

Altri Istituti

- Istituto di Formazione in Analisi Transazionale, Istituto Auximon
- Istituto Walden Associazione Italiana di Psicologia e Terapia Cognitivo Comportamentale
- Scuola Internazionale di Ricerca e Formazione in Psicologia Clinica e Psicoterapia Psicoanalitica - S.I.R.P.I.D.I.

- Centro Italiano di Psicologia Analitica - C.I.P.A
- Scuola di Psicoterapia Strategica Integrata Seraphicum (SCUPSIS)
- Istituto di Terapia Relazionale Integrata (ITRI)
- Centro Studi Martha Harris (Psicoterapia Psicoanalitica, Modello Tavistock)
- Istituto Italiano Psicoterapia Relazionale (I.I.P.R.)
- Scuola Italiana di Ipnosi e Psicoterapia Ericksoniana (S.I.I.P.E.)
- Scuola di Analisi Transazionale (SIFP)
- Lo spazio psicoanalitico
- Scuola Superiore di Specializzazione in Psicologia Clinica _SSSPC Università Pontifica Salesiana
- Engim San Paolo
- IDI – Istituto Dermopatico dell’Immacolata
- IPUS Istituto Privato Universitario Svizzero

Collaborazioni nazionali

Istituto Superiore di Sanità – Collaborazione Scientifica per Progetti di ricerca nell’ambito di:

- riabilitazione
- patologie cardiovascolari
- malattie respiratorie
- neuroscienze
- malattie infettive
- tabagismo
- neoplasie
- medicina di genere.

Università degli Studi di Roma “Sapienza”:

- I Facoltà di Medicina e Chirurgia
- Dipartimento di Neurologia e Psichiatria per una collaborazione scientifica nell’ambito del trattamento del dolore acuto e cronico.

Università Cattolica del Sacro Cuore:

- Istituto di fisiologia umana

Università degli Studi di Roma “Tor Vergata”:

- Dipartimento di Medicina Interna nei settori della:
 - o Cardiologia, con particolare riguardo alla diagnosi e cura dell’ipertensione arteriosa e allo studio del valore predittivo e diagnostico dei marker di funzione cardiovascolare
 - o Diagnosi e terapia delle dislipedemie
 - o Prevenzione, primaria e secondaria, e cura della malattia aterosclerotica mediante la gestione informatizzata dei pazienti sul territorio
 - o Diabetologia, endocrinologia, andrologia
 - o Biochimica clinica
 - o Medicina interna, oncologia
 - o Attuazione di strategie innovative in ricerca traslazionale nel campo della broncopneumopatia cronica ostruttiva
 - o Ricerca specifica sul tema degli effetti metabolici ed autonomici del training fisico in pazienti cardiopatici anziani e con ridotta tolleranza allo sforzo.
- Dipartimento di Biologia, Accordo di collaborazione scientifica sui meccanismi molecolari dell’invecchiamento.
- Dipartimento di Neuroscienze.

Politecnico di Milano (GALLI/ALBERTINI)

- Dipartimento di Bioingegneria, Collaborazione nel settore della valutazione funzionale e della riabilitazione motoria. Sviluppo dell'attività clinica e di ricerca dei laboratori di analisi della postura e del movimento.

Università Magna Graecia di Catanzaro (CENTRO DEL FARMACO)

- Attivazione progetti di ricerca nei seguenti campi: Area farmacologia di base, molecolare e clinica; area tossicologia; area chimica farmaceutica

Università Telematica San Raffaele Roma

- Attivazione laboratori nell'ambito della Biologia applicata ed in particolare nei settori della fisiologia e della microbiologia e della microbiologia clinica

Università degli Studi di Genova (GR SALE)

- Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili

Università Politecnica delle Marche (GR SALE)

- Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica

Università Campus Biomedico di Roma (GR TOMBINI)

- Unità di Ricerca di Neurologia.

- Unità di Ricerca di Robotica e Microingegneria Bio-Medica

Università di Palermo (TAFANI)

- Dipartimento di Discipline Chirurgiche, Oncologiche e Stomatologiche

Università di Bologna (BONASSI)

- Istituto di Psichiatria

Università Sapienza (GR FERACO)

- Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Patofisiologia Medica, Endocrinologia e Nutrizione

Università Foro Italo (GR FERACO)

- Dipartimento di Scienze Motorie, Umane e della Salute

Policlinico Universitario A. Gemelli (GR VECCHIO)

- Dipartimento di Geriatria, Neuroscienze, ortopedia

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Diabetes Research Institute, University of MIAMI - Accordo di collaborazione scientifica per la ricerca e cura del diabete

Institute for Molecular and Translational Therapeutic Strategies (IMTTS), Hannover Medical School, Germany

University of Barcellona, Cooperation in collaborative research in the field of home care assistance and services (through tele-assistance and tele-rehabilitation) and systems biology of COPD.

MI&EUR BV Agreement Study on Utilization of Cabergoline for compliance with risk minimization Activities

Merck KGaA Agreement PD-L1 expression in human lung, gastric, and breast cancer tissue

Center for Human Nutrition Washington University School- RF 2011-2012

Laboratory del Department of Psichiatria and Human Behaviour University of California, Irvine, CA-USA

Aalborg Universitet, Coordinator Consortium for project e-WALL

University of Hertfordshire Higher Education Corporation, Coordinator Consortium for project SCRIPT

Servicio Madrileño De Salud Hospital Universitario de Getafe, Coordinator Consortium for project FRAILOMIC

Fundacion de Investigacion Biomedica del Hospital Universitario de Getafe, Coordinator Consortium for project FRAILCLINIC

Centre de recherche des cordeliers in paris, france and centre for clinical and basic research INSERM

Bayer Pharma AG Research Agreement IN CELLULAR MODELS RELATED TO THE METABOLIC SYNDROME

Insmid Ireland Ltd - Master Service Agreement

University of Hawaii Cancer Center Memorandum of Understanding

Les Laboratoires Servier Expert Convention

IBBL Service Agreement

SERVIZI BIBLIOTECARI



La biblioteca collabora attivamente con tutte le biblioteche del proprio ambito disciplinare sul territorio nazionale. E' parte dell'Organizzazione delle biblioteche scientifiche promossa e finanziata dal Ministero della Salute (Bibliosan), partecipa al Catalogo Nazionale dei Periodici (ACNP), al sistema per lo scambio di documenti (NILDE) e al Gruppo Italiano Documentalisti dell'Industria Farmaceutica e degli Istituti di Ricerca Biomedica (Gidif-Rbm).

Rappresenta l'Istituto ed il gruppo Bibliosan all'interno di gruppi di lavoro d'ambito biblioteconomico. I servizi bibliotecari si concretizzano nella consulenza, guida all'uso, consultazione e riproduzione delle risorse nonché nella consultazione e la riproduzione di copie della produzione scientifica dell'Istituto dal 1999 ad oggi.

A disposizione degli utenti vi sono banche-dati, più di 7.000 periodici scientifici, e-books di medicina clinica ai fini all'accreditamento ECM, software per la gestione dei dati bibliografici e testi di ambito clinico, sanitario e scientifico

La biblioteca si occupa dell'organizzazione di corsi volti all'approfondimento e alla formazione all'uso delle risorse disponibili.

Le risorse sono accessibili a distanza, dall'interno dei computer della rete aziendale e da remoto.

Sul portale istituzionale www.sanraffaele.it, è presente una area dedicata ai servizi e alle risorse della biblioteca:<http://www.sanraffaele.it/contenuti/37/biblioteca>.

SCUOLE UNIVERSITARIE E UNIVERSITÀ TELEMATICA



UNIVERSITÀ TELEMATICA SAN RAFFAELE ROMA

L'Università Telematica San Raffaele Roma, è un Ateneo non statale che rilascia titoli di studio aventi pieno valore legale in Italia e in Europa (DM.MIUR 8/05/2006 e DM MIUR 13/06/2014). Ha sede a Roma, Milano, Acireale (CT) e Sulmona (AQ) .

L'Università, al proprio 10° anno di vita, grazie al progressivo rafforzamento strutturale, organizzativo e gestionale ha consolidato il raggiungimento di una forte identità accademica, e si propone, nel prossimo triennio, di rafforzare il proprio posizionamento in termini di ranking, di qualità dei percorsi e del corpo docente, di un ulteriore avvicinamento tra la formazione ed il mondo della ricerca e del lavoro.

La didattica è erogata attraverso una piattaforma e-learning, ambiente virtuale in grado di promuovere lo scambio, l'autonomia e la personalizzazione dei tempi di studio e di proporsi come luogo d'incontro e apprendimento collaborativo, senza vincolo di presenza in aula. Lezioni registrate, materiali didattici (slides, materiale illustrativo) disponibili 24 ore su 24, forum e un servizio di segreteria online consentono allo studente di studiare dove e quando è più comodo. Solo gli esami sono da sostenersi in modalità frontale.

Il corpo accademico, altamente qualificato, è composto da docenti ed esperti, di fama nazionale e internazionale, garantendo un alto livello qualitativo dell'insegnamento.

L'efficacia del percorso di studio è assicurato dalla presenza di tutor, che forniscono il proprio sostegno e supporto dal punto di vista della didattica, del metodo di studio, della tecnologia, dell'orientamento universitario e professionale e della spinta motivazionale.

L'Ateneo persegue la produzione e diffusione dei saperi e dei risultati della ricerca, nella formazione di capitale umano e nel trasferimento dei risultati scientifici al territorio e al Paese. A tal fine potenzia l'impatto della ricerca scientifica e la realizzazione di progetti di ricerca innovativi e competitivi anche a livello internazionale. La ricerca opera, quindi, nei più vari settori, spaziando dalle scienze biologiche, mediche e chimiche a quelle motorie in generale fino all'ambito delle scienze agrarie e veterinarie; da quelle giuridiche ed economico-statistiche a quelle matematiche e informatiche, toccando in maniera significativa l'ambito delle discipline inerenti l'architettura e la sfera storico artistica .

I Corsi di Studio sono legati ai settori in cui il primato del "Made in Italy" è riconosciuto a livello internazionale: design e moda, alimentazione e gastronomia, nutrizione umana, scienze motorie e sport. Il rapporto vitale con i settori industriali e sportivi di riferimento garantisce agli studenti una relazione proficua con il mondo produttivo e il mercato del lavoro anche attraverso la possibilità di accedere a stage professionalizzanti nelle realtà più qualificate. Esperti e professionisti del mondo dell'industria e dello sport assicurano un percorso di studio che valorizza l'apprendimento teorico e la formazione pratica.

I Corsi di Studio sono articolati in: I livello, al termine del quale si ottiene la Laurea; II livello, al termine del quale si ottiene la Laurea magistrale; III livello per la formazione post-laurea (master per laureati di II livello e dottorati di ricerca), corsi di perfezionamento. La durata dei Corsi di Studio è misurata in crediti formativi universitari (CFU), pari a 60 per ciascun anno di corso. Sono inoltre previste possibilità di approfondimenti trasversali ai quattro cicli di studi attraverso i master universitari (di I o di II livello), che hanno un carattere prevalentemente professionalizzante.

Scienze Motorie

Il Corso di Studio in Scienze Motorie classe L22 ha come obiettivo principale la formazione culturale, scientifica ed applicativa nel settore delle Scienze Motorie e Sportive.

Obiettivo specifico del corso è quello di formare figure professionali qualificate in relazione alla domanda di formazione ed in particolare la figura professionale dell'esperto nelle Scienze delle attività Motorie e Sportive ex legge 22, che abbia competenze concernenti la comprensione, progettazione organizzazione, conduzione e gestione di attività motorie e sportive nelle strutture pubbliche e private, a livello individuale e di gruppo, finalizzate allo sviluppo, al mantenimento e al recupero delle capacità motorie e del benessere psicofisico ad esse correlato.

Il percorso di studi è principalmente orientato verso le discipline motorie e sportive afferenti ai settori scientifico-disciplinari specifici (M-EDF/01-M-EDF/02) e prevede già a partire dal primo anno un percorso professionalizzante, affiancando insegnamenti a prevalente contenuto teorico ad insegnamenti ad elevato contenuto pratico.

Il Corso di Studio in **Scienze Motorie Curriculum Calcio classe L22**, è progettato e strutturato al fine di fornire ai propri laureati competenze integrate relative alla comprensione, progettazione, conduzione e gestione di attività motorie, gestionali, tecniche e sociologiche legate alla disciplina sportiva del calcio, a tutti i livelli.

L'obiettivo del percorso di studio, è quello di formare un professionista in ambito calcistico con adeguata preparazione culturale di base e con le competenze metodologiche necessarie per condurre, gestire e valutare semplici programmi di attività motoria e sportiva a livello individuale e di gruppo nel calcio.

Il Corso di Studio triennale in scienze motorie curriculum calcio intende orientare lo studente ad una conoscenza professionale del settore specifico, attraverso la conoscenza del settore tecnico, biomedico, psicopedagogico, giuridico, economico ed organizzativo – gestionale,rispondendo dunque ad una necessità di fondare i presupposti culturali e metodologici nella formazione professionale di operatori specializzati, dei dirigenti e dei manager che opereranno a tutti i livelli nel mercato sportivo di riferimento.

Il Corso di Studio in **Scienze e tecniche delle attività motorie preventive e adattate LM67** è caratterizzato da un'offerta formativa multidisciplinare e concepita specificamente per rispondere alle esigenze emergenti dall'ambito professionale di riferimento. Lo scopo generale del corso è di fare acquisire e perfezionare conoscenze interdisciplinari e scientifiche nel campo della prevenzione e dell'educazione motoria adattata e di preparare professionisti esperti nella prescrizione e somministrazione di un programma di allenamento personalizzato in funzione delle esigenze fisico-organiche di coloro che intendono svolgere attività motorie in modo sistematico.

L'obiettivo di base del Corso è quello di fare acquisire ai laureati magistrali conoscenze scientifiche avanzate nel campo delle attività motorie dell'uomo, con particolare riguardo alle aree preventiva e adattativa.

Agraria

Il Corso di Studio in **Scienze dell'Alimentazione e Gastronomia classe L26**, ha come obiettivo primario la formazione culturale, scientifica ed applicativa nel settore agroalimentare e gastronomico. Il corso si propone di formare una nuova figura professionale in grado di gestire tutti gli aspetti che riguardano la produzione ed il consumo del cibo, da quelli igienico-sanitari a quelli giornalistici e culturali; una figura poliedrica che sappia coniugare le conoscenze tecniche e scientifiche con quelle umanistiche, economiche e giuridiche; un professionista in grado di affrontare con competenza e creatività le sfide del settore alimentare del XXI secolo.

Il Corso di Studio in **Scienze della Nutrizione Umana classe LM61** offre una formazione specifica mirata a diventare un professionista nel campo della nutrizione. L'approccio fortemente multidisciplinare che caratterizza il Corso, vuole integrare diversi ambiti conoscitivi, da quello biomedico a quello della nutrizione, per passare alla caratterizzazione degli alimenti e della gestione agroalimentare, al fine di rispondere in maniera esauriente alle crescenti necessità di figure professionali nel settore.

Architettura e Design Industriale

Il Corso di Studio in Design classe L4 consiste nel fornire le competenze necessarie ad un profilo professionale che richiede padronanza dei fondamenti teorici e pratici ed ampi livelli di autonomia e responsabilità nei settori "design oriented", caratterizzati da crescente complessità tecnologica ed organizzativa e una sempre crescente competitività. Design italiano come valore, innovazione e strategia aziendale. Il percorso formativo predilige un approccio multidisciplinare che combina prag-

matismo e immaginazione, managerialità e progettualità. Il percorso didattico è in grado di fornire sia concrete esperienze di progetto e conoscenza sia “case history” specifiche.

Scienze dell'Amministrazione e dell'Organizzazione

Il Corso di Studio in Scienze dell'Amministrazione e dell'Organizzazione L16 privilegia l'integrazione di una pluralità di discipline finalizzata all'acquisizione di competenze specialistiche e differenziate necessarie per lo studio delle regole di condotta sia della pubblica amministrazione sia delle imprese pubbliche e private, con particolare riferimento alle realtà sanitarie regionali e locali.

Le attività formative sono predisposte affinché i laureati possano conseguire profili impiegabili per la direzione ed il coordinamento dei dipendenti delle pubbliche amministrazioni, per l'implementazione di specifiche politiche pubbliche per lo sviluppo e la valorizzazione del territorio, per l'assistenza nella progettazione e nell'implementazione di iniziative finalizzate allo sviluppo economico e sociale.

Offerta formativa post-Lauream

L'offerta formativa post-lauream dell'Università Telematica San Raffaele Roma si articola nei percorsi di Alta Formazione dei Dottorati di ricerca, dei Master Universitari di primo e di secondo livello e nei corsi di perfezionamento. I Corsi, nella loro specificità, sono orientati all'acquisizione delle competenze necessarie per l'esercizio delle attività di ricerca presso le Università e/o Enti Pubblici o Privati, per lo svolgimento di funzioni in particolari settori professionali, per rispondere alle diverse esigenze provenienti dal mondo del lavoro e delle professioni.

L'infrastruttura telematica ad uso degli studenti e del personale di Ateneo, si articola in quattro strumenti principali: le piattaforme didattiche, la segreteria didattica on-line, il servizio di posta elettronica e il sito internet d'Ateneo.

La piattaforma utilizzata per la quasi totalità delle attività didattiche di Unisanraffaele è una personalizzazione di Moodle (Modular Object-Oriented Dynamic Learning Environment, vedasi il sito ufficiale www.moodle.org), un sistema in grado di recepire contenuti didattici che prevede il tracciamento delle attività per garantire il rispetto di quanto prescritto dalla normativa universitaria in merito all'obbligo della frequenza.

Le principali tipologie di contenuto didattico utilizzate dall'Università sono: (a) le videolezioni, nella forma di lezioni frontali in cui è presente sia l'immagine del docente che la presentazione PowerPoint. Il video della lezione è sincronizzato con le diapositive le quali sono titolate e permettono di spostarsi da un punto all'altro della lezione; (b) le audio-lezioni nella forma di slide commentate da audio (rapid learning). In questo caso il docente dovrà inviare l'audio all'Università, la quale si occuperà di sincronizzare l'audio alle diapositive. Le tracce audio registrate dovranno essere una per ogni slide della presentazione. Al termine di una lezione costituita da 20 diapositive il docente dovrà produrre 20 piccole tracce audio autonome; (c) materiale testuale, file e directory: i docenti possono pubblicare file di diverso formato, singolarmente oppure organizzati in cartelle; (d) link – possono essere utilizzati link a siti o video di particolare interesse, sia interni che esterni alla piattaforma.

Le principali metodologie di comunicazione con gli studenti sono: (a) il forum di discussione - consente lo scambio di messaggi tra tutti gli utenti del corso o all'interno di opportuni sottogruppi; (b) i quiz - che consentono l'utilizzo di domande di diverso tipo (risposta chiusa, risposta aperta, di tipo numerico, a corrispondenza); (c) il glossario - consente di archiviare informazioni in modo strutturato: si può quindi utilizzare sia come glossario vero e proprio, sia come ambiente in cui inserire contributi. E' possibile assegnare valutazioni e commenti ai “termini” inseriti e creare alcuni link in modo automatico all'interno del corso; (d) il compito - tramite il compito è possibile predisporre un'area in cui lo studente può inviare documenti al docente (eventualmente vincolato da scadenze). I docenti possono essere avvisati via e-mail dell'avvenuta consegna e far avere allo studente una valutazione e commenti sul lavoro consegnato; (e) la chat- consente uno scambio sincrono di messaggi. Le chat possono essere lasciate sempre aperte, ad uso degli studenti, oppure aperte e chiuse a discrezione dei docenti. Ad esempio è possibile utilizzare la chat per il ricevimento studenti, oppure per una

lezione on-line in cui ognuno porta i suoi contributi. E' possibile salvare le sessioni passate della chat in modo da rivederle in momenti successivi.

La Segreteria Didattica on-line ha il compito di fornire sia le funzionalità rivolte all'amministrazione universitaria (segreteria studenti) per la gestione del percorso dello studente dall'immatricolazione al conseguimento del titolo sia i servizi web a valore aggiunto rivolti al singolo studente.

L'attività scientifica e di ricerca dell'Ateneo comprende i seguenti prodotti della ricerca:

- Pubblicazioni scientifiche nazionali ed internazionali che abbiano rilevanza accademica e diffusione nella comunità scientifica, carattere di scientificità.
- Tutte le pubblicazioni non accademiche con ISBN/ISNN, che si rivolgono ad un pubblico più eterogeneo rispetto a quello accademico.
- Convegni scientifici, organizzati da una comunità scientifica di riferimento o da enti/istituzioni/associazione di professionisti, nonché network universitari e associazioni accademiche che abbiano ad oggetto tematiche scientifiche e la cui discussione avvenga tramite presentazioni di paper (su invito o submission), nonché esposizione di poster, paper o relazioni su invito.
- Partecipazioni a convegni in qualità di relatore e/o di redattore del contributo a convegni nazionali o internazionali organizzati all'interno del proprio ambito scientifico di riferimento, nonché da associazioni di categoria o ordini professionali. Lo scopo di tali convegni è l'aggiornamento continuo e la partecipazione del ricercatore per permettere, attraverso una condivisione del proprio know how, il miglioramento delle conoscenze globali in relazione a determinati ambiti di riferimento.
- Convegni/Seminari/Corsi, quale l'attività a cui il ricercatore partecipa in qualità di partecipante, ai fini di un aggiornamento professionale/scientifico per il miglioramento della propria attività di ricerca/didattica attinente all'Ateneo.
- Partecipazione a varie attività nel campo della ricerca, quali ad esempio partecipazione a: editorial board di riviste nazionali/internazionali; scientific board nell'ambito di book series promosse da editori internazionali e per prodotti editoriali; attività di coordinamento nell'ambito di special issues di riviste o book series; attività di referaggio per riviste accademiche e/o per convegni scientifici.

NOMINE INCARICHI E RICONOSCIMENTI



Giorgio Albertini

- Componente Comitato Tecnico Scientifico dell'Associazione italiana X Fragile
- Componente dello Special Interest Research Group sulla Sindrome di Down e Health Issues)
- Componente del Comitato Direttivo dell'International Society on Early Intervention, (ISEI)

Piero Barbanti

- Tesoriere della Società Italiana di Neurogeriatria (SINeG)
- Consigliere dell'Associazione Neurologica Italiana per la Ricerca sulle Cefalee (ANIRCEF)
- Membro del Comitato Scientifico dell'Associazione per una Scuola delle Cefalee (ASC)
- Presidente dell'Associazione Italiana per la lotta contro le Cefalee (AIC)

Massimiliano Caprio

- Working Group Leader and Management Committee Member – COST (European Cooperation in Science and Technology) Action BM 1301 “Aldosterone and Mineralocorticoid Receptor”
- Membro della commissione Scientifica Società Italiana di Andrologia e Medicina della Sessualità (SIAMS)

Claudia Condolucci

Componente degli “Special Interest Group IASSIDD”: Down Syndrome e Health Issues

Carlo Damiani

Segreteria Regionale Società Italiana di Medicina Fisica e Riabilitativa (SIMFER) Lazio

Patrizia Ferroni

Section Editor (Biomarkers) della rivista Current Medicinal Chemistry (<http://benthamscience.com/journals/current-medicinal-chemistry/editorial-board/#top>) Editorial Board Member della rivista SRL Oncology & Hematology (<http://scireslit.com/Oncology/editorsJ.php>)

Massimo Fini

Componente, su nomina del Ministro, del Consiglio Superiore di Sanità

Marco Franceschini

Chairmen del Comitato permanente per la ricerca della International Society of Physical and Rehabilitation Medicine (ISPRM)

Fiorella Guadagni

Consultant to Laboratory of Tumor Immunology and Biology – Center for Cancer Research National Cancer Institute - National Institute of Health (NIH) - U.S. Department of Health and Human Services.

Federica Limana

– Reviewer per: Plos ONE, Giornale italiano di Cardiologia, Journal of Cellular and Molecular Medicine, Stem Cells International.
– Editor per Plos ONE

Anna Teresa Palamara

– Presidente Sezione III Consiglio Superiore di Sanità
– Componente Comitato scientifico dell' Istituto superiore di sanità
– Componente Direzione Scientifica della Fondazione "Istituto Pasteur-Cenci Bolognetti " della "Sapienza" Università di Roma
– Presidente della Società Italiana di Microbiologia (SIM)

Eleonora Palma

- Coordinatore nazionale Commissione di Epilettologia sperimentale della LICE (Lega italiana contro l'epilessia)

Matteo Antonio Russo

– Editor per: Immunity and Aging, Functional Neurology, Neuroscience and Medicine, J. of Carcinogenesis and Mutagenesis, J. of Cancer Science and Therapy, Prevention and Research, The Scientific World Journal, Open Journal of Pathology, Pathology Discovery, European Medical Journal.
– Reviewer per: ARS, Cancer Res, Oncogene, Biomedicine & Pharmacotherapy, Frontiers in Biosciences, Histopathology, J Molecular Medicine, J Biological regulators and homeostatic agents.

Marco Tafani

- Expert Grant Referee per il Ministero della Salute e per Hong Kong Research Grant Council e National Science Centre, Poland.
- Reviewer le seguenti riviste scientifiche: Autophagy, Cell Death and Disease, PLoS One, Journal of Cellular Physiology, Brain Research, Cancer Science.
- Editor per Cancer Research Journal, Science Publishing Group.

Carlo Tomino

- Componente Comitato Scientifico della Fondazione The Bridge, finalizzata a supportare interventi e progetti di ricerca in ambito sanitario e socioassistenziale
- Componente UE Expert Working Group su Orphan drug and rare disease

Fabrizio Vecchio

- Associate Editor for the Journal of Alzheimer's Disease
- Handling Editor for the Journal of Alzheimer's Disease
- Scientific Advisory Board and Organizer of the "Updates on human brain connectome: from physiology to diseases" (Rome, 28-29 November 2016)
- Best Poster Awards Neuoscience: Miraglia F, Vecchio F, Di Iorio R, Granata G, Romanello R, Rosini PM. The impact of bipolar tDCS on cortical networks connectivity: a graph theory study. XLVII Congresso della Società Italiana di Neurologia. Venezia 22-25 Ottobre 2016

Maurizio Volterrani

Nomina da parte dell'Heart Failure Association (HFA), quale membro dell'Exercise and Training Committee.

ATTIVITA' DI FORMAZIONE



CORSI

Nel 2016 l'IRCCS San Raffaele Pisana ha organizzato 26 corsi ECM.

DATA		TITOLO	LUOGO	NUMERO DI CREDITI ECM
Maggio	9	Prevenzione e misure di isolamento in ambito ospedaliero: chi e come isolare	IRCCS San Raffaele Pisana	5,8
	23	La gestione nutrizionale dell'anziano fragile	IRCCS San Raffaele Pisana	6
	25	Approccio riabilitativo dell'arto superiore post ictus con trattamento robotizzato	IRCCS San Raffaele Pisana	8,3
	30	L'osteoporesi, il trattamento farmacologico e il trattamento chinesioterapico	IRCCS San Raffaele Pisana	4,7
Giugno	7	Approccio integrato nella terapia della bpcp: ruolo delle diverse figure professionali nella definizione dell'iter diagnostico-terapeutico	IRCCS San Raffaele Pisana	4
	9	Gestione infermieristica del paziente diabetico: cura della patologia e delle sue criticità: amputazione e piede diabetico	IRCCS San Raffaele Pisana	5,8
Luglio	21	Il taping neuromuscolare come tecnica complementare nell'approccio riabilitativo al paziente ortopedico e neurologico	IRCCS San Raffaele Pisana	4,7
Settembre	23	Mobilizzazione - riabilitazione del paziente in lmd per la prevenzione ed il trattamento delle lesioni da decubito	San Raffaele Rocca di Papa	16
	30	Insufficienza respiratoria acuta e cronica: ruolo fondamentale dell'infermiere	IRCCS San Raffaele Pisana	5,8
Ottobre	10	Il dolore: gestione e monitoraggio	IRCCS San Raffaele Pisana	6
	11	Approccio integrato nella terapia della bpcp: ruolo delle diverse figure professionali nella definizione dell'iter diagnostico-terapeutico	IRCCS San Raffaele Pisana	4
	17	La riabilitazione del pavimento pelvico nel paziente con incontinenza urinaria: approccio multidisciplinare	IRCCS San Raffaele Pisana	8,2
	18	Update mezzi fisici in riabilitazione	IRCCS San Raffaele Pisana	4
	19	Il reinserimento domiciliare del paziente neurologico post acuto adulto	IRCCS San Raffaele Pisana	4,7
	21	Mobilizzazione - riabilitazione del paziente in lmd per la prevenzione ed il trattamento delle lesioni da decubito	San Raffaele Rocca Di Papa	12
Novembre	1	Il trattamento antiaggregante nei pazienti con sindromi coronariche acute	FAD	16
	3	Il progetto riabilitativo: inquadramento funzionale del paziente con la metodica del problem solving	IRCCS San Raffaele Pisana	4,7
	11	Risk management in sanità e HTA: i farmaci e i dispositivi tra efficacia, rischio e allocazione appropriata delle risorse	IRCCS San Raffaele Pisana	4
	25	Tecniche di mobilizzazione del paziente - movimentazione manuale	IRCCS San Raffaele Pisana	17,9

		dei carichi		
	29	Gestione delle infezioni nel paziente ricoverato in riabilitazione	IRCCS San Raffaele Pisana	4,8
Dicembre	1	Semeiotica funzionale delle principali articolazioni con elementi di imaging e scale di valutazione applicati al progetto riabilitativo	IRCCS San Raffaele Pisana	4,5
	16	Uso dei biomarcatori negli studi clinici ed epidemiologici	IRCCS San Raffaele Pisana	4,7

Nel corso del 2016 sono stati svolti alcuni corsi FAD:

- Market access sanitario
- Fibrillazione atriale e tromboembolismo venoso: il vantaggio di un'anticoagulazione sicura
- Ricerca clinica: aspetti etici, metodologici e normativi
- N.A.O. trattamento della FANV e TVP



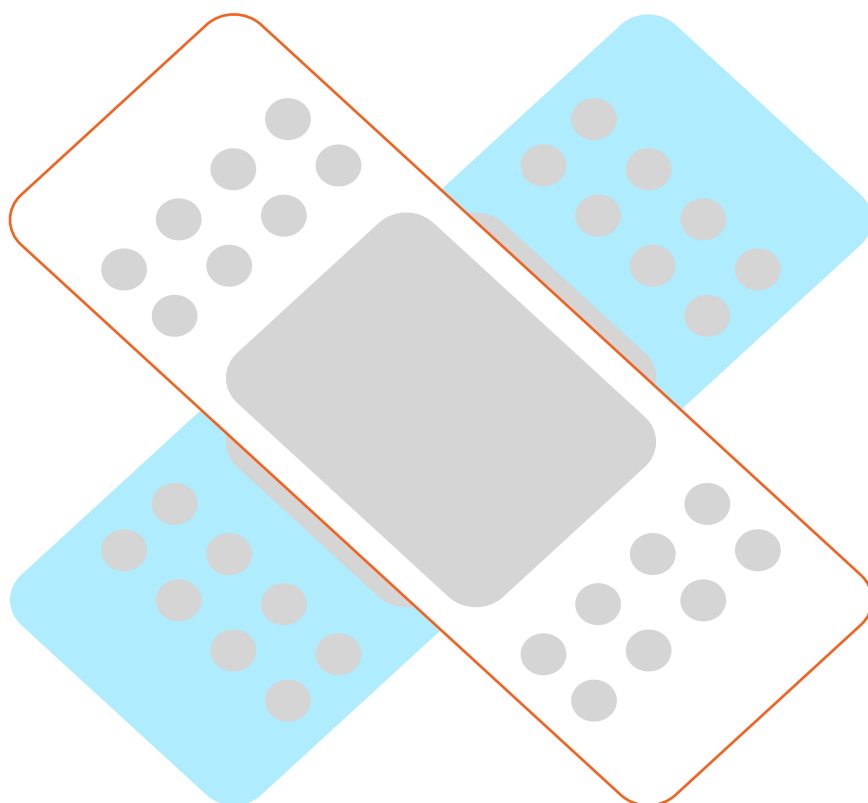
ATTIVITA' ASSISTENZIALE

L'attività assistenziale dell'IRCCS San Raffaele Pisana si inserisce nell'ambito di un'organizzazione strutturata in Dipartimenti, per un totale di 298 posti letto, con le seguenti Unità Operative (U.O.):

- Riabilitazione Neuromotoria
- Riabilitazione Pediatrica
- Cardiologia Riabilitativa
- Riabilitazione Respiratoria
- Medicina Interna

All'interno dell'IRCCS sono attivi i seguenti Laboratori e Servizi specialistici che offrono un fondamentale supporto alla clinica ed alla ricerca svolgendo un'attività trasversale agli obiettivi delle differenti Unità Operative:

- Laboratorio di Neurofisiopatologia
- Laboratorio per lo Studio delle Posture e del Movimento (Gait Analysis)
- Laboratorio per lo Studio della Funzionalità Cardiaca
- Laboratorio per lo Studio della Funzionalità Respiratoria
- Laboratorio di Patologia Clinica
- Laboratorio di Robotica Riabilitativa
- Servizio di Otorinolaringoiatria con Laboratorio di Audiologia/Audiologia Infantile, Foniatria con sistema di videoendoscopia per lo studio delle prime vie aeree e Deglutologia
- Servizio di Diagnostica per Immagini
- Servizio di Idrokinesiterapia/ Terapia Occupazionale/ Rieducazione Funzionale.



DATI DI ATTIVITÀ



NEL CORSO DELL'ANNO 2016 IL NUMERO TOTALE DEI DIMESSI IN REGIME DI RICOVERO ORDINARIO È STATO DI 4580, DI CUI 3022 PAZIENTI PER LA RIABILITAZIONE E 1558 PAZIENTI PER L'UNITÀ OPERATIVA DI MEDICINA.

Tabella 1 - Dimessi IRCCS San Raffaele Pisana - anno 2016

Discipline	N° Dimessi regione	N° Dimessi fuori regione	Totale	Degenza Media
Riabilitazione in Regime di Ricovero Ordinario	2775	247	3022	27,04
Riabilitazione in regime di Day Hospital	645	17	662	22,48*
Medicina interna	1507	51	1558	6,89
	4927	315	5242	20,48

Nota n. 1*: numero medio di accessi per paziente.

RICOVERI ORDINARI

Analizzando i dati per ciascuna U.O. (tabella 2), si osserva che la maggior parte dei ricoveri è attribuibile all'Unità Operativa di Riabilitazione Neuromotoria (1362 pazienti sul totale dei dimessi pari al 45,07%, di cui il 92,95% residenti nella Regione Lazio) ed all'Unità Operativa di Cardiologia Riabilitativa (828 pazienti sul totale dei dimessi pari al 27,40%, di cui il 94,57% residenti nella Regione Lazio). Per le Unità Operative di Riabilitazione Respiratoria e di Riabilitazione Pediatrica l'ammontare dei pazienti dimessi è in termini percentuali rispettivamente del 23,06% (697 di cui il 97,70% residenti nella Regione Lazio) e del 4,47% (135 di cui il 33,33% residenti nella Regione Lazio).

La degenza media dei pazienti dimessi dalle Unità Operative va da un minimo di 20,76 giorni per la Riabilitazione Respiratoria ad un massimo di 32,92 giorni per la Riabilitazione Neuromotoria, con una media totale di 27,04 giorni.

Tabella 2 - Ricoveri U.O. di Riabilitazione Anno 2016 – Degenza ordinaria

U.O. RIABILITAZIONE RICOVERI ORDINARI	Dimessi		Totale dimessi	Totale gg. Degenza	Degenza Media fuori regione	Degenza Media residenti	Degenza Media totale
	Fuori regione	Residenti					
Riabilitazione Pediatrica	90	45	135	3563	23,82	31,53	26,39
Riabilitazione Respiratoria	16	681	697	14467	20,75	20,76	20,76
Riabilitazione Neuromotoria	96	1266	1362	44834	31,30	33,04	32,92
Cardiologia Riabilitativa	45	783	828	18854	20,64	22,89	22,77
Totale	247	2775	3022	81718	25,95	27,17	27,04

RICOVERI IN DAY HOSPITAL

Per quanto concerne l'attività di Day Hospital, ci sono stati 14.880 accessi, per un totale di 662 pazienti. Dei pazienti ricoverati in regime di day hospital il 2,57% proviene da regioni diverse dalla Regione Lazio.

Tabella 3 – Attività di DH - anno 2016

	N° Dimessi regione	N° Dimessi fuori regione	Totale	Totale accessi	Numero medio accessi/pz
Riabilitazione DH	645	17	662	14880	22,48

Esaminando i dati più nel dettaglio, si evidenzia che, su un totale di 662 pazienti, 102 sono stati dimessi dal Day Hospital di Riabilitazione Pediatrica (il 2,94% dei quali provenienti da regioni diverse dalla Regione Lazio), 243 dal DH di Riabilitazione Neuromotoria e 317 dal DH di Riabilitazione Cardiologica.

Il numero medio di accessi per paziente è di circa 22,48 giorni, andando da un minimo di 16,46 accessi per la Riabilitazione Cardiologica ad un massimo di 28,05 accessi per la Riabilitazione Neuromotoria (tabella 4).

Tabella 4 – Attività di DH per disciplina – anno 2016

Riabilitazione DH	DIMESSI		Totale dimessi	ACCESSI		Totale accessi	Accessi Medi fuori regione	Accessi Medi residenti	Accessi Medi totale
	Fuori regione	Residenti		Fuori regione	Residenti				
R. Pediatrica	3	99	102	78	2767	2845	26,00	27,95	27,89
R. Neuromotoria	10	233	243	230	6586	6816	23,00	28,27	28,05
R. Cardiologica	4	313	317	58	5161	5219	14,50	16,49	16,46
Totale	17	645	662	366	14514	14480	21,53	22,50	22,48

Dall'analisi dei dati SIO relativi alle categorie diagnostiche principali (MDC) attribuite ai pazienti dimessi per l'anno 2016, sia di riabilitazione che di medicina, emerge che il 39,24% sono attribuibili alla MDC 5: diagnosi legate a malattie e disturbi del Sistema Cardiocircolatorio; il 24,49% attribuibili alla MDC 1, ovvero diagnosi legate a Malattie e disturbi del Sistema Nervoso; ed il 17,55% attribuibili alla MDC 4, ovvero diagnosi legate a Malattie dell'apparato Respiratorio (tabella 5a e 5b).

Tabella 5 Classificazione dei dimessi per MDC (Riabilitazione).

Major Diagnostic Categories	ORD.	D.H.	TOT.	%
MDC 1 Malattie e disturbi del sistema nervoso	774	250	1024	27,80
MDC 4 Malattie e disturbi dell'apparato respiratorio	436		436	11,83
MDC 5 Malattie e disturbi dell'app. cardiocircolatorio	1089	317	1406	38,17
MDC 8 Malattie e disturbi del sistema muscolo-scheletrico e del tessuto connettivo	692	65	757	20,55
MDC 19 Malattie e disturbi mentali	31	30	61	1,66
ALTRI	0	0	0	
TOTALE	3022	662	3684	100,00

Tabella 5 bis Classificazione dei dimessi per MDC (Riabilitazione e Medicina).

Major Diagnostic Categories	ORD.	D.H.	TOT.	%
MDC 1 Malattie e disturbi del sistema nervoso	1034	250	1284	24,49
MDC 4 Malattie e disturbi dell' apparato respiratorio	920		920	17,55
MDC 5 Malattie e disturbi dell'app. cardiocircolatorio	1740	317	2057	39,24
MDC 8 Malattie e disturbi del sistema muscolo-scheletrico e del tessuto connettivo	705	65	770	14,69
MDC 19 Malattie e disturbi mentali	38	30	68	1,30
ALTRI	143		143	2,73
TOTALE	4580	662	5242	100,00

ATTIVITA' AMBULATORIALE

Nell'anno 2016 sono state erogate 59.313 prestazioni (SSR) di carattere ambulatoriale presso l'IRCCS San Raffaele Pisana.

Provenienza dei Pazienti Indice di attrazione da altre Regioni:

Nel 2016 l'IRCCS San Raffaele Pisana conferma la propria capacità attrattiva con il 6,01% dei pazienti provengono da regioni diverse dalla regione Lazio (315 su un totale di 5242 pazienti). L'attrazione di pazienti provenienti da fuori regione avviene maggiormente nell'ambito del Centro per le Disabilità dello Sviluppo.

Tabella 6 - Dimessi IRCCS San Raffaele Pisana Regione versus Fuori Regione – Biennio 2015-2016

Discipline	N° Dimessi							
	Regione		Fuori regione		Totale		Degenza Media	
	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016
Riabilitazione (RO)	2625	2775	223	247	2848	3022	28,01	27,04
Riabilitazione (DH)	553	645	25	17	578	662	25,65	22,48
Medicina interna	1491	1507	36	51	1527	1558	7,03	6,89
Totale	4669	4927	284	315	4953	5242	21,26	20,48

Gli accessi dei pazienti avvengono tramite percorsi assistenziali privilegiati con le strutture ospedaliere per acuti sul territorio, come riportate precedentemente.

Nei reparti di riabilitazione neuromotoria (ordinaria) la grande maggioranza dei pazienti viene ricoverato entro due settimane dall'evento acuto (67,11%) e la quasi totalità (89,06%) entro quattro settimane. Il 55,73% (759/1362) sono di sesso femminile.

I reparti di riabilitazione neuromotoria ed il Day Hospital utilizzano ed implementano le linee guida italiane per l'assistenza riabilitativa della persona con stroke, con Parkinson, con esiti di protesi di anca e di ginocchio.

Dei pazienti ricoverati per la riabilitazione neuromotoria 1132 (83,11%) hanno un'età da 60 anni in poi, di cui 861 (63,22%) un'età maggiore o uguale di 70 anni. Si riportano a seguire gli outcome al momento del ricovero e alla dimissione.

	Età media	Barthel ingresso media	Barthel dimissione media	Recupero
Riab NM1	68.64	30.9	69.7	38.8
Riab NM2	73.08	34.9	79.6	44.7
Riab NM3	72.65	33.5	72.2	38.7

Nei reparti di cardiologica riabilitativa e riabilitazione respiratoria gli outcome vengono misurati anche con la test del cammino (6 minute walking test) e la Classe BORG. Mentre nella riabilitazione respiratoria si rileva quasi una equa distribuzione (48% M e 52% F), nella cardiologia riabilitativa il 60% è rappresentato da maschi.

	Età media	6MWT ingresso media	6MWT dimissione media	Recupero
Cardiologia riabilitativa	71.74	75.9	304.6	228.7
Riabilitazione respiratoria	74.83	61.6	148.8	87.2

Infine, si riporta il numero di dimissioni volontarie avvenute nel 2016, in quanto rappresenta un valore di eccellenza.

Dimissioni volontarie in Riabilitazione			
Modalità di dimissione	DH	ORD	Totale
Decesso		57	57
Dimissione in Struttura Residenziale Sanitaria		68	68
Ordinaria a Domicilio	656	2542	3198
Trasferimento in Urgenza		164	164
Trasferimento Programmato ad Altro Reparto		128	128
Volontario	6	63	69
Totale complessivo	662 (0.91%)	3022 (2.08%)	3684 (1.87%)

PERCORSI DIAGNOSTICO-TERAPEUTICI (PDT)

I percorsi diagnostico-terapeutici (PDT) sono schemi procedurali clinici (medici, infermieristici e riabilitativi) che comprendono test diagnostici, trattamenti e consulenze specialistiche; sono redatti allo scopo di supportare programmi di trattamento coordinati ed efficienti. I PDT costituiscono uno strumento di lavoro utilizzato dalle diverse figure professionali che intervengono nella gestione del decorso di una patologia. Per la loro formulazione è necessario fare riferimento a linee guida (LG) e/o raccomandazioni di comportamento clinico, elaborate mediante un processo sistematico, con lo scopo di assistere medici e pazienti nel decidere quali siano le modalità assistenziali più appropriate in specifiche situazioni cliniche.

La presa in carico di tutti i pazienti, appena entrati in reparto, prevede la costituzione di una Equipe Riabilitativa multidisciplinare che contempli le seguenti figure professionali: il fisiatra, il neurologo, il medico internista, l'infermiere, il terapeuta della riabilitazione (fisioterapista, terapeuta occupazionale, logopedista), lo psicologo, l'assistente sociale ed il dietologo. Tutte le figure menzionate, che operano in stretta collaborazione e sotto la supervisione del medico riabilitatore, valutano ed assistono il paziente seguendo specifici PDT pianificati all'ingresso in base alla patologia presentata (PDT specifici per malattia Cerebrovascolare, Malattia di Parkinson e Parkinsonismi, Sclerosi Multipla, Protesi d'anca o di ginocchio) ed elaborano un Progetto Riabilitativo Individuale.

Si sottolinea che, per garantire la continuità terapeutica dei pazienti che arrivano nel reparto, dal 2015 si è provveduto ad abilitare gli specialisti previsti dalla normativa regionale (neurologici ed internisti) alla prescrizione dei Nuovi anticoagulanti Orali tramite Piano Terapeutico on line per la prevenzione e la cura dell'ictus e dell'embolia sistemica in pazienti affetti da FANV, della TVP e della Embolia Polmonare.

Nel Reparto di Riabilitazione Neuromotoria 1 dell'IRCCS San Raffaele-Pisana nell'anno 2016:

- sono stati dimessi 439 pazienti, di cui l'88% affetti da postumi di malattie neurologiche non ancora stabilizzati e l'11% affetti da postumi di patologie ortopediche post-chirurgiche;
- dei pazienti affetti da malattie neurologiche il 68% presentava postumi di malattia cerebrovascolare acuta ed il 26% presentava Malattia di Parkinson o Parkinsonismi in fase di scompenso;
- il 9.5 % dei pazienti proveniva da fuori regione;
- circa l'84% dei pazienti proveniva da reparti per acuti (Stroke Unit, Neurologia, Neurochirurgia, Medicina d'Urgenza, Medicina, etc) con presa in carico precoce (il 29% entro 30 giorni dall'evento acuto, e tra questi il 47 % entro 10 giorni dall'evento);

La presa in carico precoce del paziente è assicurata da una rete di collaborazione collaudata con i reparti per acuti dei principali ospedali di Roma (per il reparto di Riabilitazione Neuromotoria 1 in particolare con il Policlinico Gemelli, Il San Camillo-Forlanini, Il San Filippo Neri, l'Ospedale S. Andrea, l'Ospedale S. Giovanni, il Policlinico Campus Biomedico, l'Ospedale San Carlo di Nancy, il Policlinico Umberto I) e del Lazio ed è ulteriormente facilitata dalla valutazione quotidiana da parte dei medici Responsabili delle Unità operative di moduli predisposti di richiesta di ricovero, compilati dai colleghi dei reparti per acuti, che recano informazioni di base riguardo alla patologia oggetto di trattamento riabilitativo. La valutazione della proposta di ricovero prevede il controllo dell'appropriatezza del paziente in base ai criteri di inclusione stabiliti dalla delibera regionale n. 266 pubblicata sul BUR del 9.06.2007 e successive modifiche e l'inserimento del paziente in una lista d'attesa, che risponde ai requisiti di chiarezza e trasparenza in base alle vigenti norme in materia. Nel 2016 sono state inoltre recepiti i nuovi criteri di appropriatezza stabiliti dal decreto regionale n. 159 del maggio 2016.

La valutazione funzionale dei pazienti dimessi ha evidenziato un ottimo recupero nel 42% dei casi (indice di Barthel > 74) ed un buon recupero nel 24% (indice di Barthel 50-74).

INNOVAZIONE E ECCELLENZA ASSISTENZIALE

L'IRCCS San Raffaele Pisana è dotato di una serie di apparecchiature tecnologicamente all'avanguardia sia per la terapia riabilitativa, che per la valutazione funzionale:

- Apparecchiature tecnologiche complesse per terapia nelle persone con disabilità neurologica:
- Robot per trattamento arto superiore (InMotion2 – MIT Boston)
- Robot per trattamento della mano (Amadeo – Tyromotiin Graz)
- Robot per trattamento arto inferiore (rieducazione del cammino) (G-EO – Reha Technology, Svizzera),
- Robot per trattamento arto inferiore (rieducazione del cammino overground) (Ecxo – Ekso Bionics - US)
- Apparecchiature tecnologiche complesse per terapia nelle persone con disabilità neurologica ed ortopedica:
- Realtà Virtuale Immersiva (Nirvana),
- Realtà Virtuale (VRRS EVO - Khymeia)
- Apparecchiature tecnologiche complesse per la valutazione funzionale:
- Sistema BTS per l'analisi cinematica del cammino con sistema optoelettronico
- Sistema BTS per l'analisi EMG del cammino in contesto "ecologico" in cui il segnale viene inviato al software di elaborazione dei dati via wireless
- Sistema EEG a 128 canali, che consente la registrazione delle attività cerebrali durante attività funzionali della persona esaminata, da cui si possono ottenere variazioni di attività cerebrali durante, prima e dopo gli esercizi proposti. Ciò consente di valutare in maniera precisa ed obiettiva l'efficacia dell'esercizio riabilitativo sperimentale. Con specifici software è possibile anche ricostruire la sorgente dell'impulso e quindi avere un'idea abbastanza precisa delle aree corticali coinvolte nelle attività proposte.

Le attività assistenziali innovative avviate presso l'Unità Operativa di Riabilitazione Cardiologica riguardano:

- Attività di Cardiagnostica: RMN cardiaca per lo studio della funzionalità cardiaca, TAC (multistrato 128K) per l'indagine morfologica delle coronarie. Laboratorio di ecocardiografia (sonde tridimensionali) centralizzato, con tre postazioni autonome e devices per scopia cardiaca portatili. Monitoraggio avanzato per aritmie e fenomeni ischemici esteso a tutto l'environment cardiovascolare. Valutazione della funzione endoteliale non invasiva. Laboratorio per lo studio del SNA, della portata cardiaca e delle resistenze polmonari non invasiva.
- Centro servizi di telemedicina: monitoraggio, counseling e teleriabilitazione dei pazienti a domicilio. Piattaforma centrata sul paziente, con programmi educazionali, forum, social network e app in ambito scompenso cardiaco.

Inoltre, nel 2016 l'Unità Operativa di Riabilitazione Cardiologica ha depositato un brevetto "cycle medical personal trainer". Il proposito innovativo e tecnologicamente all'avanguardia del brevetto 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 che sia 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.

Uso della neurostimolazione vagale transcutanea mediante GammaCore per la terapia acuta dell'emicrania In collaborazione con l'IRCCS Carlo Besta di Milano

Il trattamento di neuromodulazione mirato alle cefalee, impiegato per la prima volta al mondo nel trattamento della cefalea a grappolo cronica farmaco-resistente, sta cambiando grazie alla messa a punto dello stimolatore nVNS, acronimo di non-invasive vagal nerve stimulation (gammaCore). I nuovi strumenti di stimolazione, tipo il gammaCore, offrono una gestione esclusivamente clinica del paziente cefalalgico in trattamento di neuromodulazione senza richiedere il posizionamento neurochirurgico di un microcatetere di collegamento con il generatore di impulsi posizionato in sede extracranica. Questo tipo di stimolazione può essere utilizzata sia nel trattamento sintomatico e sia in quello di profilassi dell'emicrania. Il device, delle dimensioni di un cellulare, va collocato sul lato destro del collo, dove, dopo aver applicato un gel conduttivo simile a quello di una normale ecografia, 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.

Nel 2016 sono state trattate 56 pazienti, in uno studio clinico spontaneo non sponsorizzato, ed in seguito ad elaborazione dei risultati ottenuti, i dati sono stati pubblicati su Journal of Headache and Pain. In questo studio, i soggetti reclutati, tutte donne in età fertile di età compresa tra 18 e 65 anni, hanno utilizzato il device per la prevenzione degli attacchi nell'emicrania mestruale o correlata al periodo mestruale. Il trattamento consisteva 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, è stata 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.



Direttore Scientifico

Massimo Fini
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 0652253406 Fax +39 06 52255668
Email: massimo.fini@sanraffaele.it

Direttore Sanitario

Ugo Luigi Aparo
Via della Pisana, 235
Tel. +39 06 52252337
Email: direzione.sanitaria@sanraffaele.it

Direttore Operativo

Maria Fattori
Via della Pisana, 235
Tel. +39 06 52252380
Email: maria.fattori@sanraffaele.it

Presidente Comitato Tecnico Scientifico

Enrico Garaci
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 0652252132 Fax +39 06 52252079
Email: enrico.garaci@sanraffaele.it

Segreteria Scientifica

Astrid van Rijn
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52253405 Fax +39 06 52255668
Email: astrid.vanrijn@sanraffaele.it

Segreteria Direttore Scientifico

Stefania Proietti
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52253406 Fax +39 06 52255668
Email: segreteriascientifica@sanraffaele.it

Servizi Amministrativi Ricerca

Guido Poli/Elena Biagini
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52252471
Email: guido.poli@sanraffaele.it
elena.biagini@sanraffaele.it

Editorial Office

Daniela Pernice
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52253404 Fax +39 06 52255668
Email: daniela.pernice@sanraffaele.it

Segreteria Comitato Etico

Fabiola D'Angeli
Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 66130406 Fax 06/66130407
Email: fabiola.dangeli@sanraffaele.it

Biblioteca

Valia Nikolova
Via di Val Cannuta, 247
Tel/Fax +39 06 52252466
Email: bibliotecapisana@sanraffaele.it

COME RAGGIUNGERCI

Via della Pisana, 235
00163 Roma

