

## **1. Attività Scientifica**

*Comitato Scientifico*

*Pubblicazioni*

*Linee di Ricerca*

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

*Ricerca Finalizzata*

*Altra tipologia di ricerca*

*Clinical Trial Center*

*Convenzioni*

*Collaborazioni istituzionali nazionali ed internazionali*

*Servizi Bibliotecari*

*Scuole Universitarie*

## **4. Attività di formazione**

*Corsi ECM*

## **5. Attività assistenziale**

## **6. Indirizzi utili**

Il volume di quest'anno non può non rendere un umile omaggio ad uno stimato professionista, una Persona che ci ha lasciato e che nel suo percorso professionale si è sempre adoperata affinché ogni paziente potesse indossare le lenti giuste per guardare il mondo dal proprio punto di vista, gli strumenti adeguati per vivere con orgoglio e a testa alta la propria vita e la forza per impegnarsi in un cammino che, seppur non sempre facile, riserva comunque momenti di gioia importanti.

## In Memoriam

### Giorgio Albertini

(January 5, 1954–March 2, 2017)



On March 1, 2017, the Association, as well as the world, lost a valued colleague, mentor, innovator, and advocate for bettering the lives of people with intellectual disability. Our colleague, Dr. Giorgio Albertini, passed away after an extended illness. Dr. Albertini, a neurologist by profession, was an avid contributor to the Association, as a member of the Association's Council, Executive Committee (as a Vice-President), and through membership in numerous Special Interest Research Groups (SIRGs). A resident of Rome, Italy, he was a leader in every way. He was the director of the Child, Adult, and Aging Developmental Centre at San Raffaele Pisana Clinic, a unit of the Tosinvest Sanità Organization, and member of numerous professional organizations, as well as the nexus of a network of families who came to him and his clinic for help with their children with developmental disabilities.

Dr. Albertini received his medical degree in 1978 from the University "Cattolica del Sacro Cuore," in Rome, Italy, and then undertook specialization training in neurology. During 1979–81, he was a resident in the physical medicine and rehabilitation departments at the University Hospital "Cattolica del Sacro Cuore" and at the "Istituto Fisiatrico Ortopedico 'Luigi Spolverini,' Ariccia, both in Rome. In 1981, he became the Director of

the Department of Neurological Sciences and Rehabilitation at the Pediatric Hospital Bambino Gesù, Santa Marinella, and Pali-doro, at the Vatican. In 1997, he moved to the Toinvest Sanità Organization and organized the Child, Adult, and Aging Developmental Centre at San Raffaele Pisana Clinic, and then was appointed its founding director. He also held various appointments at universities in Rome and was also a research associate at the New York State Institute for Basic Research in Developmental Disabilities on Staten Island, New York, in the United States. He was the author or co-author on numerous journal articles, books, and book chapters, as well as a highly regarded lecturer and presenter at international meetings. He was the consummate networker, creating an informal collegium of friends, professional colleagues, and grateful families from across Italy as well as the world.

His relationship with the Association was always of an innovator and at times of benefactor. While serving on Council, he originated the development of the Association's primary journal, the *Journal of Policy and Practice in Intellectual Disabilities* (see Janicki, 2004), making the plea that the Association needed to fill the literary void for a journal that dwelt on translational research, public policy, and intervention and program practices, an area not generally found in other key journals in the intellectual disability field. To ensure its success, his organization devoted considerable financial support to the Association for the first 5 years and became a part owner of the Journal. While on Council, he also proposed that the Association create a mechanism for the education and training of personnel across the world in research and practice aspects related to intellectual and developmental disabilities. Thus, after a feasibility study, in 2006 was born the International Association for the Scientific Study of Intellectual and Developmental Disabilities (IASSIDD) Academy on Education, Teaching, and Research, which first under the leadership of Professor Roy I. Brown, and subsequently under the leadership of Prof. Ivan Brown, now has worldwide respect and impact. Dr. Albertini also recognized that as organizations, evolve they must relate more effectively to their mission and constituencies; thus, he also proposed to Council the renaming of the Association (to add developmental disabilities to its name), a motion which was passed at its 2014 meeting in Halifax, Canada. Dr. Albertini was also an integral member of the Aging and Down Syndrome SIRGs.

Dr. Albertini was a valued colleague, warm in spirit, and always welcoming. He was a champion and personal advocate to the many families that came to his clinic and private practice, and was always greatly respected. His phone was always busy with calls from parents and other family members conferring

with him about their situations and the outcomes of the clinic's evaluations and interventions. His funeral, which closely followed his death, was noteworthy—A close colleague, Dr. Fabrizio Fea, wrote: "*The church was packed with his clients, young and old, and their families, colleagues, and friends. Many speakers addressed lovely words to him during the service. At the end, out of the church, a huge number of blue balloons were let to fly into the sky. Terribly sad, but everything underlined the high tribute paid to his life, work, and that of a great and respected human being. Giorgio and I did enjoy so much working together on several topics, always pursuing the best quality of life for our clients as the main goal. Moreover, during several meetings in which we were together, we used to refer to IASSIDD as one of our best worldwide common associations. I will really miss a great friend.*"

IASSIDD President, Dr. Philip W. Davidson, noted "*Those who knew him or of him will miss his energy, devotion and gentle manner, his tenacity in pursuing ideas he believed in, and, above all his kindness and generosity. This is a very sad day for IASSIDD, and for people with disabilities and their families who were always Giorgio's highest priority.*" We all echo Dr. Davidson's words.

In closing, a personal observation. I met Giorgio in the early 1990s, when I got a call from a colleague, Dr. Henryk Wisniewski, in New York, who was also a friend of Giorgio's ... asking whether I would go to Rome to be part of a seminar that Giorgio was organizing at the Vatican hospital where he worked. That was my first time meeting Giorgio, but our friendship blossomed,

and I was involved with many events he organized and was able to reciprocate with involving Giorgio in events I organized or was involved with in the United States (and elsewhere). We stayed at each other's homes, and met each other's families. I enjoyed my times in Rome and Giorgio enjoyed his times in New York. We worked on common efforts, including getting the IASSIDD journal off the ground, organizing the IASSIDD Academy, and helping develop the Association's focus on aging, and more recently, on aging neuropathologies. My last meeting with Giorgio was on December 3, 2016 when I was in Rome and was invited to have dinner with him and his family at his daughter's home. He was ill at the time, yet was as always, gracious and sharing. I think we both saw this as the final time we would meet. He is missed; his life had great value and his contributions will live on.

Matthew P. Janicki, PhD

Department of Health and Human Development,  
University of Illinois at Chicago, Chicago, IL, USA

#### Reference

- Janicki, M. P. (2004). Editorial: The genesis of JPPID. *Journal of Policy and Practice in Intellectual Disabilities*, 1, 55.



## ATTIVITA' SCIENTIFICA

---



*COMITATO SCIENTIFICO IRCCS SAN RAFFAELE PISANA*

*Presidente: Enrico Garaci*

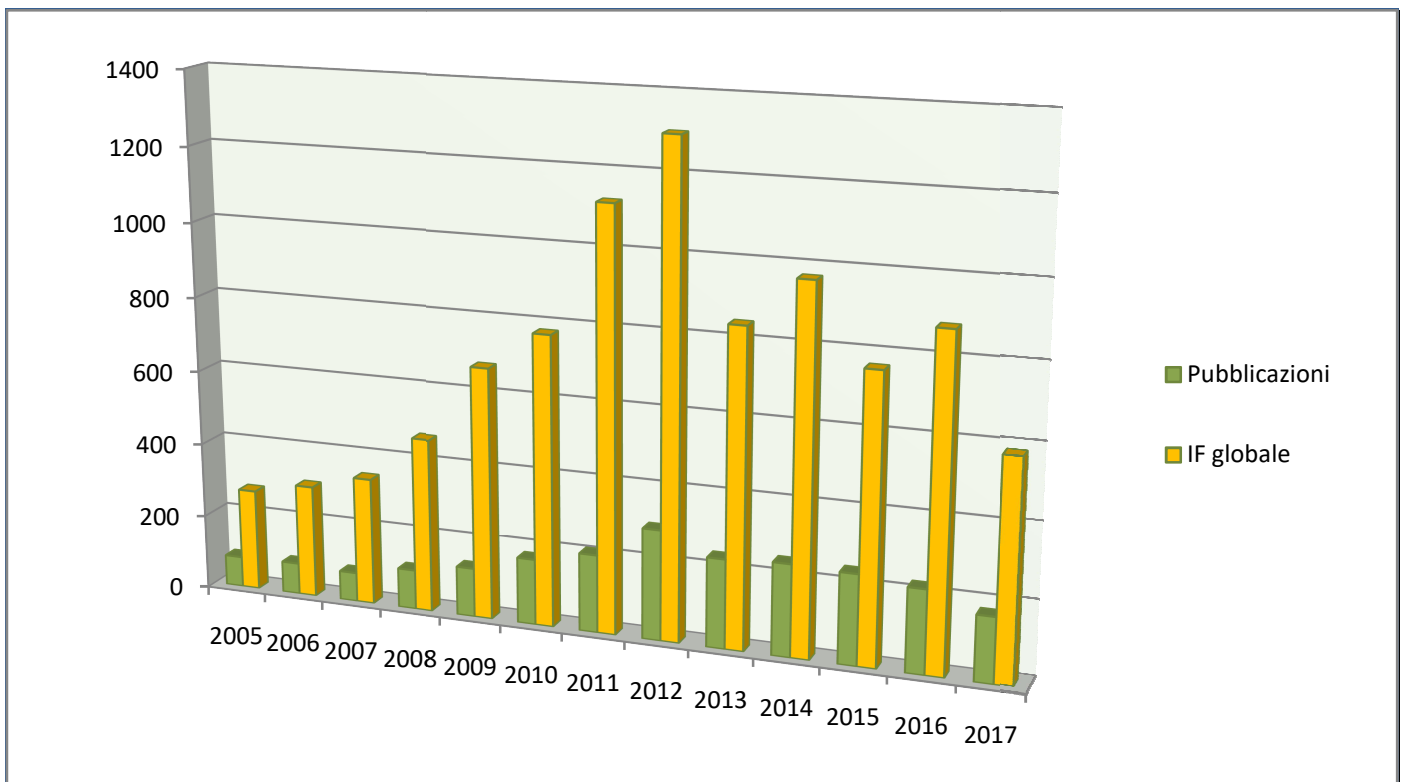
Giorgio Albertini	Direttore del Dipartimento Disabilità dello Sviluppo Motorie e Sensoriali, IRCCS San Raffaele Pisana
Lucio Annunziato	Professore Ordinario di Farmacologia, Università di Napoli “Federico II”
Massimo Fini	Direttore Scientifico IRCCS San Raffaele Pisana
Marco Franceschini	Coordinatore Clinico Riabilitazione Neuromotoria, IRCCS San Raffaele Pisana
Fiorella Guadagni	Coordinatore Scientifico Biobanca Interistituzionale Multidisciplinare Biobank (BioBIM), IRCCS San Raffaele Pisana e BioDat
Vincenzo Mollace	Professore Ordinario di Farmacologia, Università degli Studi “Magna Graecia” di Catanzaro
Giovanni Muto	Direttore della Struttura Complessa di Urologia dell’Ospedale San Giovanni Bosco, Torino
Giuseppe Novelli	Rettore Università degli Studi di Roma “ Tor Vergata”
Anna Teresa Palamara	Professore Ordinario di Farmacia e Medicina, Università “Sapienza” di Roma
Giuseppe Rotilio	Esperto di Nutrizione
Matteo Antonio Russo	Responsabile Laboratori di Ricerca di base, IRCCS San Raffaele Pisana
Natale Santucci	Direttore Medico Aziendale Gruppo San Raffaele
Fabrizio Stocchi	Responsabile del Centro per la Cura e la Diagnosi del Parkinson, IRCCS San Raffaele Pisana
Maurizio Volterrani	Responsabile dell'Unità Operativa di Riabilitazione Cardiologica IRCCS San Raffaele Pisana

Nel 2017 l'attività scientifica dell'IRCCS San Raffaele è documentata da 210 pubblicazioni, che comprendono:

- 174 articoli originali su riviste recensite dal JCR
- 30 articoli originali su riviste non recensite dal JCR
- 6 libri e/o capitoli di libri

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

L'impact factor totale per gli articoli pubblicati nel 2017 è 581.



*Impact Factor totale degli articoli pubblicati dall' IRCCS San Raffaele Pisana nel periodo 2005-2017*



**AREA RIABILITAZIONE NEUROMOTORIA**

Aprile I, Iacovelli C, Padua L, Galafate D, Criscuolo S, Gabbani D, Cruciani A, Germanotta M, Di Sipio E, De Pisi F, Franceschini M.

**Efficacy of robotic-assisted gait training in chronic stroke patients: preliminary results of an Italian bi-centre study.**

NeuroRehabilitation. 2017;41(4):775-782.

Ferro S, Cecconi L, Bonavita J, Pagliacci MC, Biggeri A, Franceschini M.

**Incidence of traumatic spinal cord injury in Italy during 2013-2014: a population-based study.**

Spinal Cord. 2017 Sep 5 [Epub ahead of print].

Mazzoleni S, Focacci A, Franceschini M, Waldner A, Spagnuolo C, Battini E, Bonaiuti D.

**Robot-assisted end-effector-based gait training in chronic stroke patients: A multicentric uncontrolled observational retrospective clinical study.**

NeuroRehabilitation 2017;40(4):483-492.

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

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

Neurobiol Aging 2017;49: 20-30.

**Area Parkinson e Disturbi del Movimento**

Andreoni M, Mussi C, Bellagamba R, Di Campli F, Montinaro V, Babiloni C.

**Biomarkers of monitoring and functional reserve of physiological systems over time in HIV: expert opinions for effective secondary prevention.**

New Microbiol. 2017 Oct 10;40(4). [Epub ahead of print]

Babiloni C, Del Percio C, Lizio R, Noce G, Cordone S, Lopez S, Soricelli A, Ferri R, Pascarelli MT, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Aarsland D, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Onofrj M, Stocchi F, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Caravias G, Garn H, Sorpresi F, Pievani M, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Başar E, Yener G, Emek-Savaş DD, Triggiani AI, Franciotti R, Frisoni GB, Bonanni L, De Pandis MF.

**Abnormalities of cortical neural synchronization mechanisms in subjects with mild cognitive impairment due to Alzheimer's and Parkinson's Diseases: an EEG Study.**

J Alzheimers Dis. 2017;59(1):339-358.

Babiloni C, Del Percio C, Lizio R, Noce G, Cordone S, Lopez S, Soricelli A, Ferri R, Pascarelli MT, Nobili F, Arnaldi D, Aarsland D, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Onofrj M, Stocchi F, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Caravias G, Garn H, Sorpresi F, Pievani M, Frisoni GB, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Başar E, Yener G, Emek-Savaş DD, Triggiani AI, Franciotti R, De Pandis MF, Bonanni L.

**Abnormalities of cortical neural synchronization mechanisms in patients with dementia due to Alzheimer's and Lewy body diseases: an EEG study.**

Neurobiol Aging. 2017 Jul;55:143-158.

Isaacson S, Eggert K, Kumar R, **Stocchi F**, Mori A, Ohta E, Toyama K, Spence G, Clark G, Cantillon M.

**Efficacy and safety of istradefylline in moderate to severe Parkinson's disease: A phase 3, multinational, randomized, double-blind, placebo-controlled trial (i-step study).**

J Neurol Sci. 2017 10/15;381, Supplement:351-352.

Kleiner A, Galli M, Franceschini M, De Pandis MF, Stocchi F, Albertini G, de Barros RM.

**The coefficient of friction in Parkinson's disease gait.**

Funct Neurol. 2017 Jan/Mar;32(1):17-22.

Kleiner AFR, Pagnussat AS, Prisco GD, Vagnini A, Stocchi F, De Pandis MF, Galli M.

**Analyzing gait variability and dual-task interference in patients with Parkinson's disease and freezing by means of the word-color Stroop test.**

Aging Clin Exp Res. 2017 Dec 2. doi: 10. [Epub ahead of print]

Lees AJ, Ferreira J, Rascol O, Reichmann H, Stocchi F, Tolosa E, Poewe W.

**Opicapone for the management of end-of-dose motor fluctuations in patients with Parkinson's disease treated with L-DOPA.**

Expert Rev Neurother. 2017 Jul;17(7):649-659.

Nicoletti A, Mostile G, Stocchi F, Abbruzzese G, Ceravolo R, Cortelli P, D'Amelio M, De Pandis MF, Fabbrini G, Pacchetti C, Pezzoli G, Tessitore A, Canesi M, Zappia M.

**Factors influencing psychological well-being in patients with Parkinson's disease.**

PLoS One. 2017 Dec 15;12(12):e0189682.

Olanow CW, Stocchi F.

**Levodopa: A new look at an old friend.**

Mov Disord. 2017 Nov 27. [Epub ahead of print]

Quadri M, Breedveld GJ, Chang HC, Yeh TH, Guedes LC, Toni V, Fabrizio E, De Mari M, Thomas A, Tassorelli C, Rood JP, Saddi V, Chien HF, Kievit AJ, Boon AJ, Stocchi F, Lopiano L, Abbruzzese G, Cortelli P, Meco G, Cossu G, Barbosa ER, Ferreira JJ; International Parkinsonism Genetics Network, Lu CS, Bonifati V.

**Mutations in TMEM230 are not a common cause of Parkinson's disease.**

Mov Disord. 2017 Feb;32(2):302-304.

Radicati FG, Martinez Martin P, Fossati C, Chaudhuri KR, Torti M, Rodriguez Blazquez C, Vacca L, Stocchi F.

**Non motor symptoms in progressive supranuclear palsy: prevalence and severity.**

NPJ Parkinsons Dis. 2017 Dec 8;3:35. eCollection 2017.

Stocchi F, Radicati FG, Chaudhuri KR, Johansson A, Padmakumar C, Falup-Pecurariu C, Martinez Martin P.

**The Parkinson's Disease Composite Scale: Results of the first validation study.**

Eur J Neurol. 2017 Nov 29. doi: 10.1111/ene.13529. [Epub ahead of print]

Stocchi F, Rascol O, Hauser RA, Huyck S, Tzontcheva A, Capece R, Ho TW, Sklar P, Lines C, Michelson D, Hewitt DJ; Preladenant Early Parkinson Disease Study Group.

**Randomized trial of preladenant, given as monotherapy, in patients with early Parkinson disease.**

Neurology. 2017 Jun 6;88(23):2198-2206.

Stocchi F, Torti M.

**Constipation in Parkinson's Disease.**

Int Rev Neurobiol. 2017;134:811-826.

Triggiani AI, Bevilacqua V, Brunetti A, Lizio R, Tattoli G, Cassano F, Soricelli A, Ferri R, Nobili F, Gesualdo L, Barulli MR, Tortelli R, Cardinali V, Giannini A, Spagnolo P, Armenise S, Stocchi F, Buenza G, Scianatico G, Logroscino G, Lacidogna G, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Del Percio C, Frisoni GB, Babiloni C.

**Classification of healthy subjects and Alzheimer's disease patients with dementia from cortical sources of resting state EEG rhythms: a study using artificial neural networks.**

Front Neurosci. 2017 Jan 26;10:604.

### **Area Cefalee e dolore neuropatico**

Barbanti P, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, Palmirota R.

**Serotonin receptor targeted therapy for migraine treatment: an overview of drugs in phase I and II clinical development.**

Expert Opin Investig Drugs. 2017 Mar;26(3):269-277.

Barbanti P, Aurilia C, Fofi L, Egeo G, Ferroni P.

**The role of anti-CGRP antibodies in the pathophysiology of primary headaches.**

Neurol Sci. 2017 May;38(Suppl 1):31-35.

Barbanti P, Ferroni P.

**Onabotulinum toxin A in the treatment of chronic migraine: patient selection and special considerations.**

J Pain Res. 2017 Sep 29;10:2319-2329.

Barbanti P, Fofi L, Aurilia C, Egeo G, Caprio M.

**Ketogenic diet in migraine: rationale, findings and perspectives.**

Neurol Sci. 2017 May;38(Suppl 1):111-115.

Ferroni P, Barbanti P, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, La Farina F, Valente MG, De Marchis ML, Spila A, Palmirota R, Della-Morte D, Guadagni F.

**Procoagulant imbalance in premenopausal women with chronic migraine.**

Neurology. 2017 Oct 3;89(14):1525-1527.

Ferroni P, Barbanti P, Della-Morte D, Palmirota R, Jirillo E, Guadagni F.

**Redox mechanisms in migraine: novel therapeutics and dietary interventions.**

Antioxid Redox Signal. 2017 Oct 7. doi: 10.1089/ars.2017.7260. [Epub ahead of print]

Grazzi L, Egeo G, Liebler E, Padovan AM, Barbanti P.

**Non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS) as symptomatic treatment of migraine in young patients: a preliminary safety study.**

Neurol Sci. 2017 May;38(Suppl 1):197-199.

### **Laboratorio di Elettrofisiologia**

Palma E, Ruffolo G, Cifelli P, Roseti C, van Vliet EA, Aronica E.

**Modulation of GABAA receptors in the treatment of epilepsy.**

Curr Pharm Des. 2017 Aug 9. doi: 10.2174/1381612823666170809100230. [Epub ahead of print]

### **Laboratorio Biochimica dell'Invecchiamento e Nutrizione**

Ciccarone F, Vegliante R, Leo LD, Ciriolo MR.

**The TCA cycle as a bridge between oncometabolism and DNA transactions in cancer.**

Semin Cancer Biol. 2017 Dec;47:50-56.

Lettieri-Barbato D, D'Angelo F, Sciarretta F, Tatulli G, Tortolici F, Ciriolo MR, Aquilano K.  
**Maternal high calorie diet induces mitochondrial dysfunction and senescence phenotype in subcutaneous fat of newborn mice.**  
Oncotarget. 2017 Aug 4;8(48):83407-83418.

### **Laboratorio di Neurofisiologia e di Brain Connectivity**

Babiloni C, Del Percio C, Lopez S, Di Gennaro G, Quarato PP, Pavone L, Morace R, Soricelli A, Noce G, Esposito V, Gallese V, Mirabella G.  
**Frontal functional connectivity of electrocorticographic delta and Theta rhythms during action execution versus action observation in humans.**  
Front Behav Neurosci. 2017 Feb 7;11:20.

Brueggen K, Fiala C, Berger C, Ochmann S, Babiloni C, Teipel SJ.  
**Early changes in alpha band power and DMN BOLD activity in Alzheimer's disease: A simultaneous resting state EEG-fMRI study.**  
Frontiers in Aging Neuroscience. 2017;9:319. eCollection 2017.

Caliandro P, Iacovelli C, Conte C, Simbolotti C, Rossini PM, Padua L, Casali C, Pierelli F, Reale G, Serrao M.  
**Trunk-lower limb coordination pattern during gait in patients with ataxia.**  
Gait Posture. 2017 Jun 27;57:252-257.

Caliandro P, Reale G, Vecchio F, Iacovelli C, Miraglia F, Masi G, Rossini PM.  
**Defining a functional network homeostasis after stroke: EEG-based approach is complementary to functional MRI.**  
Brain. 2017 Dec 1;140(12):e71.

Caliandro P, Vecchio F, Miraglia F, Reale G, Della Marca G, La Torre G, Lacidogna G, Iacovelli C, Padua L, Bramanti P, Rossini PM.  
**Small-World Characteristics of Cortical Connectivity Changes in Acute Stroke.**  
Neurorehabil Neural Repair. 2017 Jan;31(1):81-94.

D'Atri A, Romano C, Gorgoni M, Scarpelli S, Alfonsi V, Ferrara M, Ferlazzo F, Rossini PM, De Gennaro L.  
**Bilateral 5 Hz transcranial alternating current stimulation on fronto-temporal areas modulates resting-state EEG.**  
Sci Rep. 2017 Nov 15;7(1):15672.

De Gennaro L, Gorgoni M, Reda F, Lauri G, Truglia I, Cordone S, Scarpelli S, Mangiaruga A, D'atri A, Lacidogna G, Ferrara M, Marra C, Rossini PM.  
**The fall of sleep K-complex in Alzheimer Disease.**  
Sci Rep. 2017 Jan 3;7:39688.

Del Percio C, Drinkenburg W, Lopez S, Limatola C, Bastlund JF, Christensen DZ, Pedersen JT, Forloni G, Frasca A, Noè FM, Bentivoglio M, Fabene PF, Bertini G, Colavito V, Dix S, Ferri R, Bordet R, Richardso JC, Babiloni C.  
**Ongoing electroencephalographic activity associated with cortical arousal in transgenic PDAPP mice (hAPP V717F).**  
Curr Alzheimer Res. 2018;15(3):259-272.

- Ferreri F, Vecchio F, Guerra A, Miraglia F, Ponzo D, Vollero L, Iannello G, Maatta S, Mervaala E, Rossini PM, Di Lazzaro V.  
**Age related differences in functional synchronization of EEG activity as evaluated by means of TMS-EEG coreregistrations.**  
Neurosci Lett. 2017 Mar 18;647:141-146.
- Hallett M, Di Iorio R, Rossini PM, Park JE, Chen R, Celnik P, Strafella AP, Matsumoto H, Ugawa Y.  
**Contribution of transcranial magnetic stimulation to assessment of brain connectivity and networks.**  
Clin Neurophysiol. 2017 Sep 5;128(11):2125-2139.
- Lopez S, Bini F, Del Percio C, Marinozzi F, Celletti C, Suppa A, Ferri R, Staltari E, Camerota F, Babiloni C.  
**Electroencephalographic sensorimotor rhythms are modulated in the acute phase following focal vibration in healthy subjects.**  
Neuroscience. 2017 Jun 3;352:236-248.
- Miraglia F, Vecchio F, Rossini PM.  
**Searching for signs of aging and dementia in EEG through network analysis.**  
Behav Brain Res. 2017 Jan 15;317:292-300.
- Nathan PJ, Lim YY, Abbott R, Galluzzi S, Marizzoni M, **Babiloni C**, Albani D, Bartres-Faz D, Didic M, Farotti L, Parnetti L, Salvadori N, Müller BW, Forloni G, Girtler N, Hensch T, Jovicich J, Leeuwis A, Marra C, Molinuevo JL, Nobili F, Pariente J, Payoux P, Ranjeva JP, Rolandi E, Rossini PM, Schönknecht P, Soricelli A, Tsolaki M, Visser PJ, Wiltfang J, Richardson JC, Bordet R, Blin O, Frisoni GB; PharmaCog Consortium.  
**Association between CSF biomarkers, hippocampal volume and cognitive function in patients with amnesic mild cognitive impairment (MCI).**  
Neurobiol Aging. 2017 Jan 18;53:1-10.
- Reda F, Gorgoni M, Lauri G, Truglia I, Cordone S, Scarpelli S, Mangiaruga A, D'Atri A, Ferrara M, Lacidogna G, Marra C, Rossini PM, De Gennaro L.  
**In search of sleep biomarkers of Alzheimer's disease: K-complexes do not discriminate between patients with mild cognitive impairment and healthy controls.**  
Brain Sci. 2017 Apr 29;7(5).
- Serino S, Barello S, Miraglia F, Triberti S, Repetto C.  
**Virtual reality as a potential tool to face frailty challenges.**  
Front Psychol. 2017 Sep 5;8:1541. eCollection 2017
- Vecchio F, Miraglia F, Gorgoni M, Ferrara M, Iberite F, Bramanti P, De Gennaro L, Rossini PM.  
**Cortical connectivity modulation during sleep onset: A study via graph theory on EEG data.**  
Hum Brain Mapp. 2017 Nov;38(11):5456-5464.
- Vecchio F, Miraglia F, Piludu F, Granata G, Romanello R, Caulo M, Onofri V, Bramanti P, Colosimo C, Rossini PM.  
**"Small World" architecture in brain connectivity and hippocampal volume in Alzheimer's disease: a study via graph theory from EEG data.**  
Brain Imaging Behav. 2017 Apr;11(2):473-485.
- Vecchio F, Miraglia F, Porcaro C, Cottone C, Cancelli A, Rossini PM, Tecchio F.

**Electroencephalography-Derived Sensory and Motor Network Topology in Multiple Sclerosis Fatigue.**

Neurorehabil Neural Repair. 2017 Jan;31(1):56-64.

Vecchio F, Miraglia F, Romano A, Bramanti P, Rossini PM.

**Small world brain network characteristics during EEG Holter recording of a stroke event.**

Clin Neurophysiol. 2017 Jan;128(1):1-3.

Vecchio F, Miraglia F, Rossini PM.

**Connectome: Graph theory application on functional brain networks architecture.**

Clinical Neurophysiology Practice. 2017 10/24 Epub ahead of print]

**AREA DI RICERCA DI RIABILITAZIONE CARDIOVASCOLARE**

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

**ESC working group position paper on myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries.**

Eur Heart J. 2017 Jan 14;38(3):143-153.

Annino G, Iellamo F, Palazzo F, Fusco A, Lombardo M, Campoli F, Padua E.

**Acute changes in neuromuscular activity in vertical jump and flexibility after exposure to whole body vibration.**

Medicine (Baltimore). 2017 Aug;96(33):e7629.

Annino G, Palazzo F, Alwardat M, Manzi V, Lebone P, Tancredi V, Sinibaldi Salimei P, Caronti A, Panzarino M, Padua E.

**Effects of long term stimulation of textured insoles on postural control in health elderly.**

J Sports Med Phys Fitness. 2016 Sep 15. [Epub ahead of print]

Annino G, Ruscello B, Lebone P, Palazzo F, Lombardo M, Padua E, Verdecchia L, Tancredi V, Iellamo F.

**Acute effects of static and dynamic stretching on jump performance after 15 min of reconditioning shooting phase in basketball players.**

J Sports Med Phys Fitness. 2017 Apr;57(4):330-337.

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

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

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

Armani A, Berry A, Cirulli F, Caprio M.

**Molecular mechanisms underlying metabolic syndrome: the expanding role of the adipocyte.**FASEB J. 2017 Oct;31(10):4240-4255.

Bellia A, Iellamo F, De Carli E, Andreadi A, Padua E, Lombardo M, Annino G, Campoli F, Tartaglione S, D'Ottavio S, Della-Morte D, Lauro D.

**Exercise individualized by TRIMPI method reduces arterial stiffness in early onset type 2 diabetic patients: A randomized controlled trial with aerobic interval training.**

Int J Cardiol. 2017 Dec 1; 248:314-319.

Bernocchi P, Vitacca M, La Rovere MT, Volterrani M, Galli T, Baratti D, Paneroni M, Campolongo G, Sposato B, Scalvini S.

**Home-based telerehabilitation in older patients with chronic obstructive pulmonary disease and heart failure: a randomised controlled trial.**

Age Ageing. 2017 Aug 30;1-7.

Bianchi M, Renzini A, Adamo S, Moresi V.

**Coordinated actions of MicroRNAs with other epigenetic factors regulate skeletal muscle development and adaptation.**

Int J Mol Sci. 2017 Apr 15;18(4).

Coats AJS.

**Cachexia therapies - the need to take a broader look.**

Expert Opin Biol Ther. 2017 Oct 6:1-2.

Coats AJ, Rosano G.

**Foreword.**

Card Fail Rev. 2017 Apr;3(1):5-6.

Caminiti G, Cacciapuoti F, Fossati C, Battaglia D, Punzo N, Volterrani M.

**Heart rate control in non-paroxysmal atrial fibrillation. A new indication for ivabradine?**

Journal of Cardiology and Therapy. 2017;4(3):671-675.

Cangemi R, Romiti GF, Campolongo G, Ruscio E, Sciomer S, Gianfrilli D, Raparelli V.

**Gender related differences in treatment and response to statins in primary and secondary cardiovascular prevention: the never-ending debate.**

Pharmacol Res. 2017 Dec 21;117:148-155.

Cazzola M, Calzetta L, Rinaldi B, Page C, Rosano G, Rogliani P, Matera MG.

**Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Patients with Cardiovascular Diseases.**

Drugs. 2017 May;77(7):721-732.

Cimmaruta D, Lombardi N, Borghi C, Rosano G, Rossi F, Mugelli A.

**Polypill, hypertension and medication adherence: The solution strategy?**

Int J Cardiol. 2017 Nov 23. Epub 2017 Nov 23.

Cleland JGF, Bunting KV, Flather MD, Altman DG, Holmes J, Coats AJS, Manzano L, McMurray JJV, Ruschitzka F, van Veldhuisen DJ, von Lueder TG, Böhm M, Andersson B, Kjekshus J, Packer M, Rigby AS, Rosano G, Wedel H, Hjalmarson Å, Wikstrand J, Kotecha D.

**Beta-blockers for heart failure with reduced, mid-range, and preserved ejection fraction: an individual patient-level analysis of double-blind randomized trials.**

Eur Heart J. 2017 Oct 10. [Epub ahead of print]

Cowie MR, Filippatos GS, Alonso Garcia MLA, Anker SD, Baczynska A, Bloomfield DM, Borentain M, Bruins Slot K, Cronin M, Doevendans PA, El-Gazayerly A, Gimpelewicz C, Honarpour N, Janmohamed S, Janssen H, Kim AM, Lautsch D, Laws I, Lefkowitz M, Lopez-Sendon J, Lyon AR, Malik FI, McMurray JJV, Metra M, Figueroa Perez S, Pfeffer MA, Pocock SJ, Ponikowski P, Prasad K, Richard-Lordereau I, Roessig L, **Rosano GMC**, Sherman W, Stough WG, Swedberg K, Tyl B, Zannad F, Boulton C, De Graeff P.

**New medicinal products for chronic heart failure: advances in clinical trial design and efficacy assessment.**

Eur J Heart Fail. 2017 Jun;19(6):718-727.



Di Daniele N, Fegatelli DA, Rovella V, Castagnola V, Gabriele M, Scuteri A.  
**Circadian blood pressure patterns and blood pressure control in patients with chronic kidney disease.**

Atherosclerosis. 2017 Oct 26;267:139-145.

Doehner W, Ural D, Haeusler KG, Čelutkienė J, Bestetti R, Cavusoglu Y, Peña-Duque MA, Glavas D, Iacoviello M, Laufs U, Alvear RM, Mbakwem A, Piepoli MF, Rosen SD, Tsivgoulis G, Vitale C, Yilmaz MB, Anker SD, Filippatos G, Seferovic P, Coats AJS, Ruschitzka F.

**Heart and brain interaction in patients with heart failure: overview and proposal for a taxonomy. A position paper from the Study Group on Heart and Brain Interaction of the Heart Failure Association.**

Eur J Heart Fail. 2017 Dec 27. [Epub ahead of print]

Doytcheva P, Bächler T, Tarasco E, Marzolla V, Engeli M, Pellegrini G, Stivala S, Rohrer L, Tona F, Camici GG, Vanhoutte PM, Matter CM, Lutz TA, Lüscher TF, Osto E.

**Inhibition of vascular c-Jun N-Terminal Kinase 2 improves obesity-induced endothelial dysfunction after Roux-en-Y Gastric bypass.**

J Am Heart Assoc. 2017 Nov 14;6(11).

Falk V, Baumgartner H, Bax JJ, De Bonis M, Hamm C, Holm PJ, Iung B, Lancellotti P, Lansac E, Muñoz DR, Rosenhek R, Sjögren J, Tornos Mas P, Vahanian A, Walther T, Wendler O, Windecker S, Zamorano JL; ESC Scientific Document Group.

**2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease.**

Eur J Cardiothorac Surg. 2017 Oct 1;52(4):616-664.

Ferrari R, Camici PG, Crea F, Danchin N, Fox K, Maggioni AP, Manolis AJ, Marzilli M, Rosano GMC, Lopez-Sendon JL.

**Expert consensus document: A ‘diamond’ approach to personalized treatment of angina.**

Nat Rev Cardiol. 2017 Sep 7. [Epub ahead of print] Review.

Filippatos GS, de Graeff P, Bax JJ, Borg JJ, Cleland JG, Dargie HJ, Flather M, Ford I, Friede T, Greenberg B, Henon-Goburdhun C, Holcomb R, Horst B, Lekakis J, Mueller-Velten G, Papavassiliou AG, Prasad K, Rosano GM, Severin T, Sherman W, Stough WG, Swedberg K, Tavazzi L, Tousoulis D, Vardas P, Ruschitzka F, Anker SD.

**Independent academic Data Monitoring Committees for clinical trials in cardiovascular and cardiometabolic diseases.**

Eur J Heart Fail. 2017 Apr;19(4):449-456. Epub 2017 Mar 8.

Fossati C, Volterrani M, Punzo N, Campolongo G, Cascelli G, Caminiti G.

**Dose-dependent effects of ivabradine on heart rate during maximal efforts in a woman with permanent atrial fibrillation.**

Int J Cardiol. 2017 Nov 15;247:37.

Franconi F, Rosano G, Basili S, Montella A, Campesi I.

**Human cells involved in atherosclerosis have a sex.**

Int J Cardiol. 2017 Feb 1;228:983-1001.

Gatta L, Vitiello L, Gorini S, Chiandotto S, Costelli P, Giammarioli AM, Malorni W, Rosano R and Ferraro E.

**Modulating the metabolism by trimetazidine enhances myoblast differentiation and promotes myogenesis in cachectic tumor-bearing C26 mice.**

Oncotarget. 2017 Dec 8;8(69):113938-113956.

Gori M, Volterrani M, Piepoli M, Senni M.

**Angiotensin receptor-neprilysin inhibitor (ARNi): Clinical studies on a new class of drugs.**

Int J Cardiol. 2017 Jan 1;226:136-140.

Iellamo F, Volterrani M.

**Letter by Iellamo and Volterrani Regarding Article, “High-Intensity Interval Training in Patients With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction”.**

Circulation. 2017 Aug 8;136(6):605-606.

Iellamo F, Werdan K, Narkiewicz K, Rosano G, Volterrani M.

**Practical applications for single pill combinations in the cardiovascular continuum.**

Card Fail Rev. 2017 Apr;3(1):40-45.

Infante M, Armani A, Mammi C, Fabbri A, Caprio M.

**Impact of adrenal steroids on regulation of adipose tissue.**

Compr Physiol. 2017 Sep 12;7(4):1425-1447.

Kotecha D, Altman DG, Rosano G, Flather MD.

**Observational versus randomized: sliding toward nonevidence-based medicine.**

JACC Heart Fail. 2017 May;5(5):395-396.

Kotecha D, Flather MD, Altman DG, Holmes J, **Rosano G**, Wikstrand J, Packer M, Coats AJS, Manzano L, Böhm M, van Veldhuisen DJ, Andersson B, Wedel H, von Lueder TG, Rigby AS, Hjalmarson Å, Kjekshus J, Cleland JGF; Beta-Blockers in Heart Failure Collaborative Group.

**Heart rate and rhythm and the benefit of beta-blockers in patients with heart failure.**

J Am Coll Cardiol. 2017 Jun 20;69(24):2885-2896.

Lombardo M, Magarotto R, Marinelli F, Padua E, Caprio M, Annino G, Bellia A, Iellamo F.

**Ideal reduction of calories for greatest reduction of body fat and maintenance of lean body mass.**

J Aging Res Clin Practice. 2017(6):62-67.

Lopatin Y, Rosano GMC.

**Treatment of patients in the vulnerable phase (at discharge or early after discharge).**

International Cardiovascular Forum Journal. 2017;10:37-40.

Malafoglia V, Celi M, Muscoli C, Ilari S, Lauro F, Giancotti LA, Morabito C, Feola M, Tarantino U, Raffaelli W.

**Lymphocyte opioid receptors as innovative biomarkers of osteoarthritic pain, for the assessment and risk management of opioid tailored therapy, before hip surgery, to prevent chronic pain and opioid tolerance/addiction development: OpMarkArt (Opioids-Markers-Arthroprosthesis) study protocol for a randomized controlled trial.**

Trials. 2017 Dec 19;18(1):605.

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

**Comparison of low-dose statin versus low-dose statin + srmolipid plus in high-Intensity statin-intolerant patients with a previous coronary event and percutaneous coronary intervention (ADHERENCE Trial).**

Am J Cardiol. 2017 Sep 15;120(6):893-897.

- Marzolla V, Armani A, Mammi C, Moss ME, Pagliarini V, Pontecorvo L, Antelmi A, Fabbri A, Rosano G, Jaffe IZ, Caprio M.  
**Essential role of ICAM-1 in aldosterone-induced atherosclerosis.**  
Int J Cardiol. 2017 Apr 1;232:233-242.
- Mascolo A, Sessa M, Scavone C, De Angelis A, Vitale C, Berrino L, Rossi F, Rosano G, Capuano A.  
**New and old roles of the peripheral and brain razil-angiotensin-aldosterone system (RAAS): focus on cardiovascular and neurological diseases.**  
Int J Cardiol. 2017 Jan 15;227:734-742.
- Milinković I, Coats AJ, Rosano G, Lopatin Y, Seferović PM.  
**Clinical benefits of treating angina directly at the cardiac cell level with trimetazidine.**  
Heart Metab. 2017;72:25-31.
- Molinari F, Pin F, Gorini S, Chiandotto S, Pontecorvo L, Penna F, Rizzuto E, Pisu S, Musarò A, Costelli P, Rosano G, Ferraro E.  
**The mitochondrial metabolic reprogramming agent trimetazidine as an ‘exercise mimetic’ in cachectic C26-bearing mice.**  
J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2017 Dec;8(6):954-973.
- Mollace V, Rosano G, Malara N, Di Fabrizio E, Vitale C, Coluccio M, Maiuolo J, Ali Wasti A, Muscoli C, Gliozzi M, Mollace R, Musolino V, Carresi C, Fini M, Silvestrini B.  
**Aspirin wears smart.**  
Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2017 Oct 1;3(4):185-188.
- Musolino V, Gliozzi M, Carresi C, Maiuolo J, Mollace R, Bosco F, Scarano F, Scicchitano M, Maretta A, Palma E, Iannone M, Morittu VM, Gratteri S, **Muscoli C, Fini M, Mollace V.**  
**Lipid-lowering effect of bergamot polyphenolic fraction: role of pancreatic cholesterol ester hydrolase.**  
J Biol Regul Homeost Agents. 2017 Oct-Dec;31(4):1087-1093.
- Niessner A, Tamargo J, Koller L, Saely CH, Schmidt TA, Savarese G, Wassmann S, **Rosano G,** Ceconi C, Torp-Pedersen C, Kaski JC, Kjeldsen KP, Agewall S, Walther T, Drexel H, Lewis BS.  
**Non-insulin antidiabetic pharmacotherapy in patients with established cardiovascular disease: a position paper of the European Society of Cardiology Working Group on cardiovascular pharmacotherapy.**  
Eur Heart J. 2017 Nov 8.
- Padua E, Campoli F, Manzi V, Panzarino M, Lombardo M, Melchiorri G, Tancredi V, Lebone P, Palazzo F, Annino G.  
**Water versus land-based exercises as physical training programs in elderly.**  
J Sports Med Phys Fitness. 2017 May 9 [Epub ahead of print].
- Pelliccia F, Pasceri V, Marazzi G, Arrivi A, Cacciotti L, Pannarale G, Speciale G, Greco C, Gaudio C.  
**Randomised, double-blind, placebo-controlled, assessment of the efficacy and safety of dietary supplements in prehypertension.**  
J Hum Hypertens. 2017 Oct;31(10):647-653.
- Polovina M, Đikić D, Vlajković A, Vilotijević M, Milinković I, Ašanin M, Ostojić M, Coats AJS, Seferović PM.

**Adverse cardiovascular outcomes in atrial fibrillation: Validation of the new 2MACE risk score.**

Int J Cardiol. 2017 Dec 15;249:191-197.

Rosano GMC.

**HFA Congress 2017: The Congress of the Heart Failure Association of the ESC: a continuous success story, the result of a long-term vision.**

Eur Heart J. 2017 Nov 1;38(41):3042-3043.

Rosano GMC.

**Medical treatment of heart failure with reduced ejection fraction – prognostic indication.** International Cardiovascular Forum journal 2017;10:16-21.

Rosano GMC.

**Medical treatment of heart failure with reduced ejection fraction – aimed at reducing rehospitalisations.**

International Cardiovascular Forum Journal. 2017;10:29-33.

Rosano GMC.

**Valvular heart disease in heart failure.**

International Cardiovascular Forum Journal 2017;10:70-72.

Rosano GMC, Kaski JC.

**Reply to the letter from He et al. Is NPY causing myocardial ischemia in patients with microvascular angina associated with its abnormal constrictor response at the microcirculation level?**

Int J Cardiol. 2017 Nov 15;247:53.

Rosano GMC, Seferovic P, Farmakis D, Filippatos G.

**Renin inhibition in heart failure and diabetes: the real story.**

Eur J Heart Fail. 2017 Dec 22. [Epub ahead of print]

Rosano GM, Spoletini I, Gianni W, Vitale C.

**New advances in atrial fibrillation management: the role of Apixaban.**

Curr Drug Targets. 2017 Oct 12. [Epub ahead of print]

Rosano GM, Vitale C, Seferovic P.

**Heart Failure in Patients with Diabetes Mellitus.**

Card Fail Rev. 2017 Apr;3(1):52-55.

Schwartz JB, Rosano G, Channer KS.

**Letter to the Editor: “Effects of testosterone replacement on electrocardiographic parameters in men: findings from two randomized trials”.**

J Clin Endocrinol Metab. 2017 May 1;102(5):1787.

Rosano GM.

**The Heart Failure Association Congress confirms itself as the largest European Society of Cardiology sub-speciality congress.**

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2017 Jan;3(1):5-6.

Rosano GMC.

**HFA Congress 2017: the Congress of the Heart Failure Association of the ESC: a continuous success story, the result of a long-term vision.**

Eur Heart J. 2017 Nov 1;38(41):3042-3043.

Rosano GM, Spoletini I, Vitale C.

**Cardiovascular disease in women, is it different to men? The role of sex hormones.**

Climacteric. 2017 Apr;20(2):125-128.

Rosano GMC, Tousoulis D, McFadden E, Clarke J, Davies GJ, Kaski JC.

**Effects of neuropeptide Y on coronary artery vasomotion in patients with microvascular angina.**

Int J Cardiol. 2017 Jul 1;238:123-127.

Savarese G, Lund LH, Rosano GM.

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

Int J Cardiol. 2017 Jan 15;227:141-142.

Sbardella E, Isidori AM, Arnaldi G, Arosio M, Barone C, Benso A, Berardi R, Capasso G, Caprio M, Ceccato F, Corona G, Della Casa S, De Nicola L, Faustini-Fustini M, Fiaccadori E, Gesualdo L, Gori S, Lania A, Mantovani G, Menè P, Parenti G, Pinto C, Pivonello R, Razzore P, Regolisti G, Scaroni C, Trepiccione F, Lenzi A, Peri A; the Fluid and Electrolyte Disorders Club of the Italian Society of Endocrinology; Italian Society of Nephrology; and Italian Association of Medical Oncology.

**Approach to hyponatremia according to the clinical setting: Consensus statement from the Italian Society of Endocrinology (SIE), Italian Society of Nephrology (SIN), and Italian Association of Medical Oncology (AIOM).**

J Endocrinol Invest. 2017 Nov 20. [Epub ahead of print]

Sessa M, Mascolo A, Mortensen RN, Andersen MP, Rosano GMC, Capuano A, Rossi F, Gislason G, Enghusen-Poulsen H, Torp-Pedersen C.

**Relationship between heart failure, concurrent chronic obstructive pulmonary disease and beta-blocker use: a Danish nationwide cohort study.**

Eur J Heart Fail. 2017 Nov 20. [Epub ahead of print]

Tamargo J, Rosano G, Walther T, Duarte J, Niessner A, Kaski JC, Ceconi C, Drexel H, Kjeldsen K, Savarese G, Torp-Pedersen C, Atar D, Lewis BS, Agewall S.

**Gender differences in the effects of cardiovascular drugs.**

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2017 Jul 1;3(3):163-182.

Vitale C.

**How to approach heart failure disease in frail patients.**

Dialogues in Cardiovascular Medicine. 2017;22(1):34-35.

Spoletini I, Vitale C.

**Clinical diagnosis in heart failure.**

International Cardiovascular Forum journal 2017;10:12-15.

Vitale C, Fini M, Spoletini I, Lainscak M, Seferovic P, Rosano GM.

**Under-representation of elderly and women in clinical trials.**

Int J Cardiol. 2017 Apr 1;232:216-221.

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

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

Int J Cardiol 2017 Jan 15;227:217-221.

Vitale C, Rosano GMC.

**Medical treatment of heart failure with reduced ejection fraction – improving clinical status and functional capacity.**

International Cardiovascular Forum Journal 2017;10: 22-28.

Vonbank A, Agewall S, Kjeldsen KP, Lewis BS, Torp-Pedersen C, Ceconi C, Funck-Brentano C, Kaski JC, Niessner A, Tamargo J, Walther T, Wassmann S, Rosano G, Schmidt H, Saely CH, Drexel H.

**Comprehensive efforts to increase adherence to statin therapy.**

Eur Heart J. 2017 Aug 21;38(32):2473-2479.

Xiong X, Che CT, Borrelli F, Moudgil KD, Caminiti G.

**Evidence-Based TAM classic herbal formula: from myth to science.**

Evid Based Complement Alternat Med. 2017;2017:9493076. Epub 2017 Jan 26.

### **Laboratorio di Microbiologia delle patologie cronico-degenerative**

Ambrosi C, Scribano D, Aleandri M, Zagaglia C, Di Francesco L, Putignani L, Palamara AT.

**Acinetobacter baumannii virulence traits: a comparative study of a novel sequence type with other italian endemic international clones.**

Front Microbiol. 2017 Oct 12;8:1977. eCollection 2017.

Bizzarri BM, Botta L, Capecchi E, Celestino I, Checconi P, Palamara AT, Nencioni L, Saladino R.

**Regioselective IBX-mediated synthesis of Coumarin derivatives with antioxidant and anti-influenza activities.**

J Nat Prod. 2017 Dec 13. [Epub ahead of print]

D'Amario D, Leone AM, Narducci ML, Smaldone C, Lecis D, Inzani F, Luciani M, Siracusano A, La Neve F, Manchi M, Pelargonio G, Perna F, Bruno P, Massetti M, Pitocco D, Cappetta D, Esposito G, Urbanek K, De Angelis A, Rossi F, Piacentini R, Angelini G, Li Puma DD, Grassi C, De Paolis E, Capoluongo E, Silvestri V, Merlino B, Marano R, Crea F.

**Human cardiac progenitor cells with regenerative potential can be isolated and characterized from 3D-electro-anatomic guided endomyocardial biopsies.**

Int J Cardiol. 2017 Aug 15;241:330-343. Epub 2017 Mar 1.

Diotallevi M, Checconi P, Palamara AT, Celestino I, Coppo L, Holmgren A, Abbas K, Peyrot F, Mengozzi M, Ghezzi P.

**Glutathione fine-tunes the Innate Immune Response toward antiviral pathways in a macrophage cell line independently of its antioxidant properties.**

Front Immunol. 2017 Sep 29;8:1239. eCollection 2017.

Fabiani M, Limongi D, Palamara AT, De Chiara G, Marcocci ME.

**A novel method to titrate herpes simplex virus-1 (HSV-1) using laser-based scanning of near-infrared fluorophores conjugated antibodies.**

Front Microbiol. 2017 Jun 14;8:1085. eCollection 2017.

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

**Thymosin  $\alpha$ 1 interacts with hyaluronic acid electrostatically by its terminal sequence LKEKK.**

Molecules. 2017 Oct 27;22 (11).

Matteucci C, Grelli S, Balestrieri E, Minutolo A, Argaw-Denboba A, Macchi B, Sinibaldi-Vallebona P, Perno CF, Mastino A, Garaci E.

**Thymosin alpha 1 and HIV-1: recent advances and future perspectives.**

Future Microbiol. 2017 Feb;12:141-155.

Palamara AT, Fabiani M, Marcocci ME, Piacentini R, Paccagnini D, Pilenzi L, Napoletani G, Grassi C, De Chiara G.

**Herpes simplex virus type 1(hsv-1) infection as a risk factor for ad: possible role of neuroinflammation and oxidative stress.**

J Neurol Sci. 2017 10/15;381, Supplement: 93-94.

Prezioso C, Scribano D, Bellizzi A, Anzivino E, Rodio DM, Trancassini M, Palamara AT, Pietropaolo V.

**Efficient propagation of archetype JC polyomavirus in COS-7 cells: evaluation of rearrangements within the NCCR structural organization after transfection.**

Arch Virol. 2017 Dec;162(12):3745-3752.

Romani L, Oikonomou V, Moretti S, Iannitti RG, D'Adamo MC, Villella VR, Pariano M, Sforza L, Borghi M, Bellet MM, Fallarino F, Pallotta MT, Servillo G, Ferrari E, Puccetti P, Kroemer G, Pessia M, Maiuri L, Goldstein AL, Garaci E.

**Thymosin  $\alpha$ 1 represents a potential potent single-molecule-based therapy for cystic fibrosis.**

Nat Med. 2017 May;23(5):590-600.

Sarshar M, Scribano D, Marazzato M, Ambrosi C, Aprea MR, Aleandri M, Pronio A, Longhi C, Nicoletti M, Zagaglia C, Palamara AT, Conte MP.

**Genetic diversity, phylogroup distribution and virulence gene profile of pks positive Escherichia coli colonizing human intestinal polyps.**

Microb Pathog. 2017 Oct 5;112:274-278.

White MK, Bellizzi A, Ibba G, Pietropaolo V, Palamara AT, Wollebo HS.

**The DNA damage response promotes polyomavirus JC infection by nucleus to cytoplasm NF-kappaB activation.**

Virology. 2017 Feb 15;14(1):31.

**Laboratorio di Patologia Molecolare e Cellulare**

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

**SIRT1-SIRT3 axis regulates cellular response to oxidative stress and etoposide.**

J Cell Physiol. 2017 Jul;232(7):1835-1844.

Magrone T, Jirillo E, Spagnoletta A, Magrone M, Russo MA, Fontana S, Laforgia F, Donvito I, Campanella A, Silvestris F, De Pergola G.

**Immune profile of obese people and in vitro effects of red grape polyphenols on peripheral blood mononuclear cells.**

Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:9210862. Epub 2017 Jan 24.

Magrone T, Romita P, Verni P, Salvatore R, Spagnoletta A, Magrone M, Russo MA, Jirillo E, Foti C.

**In vitro effects of polyphenols on the peripheral immune responses in nickel-sensitized patients.**

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2017 Nov 16;17(4):324-331.

Magrone T, Russo MA, Jirillo E.

**Cocoa and dark chocolate polyphenols: from biology to clinical applications.**



Frontiers in Immunology. 2017;8:677.

Magrone T, Salvatore R, Spagnoletta A, Magrone M, Russo MA, Jirillo E.

**In vitro effects of nickel on healthy nNon-allergic peripheral blood mononuclear cells. The role of red grape polyphenols.**

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2017;17(2):166-173.

Magrone T, Spagnoletta A, Salvatore R, Magrone M, Dentamaro F, Russo MA, Difonzo G, Summo C, Caponio F, Jirillo E.

**Olive leaf extracts act as modulators of the human immune response.**

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2017 Nov 15. [Epub ahead of print]

Mariani S, Di Rocco G, Toietta G, Russo MA, Petrangeli E, Salvatori L.

**Sirtuins 1-7 expression in human adipose-derived stem cells from subcutaneous and visceral fat depots: influence of obesity and hypoxia.**

Endocrine. 2017 Sep;57(3):455-463.

### **Area di Ricerca Biobanca - Biotecnologie Avanzate e Biomarker Discovery**

Abete P, Basile C, Bulli G, Curcio F, Liguori I, Della-Morte D, Gargiulo G, Langellotto A, Testa G, Galizia G, Bonaduce D, Cacciatore F.

**The Italian version of the “frailty index” based on deficits in health: a validation study.**

Aging Clin Exp Res. 2017;29(5):913-926.

Acquaviva R, Genovese C, Amodeo A, Tomasello B, Malfa G, Sorrenti V, Tempera G, Addamo AP, Ragusa S, Rosa T, Menichini F, Di Giacomo C.

**Biological activities of Teucrium flavum L., Teucrium fruticans L., and Teucrium siculum rafin crude extracts.**

Plant Biosystems – An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology. 2017 06/02:1-8.

De Marchis ML, Tonelli F, Quaresmini D, Lovero D, Della-Morte D, Silvestris F, Guadagni F, Palmirotta R.

**Desmoid tumors in familial adenomatous polyposis.**

Anticancer Res. 2017 Jul;37(7):3357-3366.

Dueker ND, Della-Morte D, Rundek T, Sacco RL, Blanton SH.

**Sickle cell trait and renal function in hispanics in the United States: the Northern Manhattan Study.**

Ethn Dis. 2017 Jan 19;27(1):11-14.

Ferroni P.

**Editorial: Non-Communicable Diseases: gender differences in therapy.**

Curr Med Chem. 2017;24(24):2559-2560.

Ferroni P, Santilli F, Cavaliere F, Simeone P, Costarelli L, Liani R, Tripaldi R, Riondino S, Roselli M, Davi G, Guadagni F.

**Oxidant stress as a major determinant of platelet activation in invasive breast cancer.**

Int J Cancer. 2017 Feb 1;140(3):696-704.

Ferroni P, Zanzotto FM, Scarpato N, Riondino S, Guadagni F, Roselli M.

**Validation of a machine learning approach for venous thromboembolism risk prediction in oncology.**

Dis Markers. 2017;2017:8781379. Epub 2017 Sep 17.

Ferroni P, Zanzotto FM, Scarpato N, Riondino S, Nanni U, Roselli M, Guadagni F.

**Risk assessment for venous thromboembolism in chemotherapy-treated ambulatory cancer patients: a machine learning approach.**

Med Decis Making. 2017 Feb;37(2):234-242.

Formica V, Doldo E, Antonetti FR, Nardecchia A, Ferroni P, Riondino S, Morelli C, Arkenau HT, Guadagni F, Orlandi A, Roselli M.

**Biological and predictive role of ERCC1 polymorphisms in cancer.**

Crit Rev Oncol Hematol. 2017 Mar;111:133-143.

Guadagni F, Riondino S, Formica V, Del Monte G, Morelli AM, Lucchetti J, Spila A, D'Alessandro R, Della-Morte D, Ferroni P, Roselli M.

**Clinical significance of glycemic parameters on venous thromboembolism risk prediction in gastrointestinal cancer.**

World J Gastroenterol. 2017 Jul 28;23(28):5187-5195.

Lee RH, Couto E Silva A, Lerner FM, Wilkins CS, Valido SE, Klein DD, Wu CY, Neumann JT, Della-Morte D, Koslow SH, Minagar A, Lin HW.

**Interruption of perivascular sympathetic nerves of cerebral arteries offers neuroprotection against ischemia.**

Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2017 Jan 1;312(1):H182-H188. Epub 2016 Nov 18.

Pastore D, Pacifici F, Capuani B, Palmirotta R, Dong C, Coppola A, Abete P, Roselli M, Sbraccia P, Guadagni F, Lauro D, Rundek T, Della-Morte D.

**Sex-genetic interaction in the risk for cerebrovascular disease.**

Curr Med Chem. 2017;24(24):2687-2699.

Riondino S, Guadagni F, Formica V, Ferroni P, Roselli M.

**Gender differences in cancer-associated venous thromboembolism.**

Curr Med Chem. 2017;24(24):2589-2601.

Riondino S, Monte GD, Fratangeli F, Guadagni F, Roselli M, Ferroni P.

**Anti-angiogenic drugs, vascular toxicity and thromboembolism in solid cancer.**

Cardiovasc Hematol Agents Med Chem. 2017;15(1):3-16.

Vergati M, Krasniqi E, Monte GD, Riondino S, Vallone D, Guadagni F, Ferroni P, Roselli M.

**Ketogenic diet and other dietary intervention strategies in the treatment of cancer.**

Curr Med Chem. 2017;24(12):1170-1185.

Ambrosini A, Kisialiou A, Schoenen J.

**Reply to the letter by Omland et al.: “Visual and auditory cortical evoked potentials in interictal episodic migraine: The predictive value of a proposed diagnostic test should always be corrected for prevalence”.**

Cephalalgia. 2017 Jan 1;333102417695796. [Epub ahead of print]

Liu B, van Gerwen M, Bonassi S, Taioli E; International Association for the Study of Lung Cancer Mesothelioma Task Force.

**Epidemiology of environmental exposure and malignant mesothelioma.**

J Thorac Oncol. 2017 Jul;12(7):1031-1045.

- Bonassi S, Cellai F, Munnia A, Ugolini D, Cristaudo A, Neri M, Milić M, Bonotti A, Giese RW, Peluso ME.  
**3-(2-deoxy-β-d-erythro-pentafuranosyl)pyrimido[1,2-α]purin-10(3H)-one deoxyguanosine adducts of workers exposed to asbestos fibers.**  
Toxicol Lett. 2017 Feb 7;270:1-7. [Epub ahead of print]
- Giraldi L, Michelazzo MB, Arzani D, Persiani R, Pastorino R, Boccia S.  
**MUC1, MUC5AC, and MUC6 polymorphisms, Helicobacter pylori infection, and gastric cancer: a systematic review and meta-analysis.**  
Eur J Cancer Prev. 2017 May 1. [Epub ahead of print]
- Grollino MG, Raschellà G, Cordelli E, Villani P, Pieraccioli M, Paximadas I, Malandrino S, Bonassi S, Pacchierotti F.  
**Cytotoxicity, genotoxicity and gene expression changes elicited by exposure of human hepatic cells to Ginkgo biloba leaf extract.**  
Food Chem Toxicol. 2017 Sep 22;109(Pt 1):486-496.
- Lamonaca P, Prinzi G, Kisiliaou A, Cardaci V, Fini M, Russo P.  
**Metabolic disorder in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) Patients: towards a personalized approach using marine drug derivatives.**  
Mar Drugs. 2017 Mar 20;15(3).
- Mendes A, Papoila AL, Carreiro-Martins P, Aguiar L, Bonassi S, Caires I, Palmeiro T, Ribeiro AS, Neves P, Pereira C, Botelho A, Neuparth N, Teixeira JP.  
**The influence of thermal comfort on the quality of life of nursing home residents.**  
J Toxicol Environ Health A. 2017;80(13-15):729-739.
- Pastorino R, Iuliano L, Vecchioni A, Arzani D, Milic M, Annunziata F, Zerbinati C, Capoluongo E, Bonassi S, McKay JD, Boccia S.  
**Effect of alcohol dehydrogenase-1B and -7 polymorphisms on blood ethanol and acetaldehyde concentrations in healthy subjects with a history of moderate alcohol consumption.**  
Drug Test Anal. 2017 Jul 21. [Epub ahead of print]
- Pignataro FS, Bonini M, Forgiione A, Melandri S, Usmani OS.  
**Asthma and gender: The female lung.**  
Pharmacol Res. 2017 May;119:384-390. Epub 2017 Feb 24.
- Russo P, Prinzi G, Kisialiou A, Cardaci V, Stirpe E, Conti V, Fini M, Bonassi S.  
**Action plans and coping strategies in elderly COPD patients influence the result of pulmonary rehabilitation: an observational study.**  
Eur J Phys Rehabil Med. 2017 Apr 14. [Epub ahead of print]
- Sánchez-Flores M, Marcos-Pérez D, Costa S, Teixeira JP, Bonassi S, Pásaro E, Laffon B, Valdíglesias V.  
**Oxidative stress, genomic features and DNA repair in frail elderly: A systematic review.**  
Ageing Res Rev. 2017 May 6;37:1-15. [Epub ahead of print]
- Shute JK, Calzetta L, Cardaci V, di Toro S, Page CP, Cazzola M.  
**Inhaled nebulised unfractionated heparin improves lung function in moderate to very severe COPD: A pilot study.**  
Pulm Pharmacol Ther. 2017 Oct 3. [Epub ahead of print]
- Stojanovic J, Giraldi L, Arzani D, Pastorino R, Biondi A, Persiani R, Boccia S, Leoncini E.

**Adherence to Mediterranean diet and risk of gastric cancer: results of a case-control study in Italy.**

Eur J Cancer Prev. 2017 Nov;26(6):491-496.

Testa G, Cacciatore F, Bianco A, Della-Morte D, Mazzella F, Galizia G, Gargiulo G, Curcio F, Liguori I, Sabusco A, Rengo F, Bonaduce D, Abete P.

**Chronic obstructive pulmonary disease and long-term mortality in elderly subjects with chronic heart failure.**

Aging Clin Exp Res. 2017 Feb 21. [Epub ahead of print]

**AREA DI RICERCA DISABILITÀ DELLO SVILUPPO E RIABILITAZIONE**

Ancillao A, Savastano B, Galli M, Albertini G.

**Three dimensional motion capture applied to violin playing: A study on feasibility and characterization of the motor strategy.**

Comput Methods Programs Biomed 2017; 149:19-27.

Cimolin V, Cau N, Galli M, Santovito C, Grugni G, Capodaglio P.

**Gait initiation and termination strategies in patients with Prader-Willi syndrome.**

J Neuroeng Rehabil. 2017 May 23;14(1):44.

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

**Study of cardiac features in adults with down syndrome.**

Journal of Intellectual Disability-Diagnosis and Treatment. 2017;5(1):8-23.

Ferreira LAB, Cimolin V, Neto HP, Grecco LAC, Lazzari RD, Dumont AJL, Galli M, Oliveira CS.  
**Effect of postural insoles on gait pattern in individuals with hemiparesis: A randomized controlled clinical trial.**

J Bodywork Movement Ther. 2017 [Epub ahead of print]

Galli M, Cimolin V, Condoluci C, Costici PF, Brunner R.

**An examination of the relationship between dynamic knee joint stiffness and gait pattern of children with cerebral palsy.**

J Bodywork Movement Ther. 2017 [Epub ahead of print]

Galli M, Cimolin V, Rigoldi C, Moro M, Loi A, Pau M.

**Postural sway in adolescent athletes: a comparison among volleyball, basketball and gymnastics players.**

Gazz Med Ital Arch Sci Med. 2017;176(10):515-520.

Kleiner A, Pacifici I, Vagnini A, Camerota F, Celletti C, De Pandis MF, Galli M.

**Timed up and go evaluation with wearable devices: Validation in parkinson's disease.**

J Bodywork Movement Ther. 2017 [Epub ahead of print]

Kleiner AFR, Pagnussat AS, Pinto C, Frantz A, Marchese R, Paula Salazar A, Galli M.

**The effects of automated mechanical peripheral stimulation in functional mobility and neuroplasticity of subjects with parkinson's disease: a hierarchical cluster analysis.**

Gait Posture. 2017;57:45-46.

Lameira de Melo G, Franco de Moura R, Lopes J, Fonseca Junior P, Lazzari R, de Almeida Carvalho Duarte, N., Zaffalon Junior J, Dumont A, Kleiner A, Galli M.

**Effects of virtual reality on parkinsonian gait: Blind controlled randomized clinical trial protocol.**

Manual Therapy, Posturology & Rehabilitation Journal. 2017;15:1-7.

Moura RCF, Santos C, Collange Grecco L, Albertini G, Cimolin V, Galli M, Oliveira C.  
**Effects of a single session of transcranial direct current stimulation on upper limb movements in children with cerebral palsy: A randomized, sham-controlled study.**  
Dev Neurorehabil. 2017 Aug;20(6):368-375.

Parisio C, Vismara L, Micotti V, Cimolin V, Aprile D, Cavigioli M, Panzeri A, Manzotti A, Galli M, Capodaglio P.  
**Osteopathic manipulation of the ankle improves spinal flexibility in elite alpine skiers: a pilot study.**  
Gazz Med Ital – Arch Sci Med 2017;176:265-270.

Pau M, Corona F, Coghe G, Marongiu E, Loi A, Crisafulli A, Concu A, Galli M, Marrosu MG, Cocco E.  
**Quantitative assessment of the effects of 6 months of adapted physical activity on gait in people with multiple sclerosis: a randomized controlled trial.**  
Disabil Rehabil. 2017 Jan 13:1-11.

#### **ORGANIZZAZIONE E GESTIONE DEI SERVIZI SANITARI**

Annemans L, Aymé S, Le Cam Y, Facey K, Gunther P, Nicod E, Reni M, Roux JL, Schlander M, Taylor D, Tomino C, Torrent-Farnell J, Upadhyaya S, Hutchings A, Le Dez L.  
**Recommendations from the European Working Group for value assessment and funding processes in rare diseases (ORPH-VAL).**  
Orphanet J Rare Dis. 2017 Mar 10;12(1):50.

Bettiol A, Lucenteforte E, Vannacci A, Lombardi N, Onder G, Agabiti N, Vitale C, Trifirò G, Corrao G, Roberto G, Mugelli A, Chinellato A; Italian Group for Appropriate Drug prescription in the Elderly (I-GrADE).  
**Calcium channel blockers in secondary cardiovascular prevention and risk of acute events: real-world evidence from nested case-control studies on italian hypertensive elderly.**  
Clin Drug Investig. 2017 Oct 3. [Epub ahead of print]

Biffi A, Rea F, Scotti L, Mugelli A, Lucenteforte E, Bettiol A, Chinellato A, Onder G, Vitale C, Agabiti N, Trifirò G, Roberto G, Corrao G; Italian Group for Appropriate Drug prescription in the Elderly (I-GrADE).  
**Antidepressants and the risk of arrhythmia in elderly affected by a previous cardiovascular disease: a real-life investigation from Italy.**  
Eur J Clin Pharmacol. 2017 Oct 18. [Epub ahead of print]

Kyriazakos S, Prasad R, Mihovska A, Pnevmatikakis A, op den Akker H, Hermens H, Barone P, Mamelli A, de Domenico S, Pocs M, Grguric A, Mosmondor M, Simunic D, Kerner A, Zaric N, Djuricic P, Poulkov V, Tochev K, Zechmann B, Garschall M, Angeletou A, Bonassi S, Infarinato F, Fratu O, Vulpe A, Voicu C, Gavrilovska L, and Atanasovski V.  
**eWALL: An open-source cloud-based ehealth platform for creating home caring environments for older adults living with chronic diseases or frailty**  
Wireless Personal Communications, November 2017, Volume 97, Issue 2, pp 1835–1875.

Rea F, Bonassi S, Vitale C, Trifirò G, Cascini S, Roberto G, Chinellato A, Lucenteforte E, Mugelli A, Corrao G; I-GrADE investigators.  
**Exposure to statins is associated to fracture risk reduction in elderly people with cardiovascular disease: evidence from the AIFA-I-GrADE observational project.**

Pharmacoepidemiol Drug Saf. 2017 Jul;26(7):775-784.

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

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

Mutagenesis. 2016 Sep 26. pii: gew047. [Epub ahead of print]

Pournajaf S, Goffredo M, Criscuolo S, Galli M, Damiani C, Franceschini M.

**Virtual reality rehabilitation in patients with total knee replacement: Preliminary results.**

Gait & Posture 2017; 57 Supplement 3:17-18.

Kleiner A, Galli M, Franceschini M, De Pandis MF, Stocchi F, Albertini G, de Barros RM.

**The coefficient of friction in Parkinson's disease gait.**

Funct Neurol. 2017 Jan/Mar;32(1):17-22.

Radicati FG, Martinez Martin P, Fossati C, Chaudhuri KR, Torti M, Rodriguez Blazquez C, Vacca L, Stocchi F.

**Non motor symptoms in progressive supranuclear palsy: prevalence and severity.**

NPJ Parkinsons Dis. 2017 Dec 8;3:35.

Stocchi F, Torti M.

**Constipation in Parkinson's Disease.**

Int Rev Neurobiol. 2017;134:811-826.

Di Iorio R, Granata G, Vecchio F, Miraglia F, Rossini PM.

**P293 assessment of primary motor cortex plastic changes following the use of a new prosthetic system able to provide somatosensory feedback from the missing hand in an amputee patient: A TMS study.**

Clinical Neurophysiology. 2017 3;128(3):e153-4.

Di Iorio R, Vecchio F, Pellicciari MC, Miraglia F, Brignani D, Granata G, Miniussi C, Rossini PM.

**P117 effects of transcranial direct current stimulation on the functional coupling of the sensorimotor cortical network.**

Clinical Neurophysiology. 2017 3;128(3):e71-2.

Miraglia F, Vecchio F, Iorio RD, Granata G, Romanello R, Rossini PM.

**P110 transcranial direct current stimulation of the brain motor area generates a transient increase of small worldness in connectivity: An EEG graph theoretical analysis.**

Clinical Neurophysiology. 2017 3;128(3):e67-8.

Miraglia F, Vecchio F, Rossini PM.

**P240 gender differences in resting state functional brain networks.**

Clinical Neurophysiology 2017/09;128(9):e255.

Miraglia F, Vecchio F, Vollomo C, Fuggetta F, Cioni B, Rossini PM.

**O155 pre-seizure brain networks architecture as index of prediction in epileptic seizure.**

Clinical Neurophysiology 2017/09;128(9):e228.

Vecchio F, Ferreri F, Miraglia F, Ponso D, Rossini PM.

**P075 time-varying coupling of EEG oscillations predicts excitability fluctuations in the primary motor cortex as reflected by motor evoked potentials amplitude: An EEG-TMS study.**

Clinical Neurophysiology. 2017 3;128(3):e42.

Vecchio F.

**S30 behaviour performance in a cognitive-motor task during learning processes: Evidence from EEG network analysis.**

Clinical Neurophysiology 2017/09;128(9):e189.



Caminiti G, Cacciapuoti F, Fossati C, Battaglia D, Punzo N, Volterrani M.  
**Heart rate control in non-paroxysmal atrial fibrillation. A new indication for ivabradine?**  
Journal of Cardiology and Therapy. 2017; 4(3): 671-675.

Iellamo F, Werdan K, Narkiewicz K, Rosano G, Volterrani M.  
**Practical Applications for Single Pill Combinations in the Cardiovascular Continuum.**  
Card Fail Rev. 2017 Apr;3(1):40-45.

Lombardo M, Magarotto R, Marinelli F, Padua E, Caprio M, Annino G, Bellia A, Iellamo F.  
**Ideal reduction of calories for greatest reduction of body fat and maintenance of lean body mass.**  
J Aging Res Clin Practice. 2017(6):62-67.

Lopatin Y, Rosano GMC.  
**Treatment of patients in the vulnerable phase (at discharge or early after discharge).**  
International Cardiovascular Forum Journal. 2017;10:37-40.

Milinković I, Coats AJ, Rosano G, Lopatin Y, Seferović PM.  
**Clinical benefits of treating angina directly at the cardiac cell level with trimetazidine.**  
Heart Metab. 2017;72:25-31.

Mollace V, Rosano G, Malara N, Di Fabrizio E, Vitale C, Coluccio M, Maiuolo J, Ali Wasti A, Muscoli C, Gliozzi M, Mollace R, Musolino V, Carresi C, Fini M, Silvestrini B.  
**Aspirin wears smart.**  
Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2017 Oct 1;3(4):185-188.

Rosano GMC.  
**Medical Treatment of Heart Failure with Reduced Ejection Fraction - Prognostic Indication.**  
International Cardiovascular Forum journal 2017;10:16-21.

Rosano GMC.  
**Medical Treatment of Heart Failure with Reduced Ejection Fraction – Aimed at Reducing Rehospitalisations.**  
International Cardiovascular Forum Journal. 2017;10:29-33.

Rosano GMC.  
**Valvular Heart Disease in Heart Failure.**  
International Cardiovascular Forum Journal 2017;10:70-72.

Rosano GM, Vitale C, Seferovic P.  
**Heart Failure in Patients with Diabetes Mellitus.**  
Card Fail Rev. 2017 Apr;3(1):52-55.

Rosano GM.  
**The Heart Failure Association Congress confirms itself as the largest European Society of Cardiology sub-speciality congress.**  
Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2017 Jan;3(1):5-6.

Tamargo J, Rosano G, Walther T, Duarte J, Niessner A, Kaski JC, Ceconi C, Drexel H, Kjeldsen K, Savarese G, Torp-Pedersen C, Atar D, Lewis BS, Agewall S.  
**Gender differences in the effects of cardiovascular drugs.**  
Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2017 Jul 1;3(3):163-182.

Vitale C.

**How to approach heart failure disease in frail patients.**

Dialogues in Cardiovascular Medicine. 2017;22(1):34-5.

Vitale C, Spoletini I.

**Clinical Diagnosis in Heart Failure.**

International Cardiovascular Forum journal 2017;10:12-15.

Vitale C, Rosano GMC.

**Medical Treatment of Heart Failure with Reduced Ejection Fraction - Improving Clinical Status and Functional Capacity.**

International Cardiovascular Forum Journal 2017;10:22-28.

Riondino S, Monte GD, Fratangeli F, Guadagni F, Roselli M, Ferroni P.

**Anti-angiogenic drugs, vascular toxicity and thromboembolism in solid cancer.**

Cardiovasc Hematol Agents Med Chem. 2017 Jan 26.

Ferroni P, Zanzotto FM, Scarpato N, Riondino S, Guadagni F, Roselli M. 1564P.

**Random optimization interactive system based on kernel learning (RISK) for venous thromboembolism risk assessment in chemotherapy-treated cancer patients.**

Annals of Oncology. 2017 09/01;28(suppl 5):mdx388.024.

Guadagni F, Zanzotto FM, Scarpato N, Rullo A, Riondino S, Ferroni P, Roselli M.

**RISK: A Random Optimization Interactive System Based on Kernel Learning for Predicting Breast Cancer Disease Progression.**

In: Rojas I, Ortuño F, editor. Bioinformatics and Biomedical Engineering - 5th International Work-Conference, IWBBIO 2017; April 26-28; Granada, Spain. Lecture Notes in Computer Science, 2017(10208) p. 189-196.

Lombardo M, Magarotto R, Marinelli F, Padua E, Caprio M, Annino G, Bellia A, Iellamo F.

**Ideal reduction of calories for greatest reduction of body fat and maintenance of lean body mass.**

J Aging Res Clin Practice. 2017(6):62-67.

## LIBRI E CAPITOLI DI LIBRI

Krentz AJ, Scuteri A.

**Insulin resistance and the metabolic syndrome.**

In: Sinclair AJ, Dunning T, Manas LR, Munshi M, editors. Diabetes in Old Age. John Wiley & Sons; 2017; p. 179-212.

Barbanti P, Cafforio G, Fofi L.

**Headache in cocaine users: epidemiology, clinical features, and putative pathophysiological mechanisms.**

In: Preedy V, editor, Elsevier Inc. Academic Press.  
The Neuroscience of Cocaine: Mechanisms and Treatment. 2017 capitolo 37: 363-74.

Rosano G.

**Clinical Trial Design, Endpoints, and Regulatory Requirements.**

Heart Failure pp 67-78. Part of the Handbook of Experimental Pharmacology book series (HEP, volume 243)

Babiloni C, Del Percio C, Debuja A.

**EEG in dementig disorders**

In: Niedermeyer's Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields.

Oxford University Press; 2017; p. 413.

Di Iorio R, Rossini PM.

**Safety Considerations of the Use of TMS.**

In: Navigated Transcranial Magnetic Stimulation in Neurosurgery.  
Springer; 2017; p. 67-83. doi: 10.1007/978-3-319-54918-7\_4

Barbanti P, Cafforio G, Fofi L. Chapter 37

**Headache in cocaine users: epidemiology, clinical features, and putative pathophysiological mechanisms.**

In: The Neuroscience of Cocaine. Mechanisms and Treatment.  
Victor E. Preedyed, 2017 Elsevier Inc. Acedemic Press.

## PARTECIPAZIONI A CONGRESSI NAZIONALI ED INTERNAZIONALI

- M. Goffredo, E. Guanziroli, M. Gandolla, S. Pournajaf, D. Galafate, M. Franceschini, F. Molteni; Poster: **“Exoskeleton-supported gait rehabilitation: preliminary results in sub-acute poststroke patients”**, International Congress on NeuroRehabilitation and Neural Repair, Maastricht, Netherlands, Maggio 2017
- M. Goffredo, E. Guanziroli, S. Pournajaf, D Galafate, S. Petruccelli, F. Molteni, M. Franceschini, Poster: **“Effects of exoskeleton-supported gait rehabilitation in sub-acute stroke patients: preliminary results”**, XVIII Congresso della Società Italiana di Analisi del Movimento in Clinica (SIAMOC), Torino, Ottobre 2017
- S. Pournajaf, M. Goffredo, S. Criscuolo, M. Galli, C. Damiani, M. Franceschini, Poster: **“Virtual Reality Rehabilitation in Patients with Total Knee Replacement: Preliminary Results”**, XVIII Congresso della Società Italiana di Analisi del Movimento in Clinica (SIAMOC), Torino, Ottobre 2017
- E. Guanziroli, M. Goffredo, G. Gasperini, M. Gaffuri, N. Farina, D. Liberali, S Pournajaf, D. Galafate, S. Criscuolo, C. Damiani, M. Franceschini, S. Filoni, E. Russo, F. Molteni, Poster: **“Modificazioni indotte dalla riabilitazione del cammino con esoscheletro robotizzato indossabile in pazienti post-ictus in fase sub-acute: risultati preliminari”**, 45° Congresso Nazionale SIMFER, Genova, Ottobre 2017
- S. Pournajaf, M. Goffredo, R. Casale, C. Damiani, M. Franceschini, Poster: **“Virtual Reality Rehabilitation in Patients with Total Knee Replacement: Preliminary Results”**, 12th Mediterranean Congress of Physical and Rehabilitation Medicine, Malta, Novembre 2017
- P. Barbanti. **“Le nuove terapie farmacologiche ed i loro presupposti fisiopatologici”** XV Corso Residenziale Associazione per una scuola sulle cefalee (ASC), Seminario Clinico Multimediale di Formazione Sulle Cefalee, 1° modulo, Roma, Aprile 2017
- P. Barbanti. **“Aggiornamento sulla terapia dell'emicrania: dall'alimentazione alla terapia farmacologica”**, Bologna Cefalee 2017, Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotoria, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Aprile 2017
- P. Barbanti. **“The role of anti-CGRP antibodies in the pathophysiology of primary headaches”**, Stresa Headache 2017 International Multidisciplinary Seminar, Stresa (VB), Maggio 2017
- P. Barbanti. **“Ketogenic diet in migraine: rationale, findings and perspectives”**, Stresa Headache 2017 International Multidisciplinary Seminar, Stresa (VB), Maggio 2017
- P. Barbanti. **“Glaucoma ed altre malattie neurodegenerative del sistema nervoso centrale”**, XIII Congresso Nazionale della Società Italiana del Glaucoma (SIGLA, Roma, Giugno 2017
- P. Barbanti. **“La dieta ketogenica e la neuro protezione”**, 4° Nutraceutica e Occhio, Roma, Ottobre 2017

- P. Barbanti. **“CGRP ed anticorpi monoclonali nella prevenzione dell’emicrania”**, XLVIII Congresso Società Italiana di Neurologia, Napoli, Ottobre 2017
- P. Barbanti. **“Establishment of an Italian chronic migraine database: a Multicenter pilot study”**. XLVIII Congresso Società Italiana di Neurologia, Napoli, Ottobre 2017
- P. Barbanti. **“Non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS) for the acute treatment of migraine: the randomised controlled PRESTO trial”**, 11th European Headache Federation Congress, Roma, Dicembre 2017
- P. Barbanti. Poster: **“Thrombophilic Predisposition In Premenopausal Females With Chronic Migraine”**, 18th Congress of the International Headache Society, Vancouver, Settembre 2017
- P. Barbanti. Poster: **“Noninvasive vagus nerve stimulation for acute treatment of high-frequency and chronic migraine: an open-label study”**, 18th Congress of the International Headache Society, Vancouver, Settembre 2017
- P. Barbanti. Poster: **“Mindfulness for treatment of Chronic Migraine: Clinical results & biological markers”**, 18th Congress of the International Headache Society, Vancouver, Settembre 2017
- P. Barbanti. Poster: **“Dopaminergic symptoms in migraine: a case series on 446 consecutive patients”**, 18th Congress of the International Headache Society, Vancouver, Settembre 2017
- P. Barbanti. **“Le cefalee in PS: la terapia”**, XV Corso Residenziale ASC (Associazione per una scuola sulle cefalee), Seminario Clinico Multimediale di Formazione Sulle Cefalee, 2° modulo, Roma Novembre 2017.
- Stocchi F. CONY **“Treating OFF states: Challenges of current therapies and a survey of alternative approaches”**, The 11th World Congress on Controversies in Neurology, Atene, Marzo 2017
- Stocchi F. **“The Importance Of An Effective Treatment: Practical Consideration”**, 6th Movement Disorders Teaching Course, Poiana Brasov (Romania), Marzo – Aprile 2017
- Stocchi F. **“ QoL improvement and caregiver burden reduction in patients with APD treated with LCIG”**, XVI National Congress of Neurology, Bulgaria Maggio 2017
- Stocchi F. **“ Apomorphine Injection and infusion therapy: what is the evidence of efficacy and safety?” – “Complications of apomorphine therapy and how to manage them”**, Management of Advanced Parkinson’s Disease with Infusion Therapies, Romania, Maggio 2017
- Stocchi F. **“Morning OFFs and NMS in Parkinson’s Disease”**, Scientific Education Meeting Parkinson’s Disease (Teva) Vancouver (Canada), Giugno 2017
- Stocchi F. **“A patient with motor complications who needs an add-on to L-dopa”**, Satellite Symposium at the 3th Congress OF The European Academy Of Neurology (EAN) **“Safinamide as a valuable add-on therapy: Exploring new approaches to PD management through patient case presentations”**, The Netherlands (Amsterdam), Giugno 2017

- Stocchi F. **“Practical consideration for an effective treatment of Parkinson’s disease”**, 12th International Summer School of Neurology, Eforie Nord (Romania), Luglio 2017
- Stocchi F. **“Beneficio della Safinamide”**, DCTM 2017, Sao Paulo (SP), Agosto 2017
- Stocchi F. **“Optimisation of Levodopa Therapy For Parkinson’s Disease” – “Explore clinical Strategies For Effective Motor-Fluctuation Control in Adjunctive Therapy”**, Lundbeck “Rasagiline Oversea Speaker China Tour” China, Ottobre 2017
- Stocchi F. **“Evidencia de Rasagilina en el manejo de morning OFF y sintomas no-motores en la enfermedad de parkinson”**, Simposio Nuevas Tendencias en el manejo de la enfermedad de Parkinson Mexico, Settembre 2017
- Stocchi F. **“Clinical trials in Parkinsonism: problems and perspectives”**, International Conference on new therapies For Parkinson’s Disease and Dementia, Pisa, Settembre 2017
- Stocchi F. **“The importance Of Achieving Continuous Drug Delivery”**, Parkinson’s Review Meeting, Hyatt Birmingham (Inghilterra), Ottobre 2017
- Stocchi F. **“Aggiornamenti su: Levodopa – Agonisti della dopamina – Inibitori delle MAO e delle COMT – altre Terapie”**, Percorsi decisionali nella Malattia di Parkinson, Roma, Gennaio 2017
- Stocchi F. **“Nuovi Orizzonti Terapeutici nella Malattia di Parkinson”**, Nuovi Orizzonti Nella Malattia di Parkinson Roma, Febbraio 2017
- Stocchi F. **“Terapia farmacologica dei disturbi motori nella Malattia di Parkinson”**, Corso di Aggiornamento Bologna Parkinson 2017, Bologna, Marzo 2017
- Stocchi F. **“Complessità e Comorbidità”**, PLAS – Parkinson Alliance for Better Life Solutions - Bootcamp Event, Milano, Marzo 2017
- Stocchi F. **“Approccio multidisciplinare nella Malattia di Parkinson, complessità e comorbidità”**, Bootcamp Event Parkinson Alliance for Better Life Solutions, Milano, Marzo 2017
- Stocchi F. **“La Terapia Farmacologia Presente e Futuro”**, Parkinson Alliance for Better Life Solutions, Casa di Cura San Raffaele Cassino, Cassino, Maggio 2017
- Stocchi F. **“Terapia delle Fluttuazioni Motorie”**, ZAMBON In Sinergia per la Malattia di Parkinson Roma, Giugno 2017
- Stocchi F. **“Trattamento farmacologico del paziente de novo alla fase avanzata”**, Corso di Aggiornamento “La gestione del paziente con Malattia di Parkinson” Bologna, Settembre 2017
- Stocchi F. **“Fatica nella malattia di Parkinson”**, Lundbeck-I disturbi psichiatrici nella malattia di Parkinson e negli altri disturbi del movimento, Policlinico Umberto I, Roma, Settembre 2017

- Stocchi F. **“La QoL nel paziente con malattia di Parkinson: disturbi motori e non motori”**, Chiesi- Brain & Mind day, Parma, Ottobre 2017
- Stocchi F. **“La Malattia di Parkinson: uno sguardo alla clinica e uno alla comunicazione”**; **“Percorso Formativo di Tecniche Video”**; **“Percorso Formativo do Public Speaking”**, ZAMBON - **“Percorsi di Crescita Professionale in Neurologia”** Padova, Ottobre 2017
- Stocchi F. **“Opicapone: Una nuova opzione terapeutica nel paziente con Malattia di Parkinson”** , XLVIII Congresso Società Italiana di Neurologia, Napoli, Ottobre 2017
- Stocchi F. **“Does immunotherapy have a future in Parkinson’s Disease?”**, National Congress Of The Italian Neuroscience Society, Ischia, Ottobre 2017
- Stocchi F. **“La Malattia di Parkinson: uno sguardo alla clinica e uno alla comunicazione”**,ZAMBON, Percorsi di Crescita Professionale in Neurologia, Roma, Novembre 2017
- Stocchi F. **“Parkinson”**,Convegno Regionale SIN SNO Lazio III Edizione, Roma, Novembre 2017
- Stocchi F. **“Trattamento delle fluttuazioni cliniche e shift terapeutico nelle criticità”**, VIII Corso di Aggiornamento 2017 **“Non Solo Parkinson”**, Trieste, Novembre 2017
- Stocchi F. **“Uno sguardo al futuro”**, Congresso Meridionale di Neurologia **“L’importanza di Fare Rete”**, Cosenza, Novembre 2017
- Stocchi F. **“Novità sulla malattia di Parkinson: fisiologia, fattori di rischio e terapia”**, Nuovi aggiornamenti clinici, molecolari e funzionali di alcune patologie genetiche Roma, Novembre 2017
- Stocchi F. **“Terapia”**, Università degli Studi della Campania Luigi Vanvitelli, II Edizione **“Duecento anni di Parkinson”**, Napoli, Dicembre 2017
- Stocchi F. **“Rallentamento svuotamento gastrico e terapia dopaminergica”**,I Sintomi internistici della Malattia di Parkinson: la competenza multidisciplinare fa la differenza nella qualità di vita, Policlinico Universitario **“A. Gemelli”**, Roma, Dicembre 2017
- Palma E., Roseti C. Poster: **“Effect of Lacosamide on GABAA evoked currents: clinical relevance for a synergic effect with Levetiracetam”**,Synanet meeting, Lisbona, Gennaio 2017
- Palma E., Roseti C. Poster: **“Effect of Lacosamide on GABAA evoked current”**, American epilepsy society, Washington, Dicembre 2017
- Volterrani M. **“Ivabradina: in associazione o in alternativa al beta bloccante”**, II Convegno Interregionale SICOA Centro Roma, NH Vittorio Veneto, febbraio 2017
- Volterrani M. **“La frequenza cardiaca nel mondo reale: abbiamo imparato la lezione?”**, Le relazioni pericolose VII Edizione – Napoli, Centro Congressi Hotel Palazzo Alabarideri, febbraio 2017



- Volterrani M. **"HF with co-morbidities: the patient centred journey"**, Bridging the gap between guidelines and practice, Manila, Filippine, marzo 2017
- Volterrani M. **"Nuove terapie nello SC"**, Napoli Cuore 2017, Napoli, marzo-aprile 2017
- Volterrani M. Lettura: **"Bridging the gap between guidelines and practice"**, ISCP Heart Failure Academy International Session, Atene, Attikon University Hospital, aprile 2017
- Volterrani M. **"DAPT a lungo termine in pazienti con SCA: a chi, quando e perché"**, XXV Corso di Aggiornamento in Cardiologia , Bormio (SO), aprile 2017
- Volterrani M. **"Optimization of pharmacological treatment of heart failure care (the role of combining beta blockers with ivabradine)"**, Annual Professional - Scientific Meeting on Contemporary Cardiology 2017, Lubiana, Slovenia, 201
- Volterrani M. **"Un nuovo paradigma per il management dello scompenso cardiaco: i programmi multidisciplinari"**, La gestione moderna dello scompenso cardiaco, Roma, maggio 2017
- Volterrani M. **"Il paziente SCA dall'acuto al lungo termine; Presentazione Survey SICOA"**, XV Congresso SICOA, Giardini Naxos (ME), maggio 2017
- Volterrani M. **"Heart rate and cardiac metabolism optimization"**, EUROCVF 2017, Roma, maggio 2017
- Volterrani M. **"Nutraceutical: Focus on fixed associations"**, Joint ISCP, Royal Brompton Hospital and National Heart and Lung Institute, International Cardiovascular Workshop, Londra, giugno 2017
- Volterrani M. **"Il paziente anziano con SC: la gravità è determinata dal grado di insufficienza cardiaca o dalle comorbidità?"**, Convegno SICOA "Dalle strategie preventive, all'acuzie e alla cronicità nelle malattie cardiovascolari". Grand Hotel Gardone, Gardone Riviera , Ottobre 2017
- Volterrani M. **"Dalle Linee guida alla real practice: management del pz con scompenso cardiaco"**, Heart Failure Academy 2.0, Palermo, novembre 2017
- Volterrani M. **"Deficit di ferro ed anemia nel paziente con scompenso cardiaco. Indicazioni dalle linee guida europee"**, PLACE Platform of Laboratories for Advances in Cardiac Experience, 7° Edizione, Roma, novembre 2017
- Volterrani M. **"La carenza di ferro nel paziente scompensato: quando trattarla^ Come trattarla?"**, Giornate Cardiologiche Partenopee, IV Edizione: L'insufficienza cardiaca: prevenirla, diagnosticarla, curarla, Napoli, novembre 2017
- Volterrani M. **"Treatment to improve adherence and functional capacity"**, Guidelines 2017 Forum, Roma, NH Collection, dicembre 2017
- Campolongo G. **"LCZ: quando utilizzarlo"**, II Convegno Interregionale SICOA Centro, Roma, febbraio 2017

- Campolongo G. **“Utilità dell’ecocardiografia nella gestione della terapia farmacologica e non, del paziente scompensato durante la riabilitazione cardiologica”**, PLACE Platform of Laboratories for Advances in Cardiac Experience, 7° Edizione, Roma, novembre 2017
- Campolongo G. **“La ridotta attività sessuale: come si associa alle malattie cardiovascolari e perché se ne parla poco?”**, 78° Congresso Nazionale SIC ,Roma, dicembre 2017
- Guadagni F, Zanzotto FM, Scarpato N, Rullo A, Riondino S, Ferroni P, Roselli M. Poster: **“RISK: a Random optimization Interactive System based on Kernel learning for predicting breast cancer disease progression”**. 5th International Work-Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, Granada, Spain, Aprile 2017
- Barbanti P, Ferroni P, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, La Farina F, Valente MG, De Marchis ML, Spila A, Palmirotta R, Della-Morte D, Guadagni F. Poster: **“Increased thrombophilic predisposition in premenopausal females with chronic migraine”**. 18th Congress of the International Headache Society, Vancouver, Canada, Settembre 2017. Cephalalgia, 37(S1): 182-183, 2017
- Ferroni P, Zanzotto FM, Scarpato N, Riondino S, Guadagni F, Roselli M. Poster: **“Random optimization Interactive System based on Kernel learning (RISK) for venous thromboembolism risk assessment in chemotherapy-treated cancer patients”**. ESMO 2017 Annual Congress, Madrid, Spain - 08 Sep - 12 Sep 2017. Ann Oncol , 28(S5): 552, 2017
- Del Monte G, Morelli AM, Fratangeli F, Valente MG, Scarpato N, Zanzotto FM, Ferroni P, Roselli M, Guadagni F. **“Ottimizzazione del “Clinical Decision Making“ nelle cure palliative attraverso l’implementazione di un software dedicato: l’esperienza dell’Hospice San Raffaele Cassino”**. XXIV Congresso Nazionale SICP - Società Italiana di Cure Palliative, Riccione, 15-18 Novembre, 2017
- Ferraro E. **“Targeting the metabolism in cachexia: metabolic modulators as “exercise mimetics”**, 38 Congresso Nazionale SIF, Rimini, Ottobre 2017
- Feraco A, Molinari F., Caprio M., Armani A, Ferraro F Rosano G. Poster: **“Skeletal muscle function might be affected by Mineralocorticoid Receptor activation”**, 10h International conference on cachexia, sarcopenia and muscle wasting”, Roma, Dicembre 2017
- Ferraro E, Molinari F, Pin F, Gorini S, Chiandotto S, Penna F, Rizzuto E, Musaro A, Costelli P, Rosano G. Poster: **“The mitochondrial metabolic reprogramming agent trimetazidine as an ‘exercise mimetic’ and myogenesis promotor in cachectic C26-bearing mice”**, 10h International conference on cachexia, sarcopenia and muscle wasting”, Roma, Dicembre 2017
- Gorini S, Vitiello L, Caruso M, De Santa F, Rosano G, Ferraro E. Poster. **“Metabolic reprogramming in order to polarize macrophages and to sustain skeletal muscle re generation”**, 10h International conference on cachexia, sarcopenia and muscle wasting”, Roma, Dicembre 2017
- Palamara A.T, **“Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and neurodegeneration: a side effect of cell response to infection?”**, 3rd International Course Persistent Viral Infections and Immune Evasion, Roma, Luglio 2017

- Palamara A.T, “**Autofagia e influenza**”, 45° Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Genova, Settembre 2017
- Palamara A.T, “**Un problema emergente: raccomandazioni per la gestione delle IST**”, Infezioni sessualmente trasmesse: what’s going on?, Trieste, Ottobre 2017
- Palamara A.T, “**Lotta alla diffusione dell’antibiotico-resistenza: ruolo delle Istituzioni e delle Società Scientifiche**”, Superbugs Strumenti di intervento nell’era post-antibiotica. Strategie future per un problema attuale. Palermo, Ottobre 2017
- Palamara A.T, “**Ricerca e innovazione in tema di microbiota: il confronto con le istituzioni**”, Microbiota: la medicina clinica e la medicina di laboratorio si parlano, Roma, Novembre 2017
- Ilari S. “**The role of mitochondrial NAD<sup>+</sup> - dependent SIRT3 deacetylase during Neuropathic pain**”, Convegno Monotematico SIF, Firenze, Maggio 2017
- Ilari S, Lauro F, Giancotti LA, Morabito C, Malafoglia V, Gliozzi M, Tafani M, Fini M, Russo M, Mollace V, Salvemini D, Muscoli C. Poster: “**NAD<sup>+</sup> dependent SIRT3 deacetylase and neuropathic pain: The crucial role of oxidative stress modulation**”, Congresso NeuPSIG, IASP, Gothenburg, Svezia, Giugno 2017
- Ilari S. “**Newly formulated Idebenone and Inflammation pain**”, Nanoinnovation 2017 conference & Exhibition, Settembre 2017
- Ilari S, Giancotti LA, Lauro F, Morabito C, Malafoglia V, Gliozzi M, Tafani M, Fini M, Russo M, Mollace V, Salvemini D, Muscoli C. Poster: “**The role of SIRT3 pathway in neuropathic pain and oxidative stress**”, Congresso Nazionale SIF, Ottobre 2017, Rimini
- Bonassi S. “**Multifactorial assessment of drug safety in elderly**”; Psychopharmacology Conference; Maggio 2017, Bucarest, Romania
- Bonassi S. “**Environmental Exposure, Genomic background, and Cancer Development: Dangerous Liaisons**”; VI International Symposium On Translational Oncology and Clinical Research, Barretos Cancer Hospital, Settembre 2017, Barretos, Brasile
- Bonassi S. “**Micronuclei, Nucleoplasmic Bridges and Nuclear Buds as Biomarkers of Disease Risk and Accelerated Ageing**”; The 12 th International Conference and 5 th Asian Congress on Environmental Mutagens with the 33rd Annual Meeting of KSOT/KEMS; Novembre 2017; Seoul, Corea del Sud
- Russo P. “**Effect of FKBP5 Polymorphism on Emotional Response to Pulmonary Rehabilitation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) patients**”; 26th ISFN Annual Meeting, Dicembre 2017, EILAT (IL)

## AREE DI RICERCA IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

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

AREA DI RICERCA	RESPONSABILE
<b>Riabilitazione Neuromotoria e Robotica Riabilitativa</b>	Marco Franceschini
<b>Centro del Farmaco e Clinical Trial Center</b>	Carlo Tomino Laura Vacca
<b>Parkinson e Disturbi del Movimento</b>	Fabrizio Stocchi
<b>Cefalee e dolore neuropatico</b>	Piero Barbanti
<b>Riabilitazione Cardiovascolare Telemedicina e E-Health</b>	Maurizio Volterrani
<b>Pneumologia Riabilitativa</b>	Vittorio Cardaci
<b>Centro di Ricerca Clinica e Sperimentale</b>	Giuseppe Rosano
<b>Epidemiologia Clinica e Molecolare</b>	Stefano Bonassi
<b>Disabilità dello Sviluppo e Riabilitazione</b>	Giorgio Albertini Claudia Condoluci
<b>Biobanca - Biotecnologie Avanzate e Biomarker Discovery</b>	Fiorella Guadagni
<b>Organizzazione e Gestione dei Servizi</b>	Natale Santucci
<b>Diagnostica per Immagini</b>	Alberto Pierallini

**CENTRO RICERCHE IRCCS SAN RAFFAELE PISANA**  
**RICERCA DI BASE - TRASLAZIONALE**

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
<b>Endocrinologia Cardiovascolare</b>	Massimiliano Caprio	Andrea Armani, Caterina Mammi, Vincenzo Marzolla
<b>Patofisiologia della cachessia e metabolismo del muscolo scheletrico</b>	Elisabetta Ferraro	Alessandra Feraco, Stefania Gorini, Francesca Molinari, Laura Vitiello
<b>Neurobiologia molecolare e cellulare</b>	Daniela Merlo	Chiara De Dominicis, Leonardo Lupacchini
<b>Patologia molecolare, cellulare e ultra strutturale</b>	Matteo Antonio Russo	Carolina Lane Alves, Federica Limana, Elena Pontemezzo, Giovanni Puddighinu, Serena Saladini, Luigi Sansone, Enza Vernucci, Marco Tafani
<b>Elettrofisiologia</b>	Eleonora Palma	Cristina Roseti
<b>Biochimica dell'Invecchiamento</b>	Maria Rosa Ciriolo	Sara Baldelli, Fabio Ciccarone, Serena Castelli
<b>Brain Connectivity</b>	Fabrizio Vecchio	Francesca Alù, Francesca Miraglia
<b>Bioingegneria della Riabilitazione</b>	Francesco Infarinato	Paola Romano <b>Tirocinanti:</b> Annalisa Maluccio, Valeria Cesarò, Alessandro Pesci, Gabriella D'Albenzio, Claudia Montoni, Agnese Martini, Alessandro Galassi, Sara Ferretti, Luca Rinaldi Poli.
<b>Epidemiologia Molecolare</b>	Patrizia Russo	Palma Lamonaca, Giulia Prinzi, Emilio Rojas
<b>Patologie cronico-degenerative</b>	Anna Teresa Palamara	Paola Checconi, Dolores Limongi
<b>Farmacologia Cellulare e Molecolare</b>	Carolina Muscoli	Luigino Antonio Giancotti, Sara Ilari, Filomena Lauro, Valentina Malafoglia

AREA DI RICERCA	RESPONSABILE	STAFF
Neuromotoria	M. Franceschini	S. Criscuolo, C. Damiani, F. De Pisi, D. Galafate, R. Ginocchi, M. Goffredo, F. Infarinato, D. Le Pera, S. Pournajaf, P. Romano, M. Valente.

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

1. lo studio dei dati epidemiologici di alcune patologie neurologiche che determinano importanti limitazioni funzionali;
2. l'analisi di quanto di innovativo emerge dalla ricerca base e di laboratorio in ambito tecnologico. A tal fine si prosegue un'attività con alcune Aziende di Settore per la messa a punto di prototipi tecnologici con potenziale utilità nella riabilitazione dell'arto superiore nelle persone con lesione neurologica.

Si è inoltre intensificata una rete di collaborazione tra gli IRCCS di area Riabilitativa al fine di condividere progetti comuni per produrre rapidamente casistiche maggiormente significative. L'ambito in cui si sta sviluppando questa attività di ricerca da parte di questo network è quello della continuità assistenziale al momento della dimissione dall'ospedale per la riabilitazione tramite l'uso della teleriabilitazione.

Si sta riprendendo anche l'approfondimento in termini di ricerca su nuovi ed originali sistemi robotici in commercio per il recupero funzionale del cammino e dell'arto superiore.

Nel primo caso le informazioni ricavate possono consentire di influenzare e correggere al meglio il percorso riabilitativo. Questi approfondimenti consentono anche di individuare con maggior precisione scientifica le aree su cui approfondire la ricerca clinica.

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

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

Gli interessi dell'Area sono focalizzati sulle seguenti tematiche:

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

AREA DI RICERCA	RESPONSABILE	STAFF
<b>Parkinson e Disturbi del Movimento</b>	F. Stocchi	M. Casali, C. Coletti, P. Grassini, F.G. Radicati, M. Torti, L. Vacca

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

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

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

La linea di ricerca dell'anno 2017 ha portato a termine progetti già in corso negli anni precedenti e iniziato nuovi progetti. È stato completato lo studio volto ad analizzare con questionari mirati ed una approfondita anamnesi lavorativa il rischio occupazionale (professioni e sostanze di esposizione) in 112 soggetti (casi e controlli) che appartenevano alle categorie lavorative emerse come a rischio. Lo studio ha inoltre confermato alcuni dati già presenti in letteratura come la prevalenza della malattia nel genere maschile e l'associazione inversa con il fumo di sigaretta. Il dato interessante emerso dalla approfondita analisi statistica è l'associazione con le diverse abitudini alimentari ed in particolar modo con il più elevato consumo di carne e salumi e la ridotta assunzione di frutta e verdura.

È stato poi concluso lo studio di tipo osservazionale prospettico in un gruppo di pazienti con MdP che avevano manifestato nel corso della malattia una perdita di peso corporeo non volontaria di almeno il 7% del peso abituale, maggiore rispetto a soggetti sani della stessa età. Il fenomeno della perdita di peso rappresenta un importante elemento clinico, poiché può condizionare la prognosi della malattia e comportare outcome sfavorevoli. Anche il nostro studio ha confermato questo andamento: infatti, su 21 pazienti con perdita di peso, 5 sono stati istituzionalizzati in un arco di tempo relativamente breve (18 mesi). Questo dato rende conto dell'impatto che la perdita di peso può avere sulla Qualità di Vita dei pazienti parkinsoniani e come esso sia un fenomeno correlato ad una maggiore "fragilità". I dati raccolti hanno evidenziato come la sospensione di alcuni farmaci già noti per il loro effetto anoressizzante abbia comportato una normalizzazione del peso corporeo in alcuni soggetti. Si è inoltre evidenziato, nel gruppo di soggetti con perdita di peso, un peggioramento dell'UPDRS totale e un deterioramento dell'assetto cognitivo, come testimoniato anche dal maggior utilizzo di farmaci per la demenza.

Riguardo l'importanza di strumenti riabilitativi innovativi per il trattamento multifunzionale (farmacologico e riabilitativo) della MdP, si è appena concluso lo studio che ha utilizzato il Taping

Neuromuscolare. Questa innovativa applicazione di un nastro, si basa sulla stimolazione eccentrica della cute, del tessuto muscolare, sistema linfatico e vascolare migliorandone le loro funzioni. Il Taping Neuromuscolare fornisce un allungamento passivo attraverso l'applicazione di un nastro elastico con stimoli eccentrici favorendo la flessibilità e la coordinazione e migliorando il movimento. Si sostiene che gli effetti possano essere dovuti ai meccanismi di feedback sensoriali e propriocettivi. Si è concluso in questo anno lo studio che mirava a verificare l'effetto del tape neuromuscolare sul dolore in pazienti con MdP con disturbi della postura e della deambulazione. Per il progetto sono stati arruolati complessivamente 52 pazienti di cui 46 rientravano nei criteri di inclusione. Il campione dello studio era composto da 46 pazienti, 23 pazienti che hanno effettuato il protocollo B (casi) e 23 pazienti il protocollo A (controlli). I risultati clinici e delle valutazioni effettuate con la gait analysis hanno evidenziato un effetto benefico nei pazienti trattati con il NMT e terapia farmacologica rispetto ai pazienti trattati esclusivamente con la terapia farmacologica. È stato inoltre osservato un miglioramento nei sintomi motori e non motori e su alcuni parametri cinematici.

È stata inoltre proseguita la caratterizzazione dei sintomi non motori nella MdP, che nel corso del 2017 è stata rivolta in particolar modo all'analisi del dolore. Più del 50% dei pazienti parkinsoniani infatti lamenta sintomi dolorosi che sono spesso invalidanti e difficili da caratterizzare. Nonostante ciò, il dolore viene sottostimato e rimane non trattato nella maggior parte dei casi, anche se incide in maniera significativa sulla qualità della vita dei pazienti. Per contrastare efficacemente il sintomo "dolore", occorre prima di tutto stabilirne la sua origine, le sue caratteristiche cliniche e la sua relazione con la malattia. Allo stato attuale esistono diverse scale per valutare e descrivere il dolore nella popolazione generale, ma soltanto una specifica per la MdP (King's Parkinson's Disease Pain Scale), che risulta però molto lunga da somministrare nella pratica clinica quotidiana e di difficile interpretazione da parte dei pazienti/caregiver. Lo studio intrapreso si propone di creare e validare una nuova scala per la valutazione e caratterizzazione del dolore nella MdP che possa essere compilata in modo semplice ed intuitivo dai pazienti e dai loro caregiver, in grado di individuare la tipologia del sintomo dolore e stabilirne le caratteristiche cliniche, che renda possibile correlarlo con le diverse fasi della malattia (On e OFF) in vista di un intervento terapeutico precoce e mirato.

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

Nel corso di questo anno si è proseguita l'osservazione della casistica di pazienti affetti da PSP, dedicando particolare attenzione all'analisi dei sintomi "non motori" grazie alla Non Motor Symptoms Scale, al Non Motor Symptoms Questionnaire e alla PSP Scale. Sono stati inclusi nella valutazione tutti i pazienti con diagnosi di probabile di PSP, senza limitazione dell'età di esordio, con fascia età: 40-80 anni, ricoverati presso il reparto di riabilitazione neuromotoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana. Il numero di pazienti osservati nel 2017 è di 15 nuovi soggetti affetti da PSP.

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

Anche nell'anno 2017 l'Area ha aderito alla "*Giornata Nazionale della Malattia di Parkinson*", promossa dall'Accademia Limpe-Dismov, con l'obiettivo di sensibilizzare l'opinione pubblica nei confronti di questa diffusa malattia neurodegenerativa. Il team di professionisti ha deciso di scendere in piazza portando la conoscenza del Parkinson anche al di fuori delle mura dell'ospedale, avvicinandosi sia a chi il Parkinson lo vive ogni giorno, sia a chi invece non lo conosce. L'appuntamento con l'equipe di ricerca dell'IRCCS San Raffaele Pisana ha avuto luogo venerdì 24 Novembre 2017 nella prestigiosa sede dell'Accademia delle Belle Arti di via di Ripetta a Roma. I medici e i ricercatori sono stati a disposizione di pazienti e familiari per dare informazioni sulla malattia di Parkinson.



AREA DI RICERCA	RESPONSABILE	STAFF
<p style="text-align: center;"><b>Centro del Farmaco</b></p> <p style="text-align: center;"><b>e</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Clinical Trial Center</b></p>	<p>Carlo Tomino</p> <p>Laura Vacca</p>	<p>M. Casali, C. Fossati, P. Grassini, F.G. Radicati, P. Stirpe, M. Torti</p>

### **Centro del Farmaco**

La scoperta di un nuovo farmaco è il risultato di una complessa attività di ricerca e sviluppo, molto onerosa sotto il profilo economico-finanziario e con risultati caratterizzati da un'elevata incertezza ed alto rischio di insuccesso. Allo stesso tempo, l'immissione in commercio di un farmaco di successo è caratterizzata da proventi e ritorni economici di grande valore, alcune molecole che raggiungono lo status di cosiddetto "blockbuster drug" arrivano ad avere fatturati mondiali molto significativi.

La sperimentazione degli effetti farmacologici e clinici di un medicinale si sviluppa attraverso diverse fasi finalizzate alla progressiva acquisizione degli elementi di valutazione concernenti l'efficacia e la tollerabilità del farmaco.

Individuare il corretto approccio metodologico è alquanto difficile a causa delle numerose normative di riferimento che, nel tempo, sono andate a costituire un complesso sistema regolatorio con cui i titolari dei brevetti farmaceutici si devono confrontare per tutelare le proprie invenzioni farmaceutiche.

Il Centro del Farmaco (CdF) dell'IRCCS San Raffaele di Roma, esprime una serie di competenze che vanno dal regolatorio alla clinica (prevalentemente neurologia e neuroriabilitazione, cardiologia, pneumologia e geriatria) che lo identificano come una struttura perfettamente in grado di affiancare le aziende farmaceutiche in questo delicato processo di ricerca e sviluppo di nuove molecole.

Di seguito, i servizi "regolatori" che il CdF è in grado di offrire sia alla ricerca no-profit condotta nell'ambito di bandi pubblici sia a terzi partner commerciali:

- a) Sviluppo clinico di nuovi prodotti
  - Completamento e definizione di studi pre-clinici necessari per allestire il dossier clinico di studi "First in Human"
  - Definizione, progettazione e coordinamento di progetti di ricerca (numerose aree terapeutiche presenti presso le proprie strutture sanitarie)
  - Attivazione di studi clinici, Investigators' meeting, sottomissione regolatoria ed etica (Comitato etico in sede)
  - Project management di studi clinici
  - Analisi dei dati e final study report

b) Registrazione & Market access

- Supporto nel processo di “price and reimbursement”
- Supporto per un accesso anticipato al mercato (Legge 648/1996, uso compassionevole, L.94/98, importazione di farmaci dall'estero)
- Definizione e costituzione di board scientifici multidisciplinari
- Supporto nei processi di registrazione (centralizzata, mutuo riconoscimento e nazionale; adaptive licensing, conditional approval, ecc.).

Il CdF lavora in perfetta sintonia con il Clinical Trial Center, il quale supporta operativamente tutte le fasi di progettazione, gestione e conduzione delle sperimentazioni cliniche, nell'ottica di fornire un servizio di ricerca clinica ad elevato livello qualitativo.

Il CdF finora ha supportato i ricercatori nell'IRCSS nelle fasi di presentazione di progetti di ricerca nell'ambito di bandi pubblici (Ministero della Salute, Agenzia Italiana del Farmaco, Ministero dello Sviluppo Economico) e privati (Philip Morris International). Ha inoltre avviato delle collaborazioni con aziende farmaceutiche per lo sviluppo di nuovi farmaci (SciClone Pharmaceutical Limited) e per l'individuazione di nuove indicazioni terapeutiche di farmaci già presenti sul mercato (Molteni). Per quanto riguarda il settore “Registrazione e Market Access”, numerose sono le collaborazioni attivate con aziende farmaceutiche nazionali e internazionali (Takeda, Baxalta, Servier solo per citare le maggiori).

Il CdF è in continua evoluzione, anche in relazione al cambiamento normativo previsto nei prossimi mesi, a causa dell'entrata in vigore del Regolamento Europeo n.534/2014 sulla sperimentazione clinica.

### **Clinical Trial Center (CTC)**

Parallelamente al CdF, presso l'IRCCS San Raffaele è attivo, ormai da molti anni, un Clinical Trial Center (CTC) per supportare le attività di ricerca condotte soprattutto in ambito neurologico.

Il Clinical Trial Center nasce con lo scopo di supportare le unità cliniche nella preparazione, svolgimento e completamento degli studi clinici, siano essi interventistici o osservazionali.

Il Clinical Trial Center è dotato di un regolamento interno relativamente alle funzioni e alle responsabilità di tutti i componenti appartenenti al Team ed ha sviluppato tutte le SOP necessarie per lo svolgimento delle proprie attività.

Attività del CTC prima dell'inizio di uno studio:

- Revisione del Protocollo, CI, CRF, IB (ove applicabile)
- Verifica dei documenti da inviare al CE per il parere
- Organizzazione dell'Investigator's File
- Verifica che attrezzature e strumentazioni siano adeguate
- Verifica della disponibilità dell'IMP in GMP
- Preparazione del piano di monitoraggio
- Training del personale coinvolto

Attività del CTC durante lo studio:

Programmare ed eseguire visite di monitoraggio in accordo al piano di monitoraggio, con particolare attenzione alla:

- verifica dei dati dello studio per quanto riguarda affidabilità e tracciabilità
- verifica della coerenza delle CRF con i dati originali
- verifica del rispetto del protocollo
- verifica delle modalità di ottenimento del consenso informato
- verifica della corretta gestione dell'IMP
- verifica della comunicazione e registrazione degli eventi avversi e reazioni avverse

Attività del CTC al termine dello studio:

Programmare la chiusura dello studio con particolare attenzione a:

- completamento delle queries;
- archiviazione di tutta la documentazione;
- contabilità/restituzione/distruzione dell'IMP;
- mantenimento del Trial Local File in accordo alla normativa vigente;
- supporto al clinico per la stesura del Report finale.

Di seguito gli studi cha hanno visto la diretta partecipazione del CTC (sigle).

RF-2010-2319113	KNEE	MISTERPARKINSON
201190 ZOSTER-049	MITRETRO	ND0612H-006
204486 ZOSTER-056	ORTITO	ND0612H-012
ALD403-CLIN-011	ROBOPARK	NMT-PD
GM-16	ROBOSTROKE	PARKONTHEWAY
HEADWORK	BioBIM	PDCS
I5Q-MC-CGAI	ASI VUS	PESO-PD
LAQ-MS-305 (CONCERTO)	SmartCARE_DEMO	PHGG-PD
REHAB-Migraine	ACQUASANTA	PXT-CL17-001
TEV48125-CNS-30056	REVIS	SWH-MAOB
TEV48125-CNS-30057	EVOL-EEGMRI	TOQ-PD
TEV48125-CNS-30058	RC10/0804	TOZ-CL05
ComNet Project	MEDITO	TOZ-CL06
eWALL-DEMO	ACTIONPARK	GR-2011-02352674
GiBiEx	MARE	GR-2013-02358430 NEUROMASTER
GiBiEx	FRAILCLINIC-INTERVENTION	FARM9LBBBL
GiBiEx	14910A	20110203
PREMIO	6002-014	CLCZ696B2317
SR-NCDs	6002-018	CLCZ696B3401 ARIADNE
BFS-AS-40087	CITIPARK	CLCZ696D2301
COMBIRIAB	CTH-201	FER-CARS-04
COMEROS	EXN-32-CD-002	ISPAF-2
PT009003	GONDOPARK	MK-1242-001
REPOSI 2014	IN11004	Registro TOSCA
PRO-LIVER	IN11004OLE	SIRT
AOSTRO	MICROBIOTA-PD	MISTERPARKINSON
EKSOGAIT	MIRRORPARK	ND0612H-006

AREA DI RICERCA	RESPONSABILE	STAFF
Cefalee e Dolore Neuropatico	P. Barbanti	C. Aurilia, G. Egeo, L. Fofi, L. Durastanti

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

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

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

*a) Epidemiologico*

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

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

*b) Neurofisiologico*

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

*c) Genetico*

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

*d) Terapeutico*

Trattamenti farmacologici:

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

- tossina botulinica: trattamento farmacologico, a scopo di profilassi, effettuato con tossina botulinica infiltrata tramite ago per via intramuscolare, in 31 siti (ma fino a 39) in alcuni punti a livello cervico-dorsale e del capo (secondo un protocollo internazionale)

Trattamenti non farmacologici:

- neuromodulazione: utilizzo dei sistemi di stimolazione elettrica non invasiva del nervo vago e del nervo sovra orbitario nel dolore cefalico cronico;
- nutrizionale: validazione, mediante modelli sperimentali e clinici, dell'efficacia della terapia nutrizionale e della terapia metabolica chetogenica sulla riduzione degli indicatori di low-grade inflammation e nella profilassi dell'emicrania;
- agopuntura: inserimento di sottilissimi aghi in punti precisi che si trovano lungo 'meridiani cinesi' con lo scopo di effettuare trattamento del dolore evitando l'utilizzo di farmaci di prevenzione
- psicologico: ricorso alla MBSR (MindfulnessBased Stress Reduction) per la prevenzione dell'emicrania ad alta frequenza.

AREA DI RICERCA	RESPONSABILE	STAFF
<b>Pneumologia Riabilitativa</b>	Vittorio Cardaci	M. Bisceglia, V. Conti, S. Di Toro, E. Lemontzi, C. Pozzuto, A. Sciannamea, A. Zarzana.

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

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

Per quanto riguarda in particolare la situazione italiana, nel mese di gennaio 2008 il Ministero della Salute pubblica la “Relazione sullo stato Sanitario del Paese 2005-2006”, nella quale dichiara che le malattie respiratorie “rappresentano per numerosità la 3° causa di morte in Italia, dopo le malattie dell’apparato circolatorio e le neoplasie. La bronchite cronica e l’asma colpiscono più del 20% della popolazione di età superiore ai 65 anni e rappresentano per questa fascia di popolazione la terza causa di patologia cronica, dopo l’artrosi/artrite e l’ipertensione (ISTAT, 2003)”.

Il 50% dei decessi per cause respiratorie è attribuibile alla BPCO (ISTAT, Cause di Morte, 2002, 2005), ma l’effetto più drammatico di questa patologia si evince quando si considera che nei prossimi decenni essa è destinata a divenire la quinta causa di disabilità a livello mondiale, valutata in termini di DALYs -disability-adjusted life years (OMS, Ginevra). “In età geriatrica infatti la BPCO grave si associa a comorbidità e contribuisce in maniera significativa alla perdita di autosufficienza ed alla fragilità dell’anziano, specialmente a causa di importanti limitazioni dello stato funzionale, deterioramento cognitivo, problemi comportamentali e alterazioni del tono dell’umore. E’ evidente, quindi, che la patologia respiratoria cronica ostruttiva ha un grande impatto socio-economico sull’individuo ma anche sull’intera società soprattutto a causa dei ricoveri ospedalieri e di terapie complesse e costose (compresa l’ossigenoterapia domiciliare a lungo termine e la ventiloterapia domiciliare). Anche utilizzando una stima conservativa, alla BPCO viene attribuito almeno il 6% dell’intera spesa sanitaria italiana, la quota maggiore è rappresentata dalle ospedalizzazioni” (Ministero della, “Relazione sullo stato Sanitario del Paese 2005-2006”).

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

La soluzione ideale per limitare gli effetti esponenziali di questo problema prevede, secondo il Ministero della Salute, un approccio su più fronti: “prevenire l’evoluzione della malattia, migliorare i sintomi, migliorare la tolleranza allo sforzo, migliorare la qualità della vita, prevenire e ritardare le

complicanze, prevenire e ritardare le riacutizzazioni, ridurre la mortalità. In particolare, le linee guida più accreditate propongono per la BPCO e per una strategia terapeutica “a step”, in rapporto al livello di gravità della malattia. Si inizia dall’intervento preventivo, con l’eliminazione dei fattori di rischio e si prosegue con l’introduzione e l’integrazione dei trattamenti farmacologici e non farmacologici (riabilitazione, ossigenoterapia domiciliare, ventilazione non invasiva, terapia chirurgica)”.

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

Per tale ragione dal 2018 è stata stipulata una convenzione con l’Associazione Pazienti BPCO, volta a favorire la diagnosi ed il trattamento farmacologico-riabilitativo presso l’IRCCS San Raffaele per tutti i Pazienti affetti dalla suddetta patologia

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

A tal proposito è in via di definizione una convenzione scientifico-assistenziale con il reparto di Chirurgia Toracica dell’ IFO di Roma, al fine di creare un percorso “polmone” virtuoso attraverso i benefici di un percorso riabilitativo respiratorio pre e post intervento di chirurgia toracica maggiore.

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

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

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

- Sophos (Astra-Zeneca): Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, a gruppi paralleli per valutare l’efficacia e la sicurezza di PT009 rispetto a PT005 sulle riacutizzazioni della BPCO, della durata di 52 in pazienti con BPCO da moderata a molto grave
- Sprint (Teva): studio osservazionale di fase IV, multicentrico mondiale in pazienti affetti da BPCO ed Asma in terapia con farmaci inalatori in associazione fissa, sul controllo della malattia e sul raggiungimento degli obiettivi terapeutici .
- Novelty (Astra Zeneca): studio osservazionale in pazienti affetti da Asma e BPCO per descrivere le caratteristiche dei pazienti, i pattern di trattamento e l’aggravamento delle patologie nel tempo per identificare fenotipi ed endotipi.
- Studio erogatori ossigeno (in collaborazione con Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive Università Sapienza Roma): Studio delle contaminazioni microbiche e polimicrobiche a carico degli erogatori di ossigeno utilizzati in riabilitazione respiratoria.

- Studio piattaforma: applicazione di un approccio di systems medicine alla valutazione di aspetti terapeutici e riabilitativi in pazienti affetti da malattie non trasmissibili: implementazione di una piattaforma integrata di dati clinici, epidemiologici e biologici.
- “Sviluppo di procedure atte al mantenimento della sicurezza microbiologica di erogatori di ossigeno utilizzati in riabilitazione respiratoria” (in collaborazione con Ministero della Salute e Dipartimento di microbiologia Università Sapienza Roma).



AREA DI RICERCA	RESPONSABILE	STAFF
<p align="center"><b>Riabilitazione Cardiovascolare, Telemedicina e E-HEalth</b></p>	<p align="center">M. Volterrani</p>	<p>D. Battaglia, G. Campolongo, M. Caprio, F. Caretta, V. D'Antoni, C. Erra, F. Iellamo, E. Lippi, V. Manzi, R. Massaro, V. Marzolla,, F. Molinari, V. Morsella, R. Poscia, B. Sposato, I. Spoletini, C. Vitale, L. Vitiello, CD. Vizza.</p>

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

Le principali linee di ricerca riguardano i seguenti ambiti:

1. Clinico/ Gestionale - Riabilitazione in malattie cardiovascolari con particolare attenzione a :

- Meccanismi di recupero funzionale della patologia cronica e disabilitante: analisi dei determinanti di outcome;
- Sistemi innovativi di prevenzione/controllo e promozione della salute, con un interesse specifico per i sistemi di telemedicina e robotica nella riabilitazione: implementazione e validazione di sistemi di teleassistenza e teleriabilitazione in pazienti;
- Modelli organizzativi e gestionali delle disabilità in riabilitazione: implementazione di modelli di "Integrated Care" di gestione delle malattie croniche in ambito territoriale.

2. Ambito cardiologico Clinico:

- Modelli e percorsi riabilitativi: esercizio fisico e modalità innovative di riallenamento allo sforzo. Sviluppo e validazione di device e modalità di training fisico dedicati;
- Individuazione di nuovi biomarkers e loro validazione come indicatori di outcome in cardiopatia ischemica, valvolare e scompenso cardiaco;
- Terapie farmacologiche e device innovativi nel trattamento di pazienti per la prevenzione primaria e secondaria delle malattie cardiovascolari;
- Nuovi percorsi educazionali in ambito di stile di vita e compliance terapeutica;
- Modelli organizzativi innovativi per la continuità assistenziale : telemonitoraggio, teleriabilitazione .

Il Centro di Ricerca Clinica e Sperimentale è interessato a valutare gli effetti dell'esercizio fisico da solo o in associazione a terapie patogenetiche sul recupero funzionale e metabolico. Negli ultimi anni sono state intraprese attività di ricerca in ambito clinico e sperimentale che rivestono un ruolo fondamentale nell'identificare il determinismo del danno d'organo e nell'investigare meccanismi di recupero funzionale dopo riabilitazione, quali: le nuove strategie nella ottimizzazione del metabolismo cardiaco, l'interazione tra tessuto adiposo e danno vascolare, la neo-angiogenesi, l'apoptosi miocardica e vascolare e l'infiammazione cardiovascolare e sui meccanismi molecolari alla base della riparazione del danno funzionale.

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

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

AREA DI RICERCA	RESPONSABILE	STAFF
<b>Epidemiologia clinica e molecolare</b>	S. Bonassi	A. Kisiliaou, P. Lamonaca, M. Neri, I. Paximadas, E. Rocas, G. Prinzi, P. Russo

L'attività di ricerca di questa Area è caratterizzata da una visione di insieme sulla patogenesi e sul trattamento delle principali malattie non trasmissibili. L'Area comprende competenze ed interessi che spaziano dalla prevenzione alla gestione clinica del paziente, incluso il trattamento farmacologico e, particolarmente, quello riabilitativo.

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

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

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

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

Le attività in quest'ambito sono supportate dalla standardizzazione clinica e dall'attività di laboratorio volta ad ottimizzare la gestione delle risorse a disposizione con una pianificazione che consente lo sviluppo di piani adeguati di trasferimento tecnologico di conoscenze di valore in ambito commerciale. Fra gli scopi principali di questa attività vi è la descrizione dell'outcome riabilitativo con un'ottica di systems medicine, dando quindi rilevanza alla personalizzazione dei risultati ed al coinvolgimento del paziente nelle scelte terapeutiche. Sempre con un approccio personalizzato, la valutazione dei fattori predittivi della risposta riabilitativa avviene in funzione del singolo paziente, raccogliendo un notevole quantitativo di informazioni, legate sia allo stile di vita che alla compresenza di altre patologie croniche.

Gli interessi scientifici del gruppo includono gli aspetti di potenziale trasferibilità (tecnologica e gestionale) verso il Sistema Sanitario Regionale. La collaborazione scientifica con il reparto di riabilitazione respiratoria si realizza anche tramite l'attività di ricerca clinica sponsorizzata centrata

essenzialmente sulla valutazione della fattibilità, sicurezza ed efficacia di trattamenti farmacologici investigativi.

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

Un progetto real-world, in collaborazione con tre RSA della rete San Raffaele, si è concluso nel corso del 2017, con un lavoro pubblicato. Lo studio consiste in una sperimentazione sugli effetti derivanti dalla somministrazione dell'estratto del Ginkgo Biloba (IDN 5933) in pazienti residenti nelle suddette strutture (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03004508). L'obiettivo primario è stato di valutare gli effetti di IDN 5933, confrontato con un placebo, in soggetti umani trattati con dosi terapeutiche per sei mesi, in termini di mantenimento dell'integrità del DNA e della stabilità genomica. L'obiettivo secondario è stato di compiere una valutazione preliminare della sicurezza di IDN 5933 in soggetti umani trattati con dosi terapeutiche in termini di reazioni avverse ai farmaci, epatotossicità e genotossicità. Nel corso del 2017 il lavoro è stato concluso. I risultati dello studio saranno pubblicati nel corso del 2018.

All'interno dell'Area, l'attività del gruppo di Epidemiologia Clinica e Biostatistica si è prevalentemente concentrata sull'attività di supporto metodologico a realtà del San Raffaele o esterne, incluso varie realtà internazionali. Fra le realtà interne sono stati analizzati e pubblicati studi con le strutture di Riabilitazione Respiratoria, Cardiologica, e Neurologica. Con l'Area di ricerca sul Parkinson e i disturbi del movimento, sono stati lanciati studi epidemiologici sul ruolo della familiarità e dei fattori di rischio occupazionali in pazienti affetti dalla Malattia di Parkinson. Con l'Area di ricerca sulle Cefalee e dolore neuropatico sono stati analizzati datasets clinici di pazienti con cefalea oltre alla stesura di un lavoro riguardante il fenotipo dell'emigrania condotto su 757 pazienti.

#### *A) Laboratorio di Epidemiologia Clinica e Molecolare*

Le attività di questo gruppo consistono nel coordinamento epidemiologico di due progetti collaborativi internazionali, rispettivamente sull'instabilità genomica (HUMN) e sul danno al DNA (ComNet). Sebbene avviato da molti anni il progetto HUMN (Human Micronucleus) continua a produrre evidenze. Nel corso dell'anno in particolare è stato pubblicato un articolo che affronta in dettaglio tutte le problematiche relative all'uso del test del micronucleo nei linfociti periferici (*Kirsch-Volders et al., RevMutat Res, 2014*). Contemporaneamente è in corso la stesura di uno special issue sull'uso del test del Micronucleo per monitorare l'esposizione occupazionale e ambientale. HUMN ha un data set di circa 12.000 persone e coinvolge circa 50 laboratori internazionali che collaborano alle attività proposte dallo steeringcommittee ([www.HUMN.org](http://www.HUMN.org)). Il secondo progetto è dedicato alla validazione del test della Cometa. Si tratta di un saggio di danno e riparo del DNA molto usato in studi di popolazione e sempre più anche in clinica. Il progetto ComNet ([www.comnetproject.org](http://www.comnetproject.org)) lanciato nel 2013 coinvolge circa 100 laboratori in tutto il mondo con un dataset potenziale di alcune decine di migliaia di soggetti. ComNet affronta i problemi che insorgono nella comparazione dei risultati del Test della Cometa tra diversi laboratori e ha come finalità la validazione di tale test come strumento di biomonitoraggio e come indicatore di rischio di cancro e di altre malattie cronico-degenerative associate all'invecchiamento o alla presenza di mutazioni. Le principali priorità del ComNet Project sono di accertare che il Test della Cometa è uno strumento affidabile di biomonitoraggio per studi sull'uomo e di stabilire la rilevanza del danno al DNA (come misurato dal Test della Cometa) per la salute umana e per il rischio di cancro e di altre malattie legate all'invecchiamento. Nell'ambito di una collaborazione internazionale, sulla base degli importanti risultati dei precedenti studi internazionali - il progetto HUMN, International Collaborative Project on Micronucleus Frequency in Human Populations e il progetto ESCH, European Study Groups on Chromosome Damage and Health - che hanno fornito una decisiva validazione di questi biomarcatori da un punto di vista tecnico e come indicatori di rischio stabilendo il nesso tra il danno al DNA nei soggetti sani e il rischio di cancro, il progetto ComNet si propone di generare un database pooled assemblando dati individuali provenienti da oltre 100 laboratori che lavorano con il Test della Cometa. ComNet Project è uno studio

osservazionale di coorte storica, No Profit, promosso dall'IRCCS San Raffaele Pisana, in collaborazione con la rete di 49 laboratori internazionali, aderenti al progetto ComNet, co-finanziato dall'associazione AIRC (all'interno delle "Call for Proposals 2015").

#### *Unità di Epidemiologia Clinica e Biostatistica*

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

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

AREA DI RICERCA	RESPONSABILE	STAFF
<b>Disabilità dello sviluppo</b>	G. Albertini C. Condoluci	G. Bonanni, G. Di Girolamo, M. Galli, S. Lamberti, L. Majolini, C. Manzia, P. Onorati, G. Orsini, G. Stella, C. Thellung.

Le attività di ricerca svolte nell'ambito del Dipartimento di Scienze delle Disabilità Congenite ed Evolutive Motorie e Sensoriali dell'IRCCS San Raffaele Pisana svolte nel 2017 sono state principalmente rivolte, in continuità con gli anni precedenti, allo studio e all'analisi del movimento nelle sue varie componenti, considerandolo sia negli aspetti biomeccanici che come funzione cognitiva ponendo attenzione alle funzioni neuropsicologiche di base, funzioni esecutive e prassie. Inoltre è stata valutata l'importanza e l'utilità dell'analisi del movimento in relazione agli aspetti clinici in fase di diagnosi e di verifica e follow-up dei vari interventi riabilitativi, sono state valutate nuove tecnologie applicate alla riabilitazione motoria ed è proseguito lo studio del cammino nella sindrome di Down in relazione all'attività sportiva nei giovani e nell'invecchiamento. Su tali argomenti sono quindi stati pubblicati diversi lavori scientifici.

E' continuata anche l'attenzione allo studio dei Disturbi Specifici degli Apprendimenti, in collaborazione con l'Università di Modena e Reggio Emilia.

AREA DI RICERCA	RESPONSABILE	STAFF
<p><b>Organizzazione e gestione dei servizi</b></p>	<p>N. Santucci</p>	<p>E.Pascazio</p>

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

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

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

La Direzione Medica della San Raffaele SpA ha partecipato alla riunione tenutasi il 22/12/2017, su convocazione del Centro Regionale Rischio Clinico-Direzione Regionale Salute e Politiche Sociali-Area Programmazione della Rete Ospedaliera e Risk Management.

Nel corso del 2015 è stato stilato il Regolamento Controllo Comitato Infezioni Ospedaliere (C.C.I.O.) e nel 2017 è stato redatto il PARM - Piano Aziendale di Risk Management, rispettivamente per la San Raffaele SpA e per la San Raffaele Roma Srl.

Nel 2017 si è tenuta l'indagine di prevalenza Infezioni ospedaliere.

AREA DI RICERCA	RESPONSABILE	STAFF
<b>Biobanca</b> <b>Biotecnologie avanzate</b> <b>Biomarker Discovery</b>	F. Guadagni	David Della Morte, Patrizia Ferroni, Silvia Riondino, Antonella Spila, Maria Giovanna Valente

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

In questo complesso e articolato contesto, l'innovazione nei processi clinici (caratterizzata dalla personalizzazione dei processi di cura per diagnosticare precocemente eventi avversi e per ottimizzare il trattamento), e l'innovazione nei sistemi e nelle metodologie per l'integrazione, gestione ed elaborazione dei dati biomedici e clinici (dal dato genetico, cellulare, tissutale, a quello di organo, di apparato e di sistema) rappresentano le basi fondamentali per lo sviluppo e l'implementazione di programmi assistenziali innovativi. Si consideri, inoltre, come, negli ultimi anni, il settore biomedico sia andato sempre più arricchendosi di nuove metodologie e tecnologie (dagli studi di biomarker discovery e scienze omiche, all'applicazione di nanotecnologie nella biosensoristica, ecc.) finalizzate alla realizzazione di nuovi approcci diagnostico-terapeutici in grado di soddisfare da un lato la sempre maggior richiesta di una medicina di precisione, dall'altro quella di una medicina personalizzata in grado di fornire informazioni utili a individuare la risposta di ogni singolo paziente alle eventuali terapie.

Lo sviluppo in campo biotecnologico è stato accompagnato, come conseguenza, da una rapida crescita della quantità di dati biomedici, molecolari ed epidemiologici la cui gestione non può prescindere dall'utilizzo di tecnologie informatiche evolute che consentano non solo la progettazione e realizzazione di piattaforme informatiche per la corretta gestione dei cosiddetti "Big Data", ma soprattutto per aiutare i ricercatori a estrarre conoscenza dai crescenti volumi di dati digitali, al fine di creare dei modelli potenzialmente trasferibili alla pratica clinica in un contesto di medicina predittiva o di precisione (infrastrutture informatiche, software di predizione, APP di gestione, ecc.). Ciò si rende possibile grazie all'applicazione di modelli informatici basati sul machine learning e la formulazione di speciali algoritmi attraverso i quali è possibile effettuare analisi di associazione in maniera retrospettiva finalizzate a generare delle ipotesi future. Attraverso queste nuove tecniche di apprendimento automatico è, infatti, possibile non solo offrire una "predizione" sulla base di quanto accaduto nel passato, ma anche di estrapolare nuove informazioni e/o individuare correlazioni nascoste che sarebbero altrimenti difficili da individuare perché ancora sconosciute. Inoltre, il vantaggio derivante dall'utilizzo degli algoritmi di machine learning deriva dalla loro possibilità di integrazione, previo "addestramento", con le applicazioni già esistenti (es. fascicoli sanitari elettronici), che potrebbe anche consentire la generazione di una "allerta di sistema".

Sulla base di tali considerazioni, l'attività di ricerca dell'Area di Biomarker Discovery e Biotecnologie Avanzate (Laboratorio BioDAT) è stata incentrata su due macroaree integrate e di notevole interesse in un contesto di medicina predittiva e di precisione:

1. Studi di biomarker discovery finalizzati ad individuare nuovi biomarcatori di prognosi e/o risposta farmacologica che possano favorire la promozione di programmi di medicina personalizzata in pazienti con malattie cronic-degenerative.



2. Identificazione e validazione di algoritmi di predizione (attraverso approcci di data mining e machine learning) da utilizzare nella costruzione di software decisionali clinici che forniscano informazioni probabilistiche sia in termini di definizione del rischio sia nell'ottica dell'identificazione di possibili vantaggi preventivi e terapeutici.

L'obiettivo finale è quello di fornire nuovi strumenti decisionali di supporto ai professionisti sanitari per la pianificazione del management clinico di pazienti con malattie cronic-degenerative. Nello specifico, l'attività di ricerca effettuata nel corso dell'anno 2017 ha portato alla validazione di un'applicazione software per la realizzazione di un modello decisionale clinico la cui architettura può essere adattata a vari contesti sanitari previo adattamento agli specifici dataset, addestramento del sistema e customizzazione dell'interfaccia. Tali attività si sono rese possibili grazie alla collaborazione tra le strutture dell'IRCCS, l'Università Telematica San Raffaele ed i Dipartimenti di Medicina dei Sistemi e di Intelligenza Artificiale dell'Università di Roma "Tor Vergata".

Per quanto riguarda l'analisi e la validazione di nuovi biomarcatori (biomarker discovery) in pazienti con patologie cronic-degenerative, il laboratorio BioDAT, in collaborazione con gruppi di ricerca interni (Centro per le cefalee) ed esterni (Università di Roma Tor Vergata, University of Miami, FL, USA) all'IRCCS ha condotto una serie di studi finalizzati all'analisi del rischio di eventi cerebrovascolari in pazienti emicranici. Grazie alla disponibilità di un numero significativo di campioni biologici conservati nella BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (Progetto BioBIM) è in corso l'adattamento al dataset e la customizzazione dell'interfaccia del modello decisionale clinico in questo specifico dataset. Infine, in collaborazione con il Laboratory of Tumor Immunology and Biology del National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, USA, sono proseguiti gli studi per l'analisi dell'espressione della proteina Brachyury (un fattore di trascrizione all'interno del complesso di geni T-box, induttore di transizione epitelio-mesenchimale) in tessuti biotipici di carcinoma mammario e del colon-retto, al fine di verificarne l'idoneità quale bersaglio molecolare in protocolli di immunoterapia.

### **Progetto BioBIM: BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM)**

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

Considerate le potenzialità applicative di questi settori, si può comprendere il notevole interesse della ricerca biomedica nei confronti delle "Banche Biologiche". Infatti, il rapido successo di molti studi è unicamente possibile grazie alla disponibilità di campioni biologici di persone affette, portatrici, o predisposte a patologie su base genetica o ambientale, o che manifestano variabilità alla risposta dei farmaci, possibilmente in comparazione a gruppi di controllo appaiati. Pertanto, la disponibilità di campioni biologici ha oggi assunto un ruolo cruciale nel campo della ricerca biomedica, da quella di base a quella finalizzata, dalla comprensione dei meccanismi etiopatogenetici, dei fattori prognostici/predittivi, e dei parametri diagnostici, alla suscettibilità alla terapia.

La BioBanca InterIstituzionale Multidisciplinare (BioBIM) dell'IRCCS San Raffaele Pisana è, secondo la definizione attuale, una "unità di servizio, senza scopo di lucro, finalizzata alla raccolta e alla conservazione di materiale biologico umano utilizzato per diagnosi, per studi sulla biodiversità e per ricerca". Essa rappresenta un centro di riferimento interistituzionale, in quanto consente la partecipazione a strutture periferiche che non dispongono delle infrastrutture dedicate. La BioBIM rappresenta, pertanto, un network di strutture sanitarie pubbliche e private, ognuna di esse punto di riferimento e di eccellenza nel settore specifico, che ha determinato la possibilità di realizzare nel corso del tempo numerosi progetti di ricerca traslazionale interistituzionali, cui ha fatto seguito una considerevole produzione di pubblicazioni scientifiche su riviste internazionali.

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

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

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

Principali collaborazioni scientifiche:

- Università di Roma "Tor Vergata", UOSD Oncologia Medica, Dipartimento di Medicina dei Sistemi
- Università di Roma "Tor Vergata", Dipartimento di Ingegneria dell'Impresa "Mario Lucentini"
- IBBL – Integrated BioBank of Luxembourg
- University of Miami, FL, USA
- Laboratory of Tumor Immunology and Biology (Consultant, Prof. Guadagni), National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

AREA DI RICERCA	RESPONSABILE	STAFF
Diagnostica per Immagini	A. Pierallini	M. De Santis, E. Ferone, C. Settecasi, D. Vricella.

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

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

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

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

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
Brain Connectivity	Fabrizio Vecchio	Francesca Alù, Francesca Miraglia

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

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

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

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

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

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

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
Bioingegneria della riabilitazione	Francesco Infarinato	<p>Paola Romano</p> <p>Tirocinanti: Annalisa Maluccio, Valeria Cesarò, Alessandro Pesci, Gabriella D'Albenzio, Claudia Montoni, Agnese Martini, Alessandro Galassi, Sara Ferretti, Luca Rinaldi Poli.</p>

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

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

Il Laboratorio, nell'ambito di progetti di collaborazione nazionale e internazionale sullo sviluppo di strumenti innovativi per la riabilitazione e la telemedicina, offre la propria conoscenza e struttura per il "fine tuning" e la valutazione funzionale di nuove piattaforme per la riabilitazione sviluppate in ambito ICT e prototipi robotici, per migliorarne il design, la funzionalità e l'efficacia, garantendo al contempo il rispetto delle necessità degli utenti finali, siano essi le persone con patologia neurologica, i loro parenti e prestatori di cura, i professionisti in ambito sanitario. Grazie alla creazione di focus group ai quali partecipano medici, tecnici, terapisti, logopedisti, bioingegneri, pazienti e associazioni dei familiari di pazienti con particolari patologie, il Laboratorio in collaborazione con il gruppo di Riabilitazione Neuromotoria e con l'Unità di Epidemiologia Clinica e Molecolare, nel 2017 ha contribuito:

- alla definizione e alla raccolta delle necessità e dei requisiti degli utenti finali, alla definizione dei protocolli per le interfacce touchless, alla progettazione di una piattaforma per la teleriabilitazione e alla validazione in ambito domiciliare. (SmartCARE Satellite enhanced Multi-channel e-health Assistance for Remote Treatment and CAREgiving, European Space Agency ESA Tender: AO/1-5891/08/NL/US ARTES 3-4 Satcom Applications Projects);
- alla definizione dei requisiti e all'implementazione di esercizi di terapia del linguaggio in ambito domiciliare e alla creazione di una rete sociale polivalente per l'inclusione, l'empowerment e l'informazione di pazienti con esiti di ictus. (SmartCARE CCN#1; Satellite enhanced Multi-channel e-health Assistance for Remote Treatment and CAREgiving, European Space Agency ESA Tender: AO/1-5891/08/NL/US ARTES 3-4 Satcom Applications Projects);
- alla gestione e definizione della sperimentazione clinica del progetto ACTIONPARK, Action observation therapy: a chance for Parkinson Disease patients of improving mobility through a home-based training."

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

- ✓ Facoltà di Ingegneria – Sapienza Università di Roma

- ✓ Facoltà di Ingegneria – Università degli Studi di Roma Tor Vergata
- ✓ ITSLab - Italia
- ✓ Alpha Consult - Italia
- ✓ CNR ICAR– Italia

Presso il laboratorio sono stati svolti nel 2017 nove progetti di tirocinio:

- Analisi avanzata del segnale elettromiografico per lo studio delle strategie neuromuscolari nel paziente neurologico (in collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 4 mesi).
- Analisi delle caratteristiche dinamiche, cinematiche ed elettrofisiologiche nel paziente neurologico: strumenti per la valutazione della riabilitazione funzionale del cammino (in collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 3 mesi).
- Valutazione e validazione di sistemi avanzati di teleriabilitazione domiciliare (in collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 3 mesi).
- Analisi avanzata dei dati cinematici e dinamici durante sessioni di terapia riabilitativa robotica dell'arto superiore in pazienti con patologie neurologiche (in collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 3 mesi).
- Analisi avanzata dei dati cinematici e dinamici durante sessioni di terapia riabilitativa robotica dell'arto superiore in pazienti con patologie neurologiche (in collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 2,5 mesi).
- Sviluppo di metodi per la sincronizzazione del segnale elettromiografico dell'arto superiore durante l'utilizzo di un robot per riabilitazione (in collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 3 mesi).
- Analisi avanzata del movimento: uso di sistemi optoelettronici, accelerometrici ed elettromiografici per la valutazione della locomozione in soggetti con esiti di ictus (in collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 2,5 mesi).
- Analisi avanzata del movimento: valutazione dell'efficacia del programma riabilitativo mediante l'uso integrato di sistemi optoelettronici, accelerometrici ed elettromiografici (in collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 2,5 mesi).
- Metodi e strumenti per l'osservazione e analisi dei correlati neurali della neuroriabilitazione (in collaborazione con l'Università di Roma La Sapienza e SOUL Sapienza, durata: 3 mesi).

Francesco Infarinato è docente del corso di Elaborazione dei Dati e Segnali Biomedici 1 per il corso di laurea in Ingegneria Clinica dell'Università degli Studi di Roma Sapienza.

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

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
<p align="center"><b>Biochimica dell'invecchiamento</b></p>	<p align="center">Maria Rosa Ciriolo</p>	<p align="center">Sara Baldelli, Fabio Ciccarone Serena Castelli</p>

Il laboratorio focalizza gli interessi di ricerca prevalentemente su:

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

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

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

- 1) biogenesi, fissione (sintesi di nuovi mitocondri);
- 2) autofagia (autodigestione lisosomiale di mitocondri invecchiati e mal funzionanti: *mitofagia*).

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

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

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

Nonostante il ruolo dell'alterazione redox (stress ossidativo) durante l'invecchiamento di modelli animali sia un argomento ampiamente riconosciuto, sono ancora pochi gli studi a livello clinico mirati ad individuare molecole redox quali bio-markers associati all'invecchiamento e/o a patologie correlate. Inoltre, poco è ancora noto sulla specificità delle vie di segnalazione cellulari in risposta a stimoli redox differenti (ad es. over-produzione di specie radicaliche o stress da over-load da disolfuri). Tuttavia, è ben noto che lo stato di ossidazione (potenziale redox) dei tioli extracellulari (glutazione, cisteina,

omocisteina, proteine solforate) risente in maniera ampiamente documentata della dieta (rapporto ossidanti/antiossidanti) e di molte patologie quali malattie metaboliche, neurodegenerative, cardio-vascolari e muscolo-scheletriche. D'altra parte la dieta dell'anziano è notoriamente insufficiente per quanto riguarda l'apporto di proteine ad alto valore nutrizionale, minerali come rame e selenio essenziali per l'azione di enzimi antiossidanti e alimenti vegetali ricchi di vitamine e non-nutrienti (polifenoli) antiossidanti. Infine, studi recenti hanno dimostrato le potenzialità di alcuni polifenoli, tra cui la curcumina e il resveratrolo, di modulare meccanismi epigenetici. Sulla base di queste evidenze, l'attività di ricerca è anche focalizzata sulla valutazione degli effetti di polifenoli sulle modificazioni epigenetiche del DNA (metilazione e idrossimetilazione). La modulazione dello stato redox intracellulare e dei meccanismi epigenetici potenzialmente coinvolti sono valutati anche nel contesto dell'azione anti-microbica e anti-virale degli estratti di polifenoli.

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



LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
Elettrofisiologia	Eleonora Palma	Cristina Roseti

Il laboratorio si occupa principalmente delle seguenti tematiche:

A. Lo studio dei meccanismi molecolari dell'epilettogenesi.

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

B. Funzione di recettori nicotinici muscolari in pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA).

L'obiettivo della ricerca è indagare come il recettore nicotinico muscolare di pazienti affetti da SLA possa contribuire alla progressione della malattia nonché a comprendere le alterazioni molecolari esistenti nella composizione del suddetto recettore che siano in grado di spiegare la sua alterata funzionalità nel muscolo di questi pazienti. Viene inoltre effettuato uno studio traslazionale sull'efficacia di possibili trattamenti terapeutici che prevede un'analisi dei dati clinici direttamente sul paziente SLA e un'indagine dettagliata dei meccanismi fisiologici che possono attivarsi nel tessuto muscolare di questi pazienti in seguito al trattamento. Questa parte della ricerca è svolta in collaborazione con il Centro SLA dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Umberto I di Roma.

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
<b>Patofisiologia della cachessia e metabolismo del muscolo scheletrico</b>	Elisabetta Ferraro	Alessandra Feraco, Stefania Gorini, Francesca Molinari, Laura Vitiello

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

In particolare il laboratorio si occupa del muscolo scheletrico.

Il muscolo scheletrico è un organo chiave nella messa a punto delle terapie riabilitative in caso di malattie cardiovascolari, neurodegenerative e polmonari. L'obiettivo principale degli studi sul muscolo scheletrico è l'analisi dell'effetto di molecole che funzionano come modulatori del metabolismo sulla funzionalità e sulla massa muscolare, nell'ottica di un loro possibile utilizzo nel trattamento di pazienti con disordini caratterizzati da perdita della massa muscolare (Ferraro et al. *Antioxidants & redox signaling* 2014). L'atrofia muscolare associata alle malattie croniche viene definita cachessia. Sia la forza che la massa muscolare si riducono in molte malattie croniche a carico di vari organi (scompenso cardiaco, BPCO, cancro ecc..) e nel corso dell'invecchiamento.

Nel laboratorio è in corso la valutazione dell'effetto di alcuni modulatori del metabolismo sulla massa e sulla funzionalità muscolare di modelli murini di cachessia e di invecchiamento. In particolare, si valuta la capacità di alcuni modulatori metabolici di ottimizzare il metabolismo del muscolo scheletrico e di contrastare l'atrofia muscolare e quindi aumentare la forza muscolare nelle condizioni patologiche riassunte dai modelli murini. E' stata già confermata la capacità della trimetazidina (TMZ) di proteggere cellule muscolari in coltura dall'atrofia (Ferraro et al. *The FEBS journal*. 2013). E' stato inoltre osservato un aumento delle performance fisiche sia in modelli murini di invecchiamento trattati con TMZ, che in modelli murini di cachessia soggetti allo stesso trattamento.

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

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

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

Quando lo scompenso cardiaco è associato alla cachessia, l'efficacia dei trattamenti per lo scompenso si riduce notevolmente e i pazienti hanno una prognosi devastante, indipendentemente dalla frazione di eiezione sinistra. L'eziologia e la patofisiologia della cachessia non sono note e non ci sono trattamenti adeguati per evitare la perdita di peso. Visto l'effetto simil-esercizio fisico individuato per il modulatore metabolico trimetazidina (TMZ) e visto che l'esercizio fisico è una delle poche terapia che ha un certo effetto nel limitare la cachessia cardiaca, l'obiettivo di questo studio è analizzare, in collaborazione con la Dr.ssa Natalia Malara (Universita' Magna Graecia, CZ), il ruolo della TMZ in un modello murino di cachessia cardiaca definito TAC (costrizione aortica trans versa (1). Ci concentreremo sullo studio dell' autofagia.

- Ruolo della proteina apoptotica Apaf1 nel differenziamento muscolare.

Apaf1 e' una proteina chiave nel processo apoptotico. Essa e' la molecola adattatrice attorno cui si assembla l'apoptosoma, il complesso multiproteico che promuove l'attivazione delle caspasi. Recentemente è stato suggerito un ruolo aggiuntivo per Apaf1; infatti, noi abbiamo dimostrato che Apaf1 media il corretto funzionamento del centrosoma (Ferraro et al; 2011) e che svolge un ruolo nella neurogenesi.

Visto che il centrosoma e l'organizzazione del citoscheletro sono cruciali anche per il differenziamento muscolare, con questo progetto ci siamo proposti di studiare la possibile implicazione di Apaf1 nello sviluppo muscolare, in collaborazione con la Dr.ssa Daniela De Zio (Danish Cancer Society Research Center, Copenhagen).

- Role of the adipocyte mineralocorticoid receptor in the development of sarcopenic obesity. Giovani Ricercatori: PI Alessandra Feraco

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

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

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

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
<b>Microbiologia delle Patologie cronico-degenerative</b>	Anna Teresa Palamara	Paola Checconi, Dolores Limongi

L'attività di ricerca è principalmente incentrata sullo studio del ruolo di agenti microbici nella patogenesi di malattie infiammatorie e cronico-degenerative, nelle quali è stato dimostrato il coinvolgimento di alcuni agenti infettivi.

Tale studio potrebbe portare alla comprensione di meccanismi patogenetici di grande rilevanza per l'identificazione di nuove strategie di prevenzione, monitoraggio e/o terapia.

In particolare, il laboratorio si occupa di investigare se le alterazioni dello stato redox intra- ed extracellulare indotte dalle infezioni, in particolari virali, possano costituire un fattore di regolazione della replicazione virale e della risposta immunitaria e infiammatoria dell'ospite.

Il laboratorio si occupa, inoltre di:

- Valutazione dell'efficacia di diverse molecole naturali e di sintesi dotate di attività antiossidante nell'inibire l'attivazione di vie di segnalazione coinvolte nei processi infettivi e infiammatori
- Ricerca di potenziali biomarcatori che possano avere un ruolo predittivo e prognostico per patologie infiammatorie cronico-degenerative
- Studi sul microbiota intestinale di pazienti affetti da malattie neurodegenerative, al fine di comprendere le funzioni microbiche che possono essere associate all'insorgenza di tali malattie.

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
Endocrinologia cardiovascolare	Massimiliano Caprio	Andrea Armani, Caterina Mammi, Vincenzo Marzolla

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

Le attività di ricerca, sia clinica che sperimentale, sono state volte alla identificazione dei meccanismi responsabili del danno d'organo nei pazienti con malattie croniche evolutive, in particolare quelle cardiovascolari e metaboliche, con particolare attenzione all'indagine dei meccanismi di recupero funzionale associati con i processi riabilitativi. In particolare, il laboratorio si occupa di nuove strategie nella ottimizzazione del metabolismo, quali la delicata interazione tra tessuto adiposo e danno vascolare, la chetogenesi, l'apoptosi miocardica e vascolare, l'infiammazione e la fibrosi cardiovascolare, i meccanismi molecolari alla base della riparazione del danno funzionale. Particolare interesse è stato rivolto a patologie croniche debilitanti ad alto impatto sociale come lo scompenso cardiaco, l'obesità e la sindrome metabolica.

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

- Meccanismi di recupero funzionale della patologia cronica e disabilitante: analisi dei determinanti di outcome. Meccanismi fisiopatologici del training fisico nel recupero di organi ed apparati sede di malattia cronica, con particolare attenzione all'aspetto molecolare e cellulare nell'evoluzione della patologia potenzialmente disabilitante attraverso l'utilizzo di modelli cellulari ed animali, normali e transgenici, di modelli controllati di danno d'organo, di modelli di patologia umana e cronica che necessitano di recupero funzionale della disabilità. Effetti delle comorbidità cardio-respiratorie ed endocrino-metaboliche nel raggiungimento dell'outcome riabilitativo. Ruolo del training fisico e della sua associazione con presidi farmacologici sulle alterazioni metaboliche e funzionali nelle patologie croniche ed invalidanti. Studio delle differenze di genere nel rischio cardiovascolare e impatto del fattore età nel ricevere trattamento adeguato per le malattie cardiovascolari.

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
<b>Patologiamolecolare e cellulare</b>	Matteo Antonio Russo	Carolina Lane Alves, Federica Limana, Elena Pontemezzo, Giovanni Puddighinu, Serena Saladini, Luigi Sansone, Enza Vernucci, Marco Tafani.

Le principali competenze del Laboratorio comprendono metodologie di base di biologia molecolare e cellulare (incluse laser capture microdissection e CRISPR), metodologie di base della morfologia standard ottica, di immunofluorescenza confocale multi fotonica e di microscopia elettronica a trasmissione e a scansione, inclusa la microanalisi di base su campioni SEM.

L'attività di ricerca si esplica nell'ambito della mission riabilitativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana. In particolare, con progetti che esplorano i meccanismi di recupero di funzioni perse, in relazione sia a trattamenti riabilitativi tradizionali o innovativi, sia ad interventi farmacologici che ne potenziano gli effetti benefici. Vengono studiati la trasduzione dallo stimolo riabilitativo alla cascata di segnali che portano al recupero di funzione, soprattutto, in tessuti postmitotici dopo danno subletale, come nelle cardiomiopatie (miocardiociti), malattie neurodegenerative (neuroni) e miopatie scheletriche. Inoltre, si comincia a esplorare la stabilizzazione degli effetti benefici che sembrano coinvolgere meccanismi epigenetici influenzabili anche da farmaci.

Un importante risultato di questi studi è l'identificazione di tre classi di proteine che funzionerebbero da trasduttori dei vari stimoli riabilitativi. Esse appaiono normalmente attive per il buon mantenimento e la riparazione delle cellule post-mitotiche.

- a) Una classe è quella delle sirtuine, deacetilasi di classe III che, sensori dello stato metabolico determinato dall'attività fisica, sono in grado di modificare DNA e fattori di trascrizione coinvolti nell'espressione di geni e nella sintesi delle proteine necessarie alla riparazione e al recupero della funzione perduta. Pertanto, le sirtuine, essendo coinvolte nella risposta metabolica, nell'invecchiamento, nei tumori, ecc...ed essendo modulate dall'attività fisica, costituiscono un importante biomarcatore molecolare degli outcome della riabilitazione fisica. Il gruppo di lavoro sta esplorando la loro espressione o attivazione (per esempio farmacologica) per facilitare la sopravvivenza o il recupero cellulare dopo vari tipi di danno subletale.
- b) La seconda classe esplorata è quella delle proteine con dominio LIM anche note come proteine ricche in cisteine (CSRPs). Sono state scoperte prima nelle cellule muscolari scheletriche e poi identificate in altri tessuti come miocardio, muscolo liscio, osteociti e osteoblasti, ecc. con una funzione non solo strutturale (come nel disco Z e nelle densità fusiformi), ma anche di coattivatori o corepressori trascrizionali, per la loro capacità di essere traslocati nel nucleo, e qui influenzare potentemente l'espressione di geni e la sintesi di proteine coinvolte nel mantenimento e nella riparazione delle cellule coinvolte negli effetti benefici della riabilitazione. Infatti, alcuni membri di questa famiglia proteica sono anche noti come meccanosensori sensibili a stimoli meccanici (stiramento, pressione, riabilitazione fisica e forza di gravità).
- c) La terza classe in corso di studio comprende le miopalladine e le palladine, identificate come proteine strutturali del muscolo liscio, ma poi ritrovate nel muscolo scheletrico e in altri tessuti. Similmente alle proteine LIM possono essere traslocate al nucleo e influenzare

l'espressione di geni correlati al mantenimento e alla riparazione di quei tessuti, sotto stimoli meccanici.

Risultano rilevanti altri tre risultati che sono stati in grado di indicare la direzione da seguire per valutare l'importanza di questi meccanismi nella fisiopatologia e nella riabilitazione di funzioni perdute:

- a) E' stata osservata una stretta interazione tra sirtuine e CSRPs come parte di un più grande meccanismo che collega metabolismo e recupero di struttura e funzione cellulare, soprattutto nelle cellule muscolari scheletriche e miocardiche e nei neuroni.
- b) Inoltre, sembra che proteine LIM e palladine possano costituire i fisiologici sensori della gravità terrestre, in assenza della quale (microgravità delle astronavi), muscolo scheletrico, miocardio, osteoblasti e neuroni perdono una importante quota per il normale mantenimento e riparazione cellulare, producendo quella perdita di funzione che si osserva negli astronauti dopo lunghe permanenze nello spazio (ipotrofia muscolare scheletrica, cardiomiopatia dilatativa, osteoporosi, alcuni sintomi neurologici, ecc.).
- c) Infine, vi è una fruttuosa collaborazione con il Dipartimento di Scienze Cardiovascolari, Respiratorie, Nefrologiche, Anestesiologiche e Geriatriche dell'Università degli Studi di Roma "La Sapienza" per la fine dissezione dei meccanismi di danno della cellula miocardica sia nelle malattie da accumulo (Malattia di Fabry, vari tipi di amiloidosi) sia nelle cardiomiopatie dilatative evolventi verso lo scompenso. In varie condizioni si è potuto osservare un importante recupero di funzione contrattile (aumento della frazione di eiezione) in seguito alle strategie messe in atto dopo aver esplorato il sottostante meccanismo di danno.

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
Epidemiologia molecolare	Patrizia Russo	Palma Lamonaca, Giulia Prinzi, Emilio Roca

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

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

Nel corso del 2017 si è attivata la proposta è uno studio interdisciplinare "proof of concept" svolto da un gruppo clinico e di ricerca di eccellenza pionieristico nella Systems Medicine (SM) con l'obiettivo di fornire una conoscenza completa dello stato dell'arte della riabilitazione delle malattie non comunicabili [“Non-Communicable Diseases”: NCDs (malattie croniche cardiopolmonari e neurodegenerative)]. Il progetto sposta l'attenzione clinica e di ricerca verso la medicina personalizzata paziente-diretta, adottando i fenotipi correlati alla malattia a un quadro di ri-classificazione generale delle stesse. Il progetto offre la possibilità di adattare gli strumenti di SM alla real life, convalidando l'insieme delle variabili da raccogliere, misurandone l'impatto e quindi modificando le terapie in base ai fattori individuali. Sono sviluppati modelli di bioinformatica per l'interpretazione dei dati e per ponderare il ruolo del “profiling molecolare in ambito clinico”. L'innovazione filosofica/tecnica, intrinseca agli approcci sistemici, richiede uno sforzo di intensa diffusione. Questo progetto traslazionale genererà risultati e programmi di gestione che saranno trasferiti ai diversi soggetti interessati.

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

La realizzazione di programmi di riabilitazione integrata è particolarmente importante. La riabilitazione integrata è un intervento globale e multidisciplinare, costruito sull'evidenza dei benefici ottenuti dai pazienti in base a parametri di efficacia ed efficienza, oggettivi e quantificabili, volto a ridurre i sintomi, ottimizzare lo stato funzionale, aumentare la partecipazione e ridurre il consumo di risorse sanitarie attraverso la stabilizzazione o il miglioramento della malattia.

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

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



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

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

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

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

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

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

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
Neurobiologia Molecolare e Cellulare	Daniela Merlo	Leonardo Lupacchini Chiara De Dominicis

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

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

1. Determinare il ruolo svolto dall’alterazione dei meccanismi di riparazione del DNA nelle malattie neurodegenerative e nei deficit cognitivi associati a tali patologie.
2. Individuare biomarcatori periferici della malattia di Alzheimer al fine di sviluppare nuovi strumenti diagnostici precoci ed accurati così come di individuare eventuali bersagli terapeutici.
3. Generare neuroni e progenitori neurali chimicamente derivati da fibroblasti di pazienti affetti da malattie neurodegenerative per test farmacologici e studi di medicina personalizzata.

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

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
Fisiologia e Farmacologia del Dolore	Carolina Muscoli	Giancotti Luigino Antonio, Ilari Sara, Lauro Filomena, Malafoglia Valentina

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

Ogni anno, i sistemi sanitari nazionali europei spendono risorse economiche su farmaci e terapie, spesso senza alcun risultato chiaro o permanente. Le linee guida terapeutiche standard non sono abbastanza chiare nella definizione di una strategia adeguata da seguire in condizioni di dolore.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Linea 4. Studio delle disabilità dello sviluppo e neuroriabilitazione pediatrica**

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

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

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

## **LINEA 1**

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

---

## AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

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

Il recupero del cammino è uno dei principali obiettivi della riabilitazione post-ictus e la terapia robotica ha mostrato dei risultati incoraggianti. Recentemente, un esoscheletro indossabile (Ekso™) è stato commercializzato per il riapprendimento assistito della locomozione. Tuttavia, la letteratura scientifica non presenta studi clinici sulla riabilitazione del cammino mediante esoscheletro.

Il progetto si prefigge di:

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

I risultati ottenuti nel 2017 hanno riguardato la sperimentazione della riabilitazione del cammino di 67 pazienti post-ictus subacuti afferenti a diversi centri dello studio multicentrico in corso: 20 (età: 66.2±8.7) sono stati inseriti nel gruppo di controllo (CG) e 47 (età: 56.9±14.1) nel gruppo sperimentale (EG). I pazienti sono stati sottoposti a 15 sessioni di terapia (1 ora per 3 volte a settimana) di riabilitazione del cammino di tipo tradizionale (CG) o tramite Ekso™ (EG). Le valutazioni cliniche sono state eseguite a T1 e T2. E' stato utilizzato il Wilcoxon's test ( $p < 0.05$ ) tra T1 e T2 su un sottogruppo di pazienti (12 ne CG e 18 dell'EG). Incrementi longitudinali significativi sono stati evidenziati in ambedue i gruppi nel Motricity Index (MI), Trunk Control Test (TCT), Functional Ambulation Classification (FAC) e Walking Handicap Scale (WHS). Solamente l'EG ha rilevato incrementi significativi nei test relativi alla deambulazione, ovvero il Six Minutes Walking Test (6mwt-outcome primario), 10-Meter Walking Test (10mwt) e Timed Up and Go (TUG). Nessuna variazione significativa è stata individuata nel Motor Assessment Scale (MAS) in ambedue i gruppi.

Nel corso del 2018 saranno analizzati i segnali elettrofisiologici acquisiti, sarà concluso il reclutamento dei pazienti, e verrà effettuata l'analisi statistica finale sui dati clinici acquisiti.

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

Vi è un interesse elevato sull'uso del trattamento di osservazione dell'azione (Action Observation Treatment - AOT) nella riabilitazione dei pazienti colpiti da ictus. L'AOT, ben noto in neurofisiologia, è un approccio innovativo basato sul sistema dei neuroni specchio ed utilizzato per ricostruire la funzione motoria coinvolgendo le regioni cerebrali relative all'esecuzione dell'azione in individui con mobilità limitata. Questo progetto mira a identificare, per la prima volta in Italia, i biomarcatori neurofisiologici elettroencefalografici (EEG) in grado di prevedere i risultati della riabilitazione e di fornire un protocollo basato su AOT ottimizzato e innovativo per pazienti affetti da ictus. L'EEG viene acquisito ed elaborato per identificare gli stimoli più efficaci, e quantificare i cambiamenti e/o il recupero. Inoltre, viene implementato un innovativo programma di AOT domiciliare. I risultati della ricerca traslazionale garantiscono progressi nell'ottimizzazione e personalizzazione del processo riabilitativo contribuendo così a migliorare la qualità della vita dei pazienti post ictus.

Il progetto si prefigge di:

- Identificare il set di azioni in grado di evocare un maggiore reclutamento del sistema dei neuroni specchio e identificare i biomarker utilizzabili per prevedere gli esiti della riabilitazione.
- Effettuare una sperimentazione clinica in struttura clinica e a domicilio del programma riabilitativo basato su AOT: fattibilità e risultati clinici.

Risultati preliminari su soggetti sani hanno mostrato che l'attivazione del sistema dei neuroni specchio durante l'esecuzione e l'osservazione degli atti motori è associata alla riduzione dell'ampiezza dei ritmi alfa EEG dominanti (8-12 Hz) e dei ritmi beta sulla corteccia sensorimotoria e su alcune aree del sistema mirror (aree di Brodman 40, 44, 45). Inoltre, il trattamento con AOT in un piccolo gruppo di pazienti volontari post ictus, ha mostrato il valore predittivo della desincronizzazione correlata agli eventi dei ritmi alfa EEG durante gli esercizi di riabilitazione. Inoltre, negli studi cinematici, è stato dimostrato che la semplice osservazione delle azioni attiva una simulazione automatica delle azioni osservate, anche se il movimento viene eseguito con un altro arto.

## AREA DI RICERCA CEFALEA E DOLORE NEUROPATICO

### *Sicurezza e tollerabilità della neurostimolazione vagale transcutanea mediante GammaCore® nel trattamento in acuto dell'emicrania in una popolazione pediatrica: studio multicentrico in aperto*

L'emicrania è un disturbo altamente invalidante che colpisce una parte considerevole della popolazione pediatrica (circa 8%), presentando una trasformazione in forma cronica in un sottogruppo considerevole di questi soggetti (Bigal ME et al. *Headache* 2008; 48:1157-1168). Le opzioni terapeutiche nei bambini e negli adolescenti sono limitate in quanto i farmaci studiati ed approvati per il trattamento dell'emicrania in acuto sono pochi rispetto a quelli utilizzati nella popolazione adulta. Analgesici come il paracetamolo e l'ibuprofene possono essere efficaci ma in molti casi non danno una risposta soddisfacente. Di recente è stato approvato l'utilizzo del sumatriptan spray nasale e di almotriptan negli Stati Uniti per il trattamento in acuto di pazienti affetti da emicrania di età compresa tra 12-17 anni. Tuttavia, questi farmaci possono sollevare preoccupazioni sul fronte della sicurezza, in quanto, secondo dati della letteratura, l'abuso di analgesici nei bambini e negli adolescenti è un fenomeno consolidato e che ha raggiunto dimensioni impressionanti (Bigal ME e MA Arruda. *Headache* 2010; 50:1130-1143).

L'esperienza clinica ha confermato nella popolazione adulta l'efficacia della stimolazione non invasiva del nervo vago (nVNS) con GammaCore per il trattamento dell'emicrania in acuto. I risultati ottenuti hanno evidenziato una significativa riduzione dell'intensità del dolore. La stimolazione non invasiva del nervo vago (nVNS) (gammaCore®; electroCore, LLC; Basking Ridge, NJ, USA) ha dimostrato di essere efficace, sicura e ben tollerata come terapia in acuto ed anche di profilassi in soggetti adulti affetti da emicrania, compresa la forma mestruale e da cefalea a grappolo cronica.

Per quanto riguarda la nVNS non ci sono esperienze sugli adolescenti in quanto non sono stati condotti studi in questa particolare e delicata fascia di età.

Pertanto, sulla base dei benefici del trattamento osservati negli studi condotti su popolazione adulta, del potenziale di riduzione nell'uso eccessivo di analgesici e del favorevole profilo di tollerabilità, in questo studio ci si propone di valutare efficacia, sicurezza e tollerabilità della stimolazione non invasiva del nervo vago (nVNS) nel trattamento dell'emicrania in acuto in una popolazione di pazienti tra i 12-17 anni.

Si tratta di uno studio pilota, multicentrico, open label.

I pazienti sono reclutati consecutivamente nei Centri partecipanti. Tutti i pazienti reclutati firmano un consenso informato e quelli considerati eleggibili sono arruolati nello studio.

Lo studio termina nel mese di Dicembre 2017 e prevede 4 settimane di run-in (pre-nVNS) durante le quali i pazienti riportano tutti gli attacchi su un diario clinico e 4 settimane di trattamento degli attacchi in acuto.

I pazienti sono selezionati dall'ambulatorio dell'IRCCS San Raffaele dedicato al trattamento delle emicranie e invitati, con i loro genitori, ad una riunione della durata di circa un'ora in cui è spiegato ed illustrato l'utilizzo del device. Dopo le prime 4 settimane di run-in, trattano da 3 a 8 episodi di emicrania nelle 4 settimane successive. Il trattamento consiste in uno stimolo di 120 secondi, sul lato del collo, a destra e sinistra. I soggetti partecipanti allo studio devono poi registrare su una scala visuo-analogica come varia l'intensità del dolore dopo l'applicazione dello stimolo a 0,5-1-2-24 e 48 ore dopo l'applicazione dello stimolo con il dispositivo.

Il dispositivo gammaCore® è stato ideato per la stimolazione non invasiva del nervo vago sul collo. E' un dispositivo multi-uso, portatile, costituito da una batteria, da un generatore di segnali, due pulsanti per accendere il dispositivo e per controllare l'intensità di stimolazione (range 0-40). Con il gammaCore si effettua una stimolazione del nervo vago sul collo. Il nervo vago una volta stimolato viene attivato e media il rilascio di neurotrasmettitori inibitori a livello del sistema nervoso centrale e riduce l'eccessivo rilascio di glutammato, neurotrasmettitore eccitatorio implicato in un certo numero di differenti disordini neurologici. Il trattamento consiste in uno stimolo della durata di 120 secondi, a destra ed a sinistra, sul lato del collo. Il paziente regola l'intensità di stimolazione in base alla soglia di tollerabilità dello stimolo. Prima dell'utilizzo del



device applica un gel conduttivo sulle superfici di stimolazione e poi posiziona e tiene il gammaCore sulla cute in corrispondenza del passaggio del nervo vago sul collo dall'adulto. Il presente studio si propone di valutare la sicurezza e la tollerabilità della stimolazione non invasiva del nervo vago (nVNS) nel trattamento in acuto di pazienti di età compresa tra 12 e 17 anni con diagnosi di emicrania senza aura.

*Caratterizzazione clinica, disabilità, risposta terapeutica ed outcome in pazienti emicranici con segni clinici di tipo dopaminergico*

La dopamina (DA) è considerata un mediatore chiave nella fisiopatologia dell'emicrania. Una grande serie di evidenze cliniche, genetiche, biochimiche e farmacologiche testimonia che l'emicrania è una patologia caratterizzata dalla ipofunzione del sistema dopaminergico con conseguente sovraregolazione dei recettori per la DA.

Diversi pazienti emicranici manifestano nel corso dei prodromi, della fase algica e postdromica dell'attacco la presenza di sintomi riferibili ad attivazione dei recettori DAergici pre-sinaptici (sbadiglio, sonnolenza, rigidità cervicale) o post-sinaptici (nausea, vomito, euforia). L'identificazione sistematica di tali aspetti clinici può essere rilevante per il paziente in termini terapeutici (orientando semmai il trattamento in senso dopaminergico), prognostici e di disabilità. Al momento non esiste in letteratura una indagine clinico-epidemiologica sistematica sui sintomi DAergici nell'emicrania.

Scopo di questo studio è caratterizzare la prevalenza dei pazienti emicranici con sintomi DAergici, identificare tipo, numero ed associazione di tali sintomi e eseguire una correlazione tra questi gli aspetti socio-demografici e clinici del soggetto allo scopo di stabilire se la presenza di sintomi DAergici nell'emicranico configuri uno specifico endofenotipo.

Sono studiati in modo consecutivo tutti i soggetti affetti da emicrania con e senza aura, emicrania cronica con e senza abuso di farmaci, afferenti all'IRCCS San Raffaele dal 1 Gennaio 2017 al 31 Dicembre 2017. Tutti i pazienti firmano un Consenso Informato allo studio viene loro somministrata una intervista semistrutturata diretta face-to-face per la raccolta dei dati socio-epidemiologici e clinici. Tra le caratteristiche dell'emicrania sono state indagate familiarità per emicrania, esordio del dolore, durata di malattia, durata di cronicizzazione, durata di abuso di farmaci, localizzazione, tipo, frequenza, intensità, durata del dolore, prodromi, fenomeni d'accompagnamento (fotofobia, fonofobia), allodinia, terapia per l'attacco, farmaci di profilassi. La presenza di sintomi dopaminergici è stata stabilita sulla base della presenza di sbadiglio, sonnolenza, rigidità cervicale (s. pre-sinaptici) e nausea, vomito, euforia (s. post-sinaptici). Sono stati inoltre raccolti dati relativi alle abitudini di vita e voluttuarie (fumo, caffè, alcol, BMI, stato civile), comorbidità, uso di contraccettivi orali ed altre terapie concomitanti di tutti i partecipanti allo studio.

Sono stati arruolati 1148 emicranici (F/M: 902/246; emicrania senza aura: 679 pazienti; emicrania con aura: 66; emicrania con e senza aura: 37 pazienti; emicrania cronica: 366 pazienti; cefalea da iperuso di analgesici: 284 pazienti). La presenza di almeno un sintomo dopaminergico durante l'attacco di emicrania è stata osservata in 374 pazienti (32.5%). Centoquarantatre (38.2%) di questi hanno presentato un unico sintomo, 107 (28.6%) due sintomi e 124 (33.2%) tre o più sintomi in combinazione. I sintomi dopaminergici pre e postsinaptici sono stati osservati in combinazione in 121 pazienti (32.3%). Il sintomo dopaminergico più frequentemente rilevato è stato lo sbadiglio (64.4%) seguito da sonnolenza (58.6%), nausea profusa (42%), vomito (27.3%) e rigidità nucale (23%). Lo studio ha confermato che durante l'attacco i sintomi DA compaiono prevalentemente nel corso della fase algica (54%), sono meno frequenti nella fase prodromica (33.6%), ed ancor meno postdromica (27%). Lo studio ha inoltre confermato una durata del dolore più lunga ( $p < 0.0001$ ), la presenza di osmofobia ( $p < 0.0001$ ) ed allodinia ( $p = 0.0002$ ) nei soggetti con sintomi dopaminergici rispetto ai controlli. Non sono state riportate differenze statisticamente significative negli emicranici con e senza sintomi dopaminergici relativamente a comorbidità, uso di contraccettivi orali ed altre terapie concomitanti, abitudini voluttuarie (fumo, caffè, alcol, BMI).

I risultati descritti sono stati confermati dall'analisi statistica multivariata che ha dimostrato negli emicranici con sintomi dopaminergici un rischio aumentato di presentare attacchi di durata più lunga, associati a fenomeni d'accompagnamento quale il vomito, osmofobia ed allodinia.

*Profilassi dell'emicrania mediante trattamento riabilitativo manuale: studio pilota randomizzato controllato con cross-over incompleto (trattamento manuale vero vs trattamento manuale placebo o 'sham')*

L'emicrania è responsabile di disabilità e di peggioramento della qualità di vita direttamente proporzionali 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 sono 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 nei pazienti affetti da emicrania episodica ad alta frequenza afferenti presso l'Unità per la Cura e la Ricerca su Cefalee e Dolore dell'IRCCS San Raffaele Pisana. Tali pazienti, che presentano una importante disabilità cefalalgica ma non sono ancora evoluti in cronicità, sono suscettibili di un approccio manuale riabilitativo prima di iniziare una terapia farmacologica quotidiana di profilassi antiemicranica. La riduzione dei giorni di cefalea e la migliore gestione degli attacchi di emicrania ha lo scopo di ridurre il tasso di disabilità di questi pazienti.

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

L'endpoint primario è la riduzione della frequenza dei giorni di cefalea/mese.

L'endpoint secondario consiste nella riduzione del consumo di analgesici, riduzione dell'intensità media della cefalea valutata mediante VAS; riduzione della disabilità valutata mediante MIDAS e SF-36.

Sono inclusi nello studio: pazienti di sesso maschile e femminile di  $\geq 18$  anni di età afferenti all'Unità per la Cura e la Ricerca su Cefalee e Dolore dell'IRCCS San Raffaele Pisana dal 28-05-2016 ad oggi, con diagnosi di emicrania con o senza aura episodica ad alta frequenza ( $\geq 8-14$  giorni di cefalea al mese) nei 3 mesi precedenti l'inclusione nel protocollo; pazienti in grado di compilare il diario della cefalea e le scale di valutazione per la cefalea (MIDAS, VAS, SF-36) e pazienti in trattamento con la sola terapia medica per l'attacco acuto, ma non in terapia di profilassi.

Sono esclusi dallo studio: i pazienti affetti da altri tipi di cefalee primarie o cefalee secondarie a tumori o masse intracraniche, di età  $\leq 18$  anni; pazienti in terapia con farmaci di profilassi antiemicranica al momento dell'inizio dello studio; pazienti in trattamento con altre metodiche/terapie fisiche (agopuntura, fisioterapia, tecar, etc..) al momento dell'inizio dello studio; pazienti non in grado di firmare il consenso informato e le scale di test previste dal protocollo.

Il protocollo prevede:

- Visita iniziale (T0) e run-in: i pazienti sono visitati dal neurologo dell'Unità per la Cura e la Ricerca su Cefalee e Dolore dell'IRCCS San Raffaele Pisana. Viene effettuata una dettagliata raccolta dei dati anamnestici (diagnosi, terapia farmacologica in atto,

comorbidità, eventuali traumi fisici, utilizzo di bite o ortesi plantari, stile di vita) e viene valutato il diario della cefalea dei 3 mesi precedenti. Dopo la presentazione del protocollo, previo consenso informato, viene consegnato al paziente il diario della cefalea. Nel corso delle prime 4 settimane, il paziente compila solo il diario della cefalea assumendo la propria abituale terapia sintomatica.

- Visita baseline (T1), dopo 4 settimane da T0: viene controllato il diario ed il paziente viene sottoposto alle scale previste dal protocollo (VAS, MIDAS, QoL, SF-36). I pazienti sono liberi di poter assumere la loro usuale terapia farmacologica per bloccare gli attacchi di cefalea. Al termine della visita T1 i pazienti iniziano il trattamento riabilitativo manuale. I pazienti sono suddivisi nei gruppi di trattamento 'vero' o 'placebo' in maniera randomizzata. e sono sottoposti in totale a 16 settimane di trattamenti riabilitativo manuale, a distanza di 2 settimane l'uno dall'altro. La durata di ogni trattamento è di circa 45'.
- Visita di follow up (T2) dopo 16 settimane dal T1: viene valutato il diario della cefalea e sono ripetute le scale di valutazione (VAS, MIDAS, QoL, SF-36). I pazienti del gruppo placebo effettuano per le successive 16 settimane il trattamento riabilitativo manuale vero, mentre quelli del gruppo 'vero' proseguono il trattamento in atto fino alla visita T3.
- Visita finale (T3) dopo 24 settimane: viene valutato il diario della cefalea dei mesi precedenti e sono ripetute le scale di valutazione (VAS, MIDAS, SF-36).
- Follow up telefonico/mail: dopo 3 mesi e 6 mesi dalla fine del protocollo il paziente viene ricontattato dai neurologi per verificare la frequenza della cefalea a 3 e 6 mesi.

Il calcolo del campione è effettuato tenendo conto di un response rate teorico dell'80-85%. Lo studio è di tipo cross-over incompleto AB/BB, pertanto è necessario aumentare la numerosità del campione rispetto ad un cross-over completo AB/BA. Per fare una stima della numerosità campionaria è considerata una differenza media = 8,4 giorni cefalea/mese con una Deviazione Standard 1 = 7,3 e Deviazione Standard 2 = 5,8. Per avere una potenza del campione del 90% ( $\alpha = 0.05$ ), è necessario arruolare 22 soggetti in ciascun gruppo per un totale di 44 pazienti.

Durata del progetto totale: 24 mesi

Al 31/12/2017 sono stati arruolati 39 soggetti (33 F: 6 M). Si sono verificati 6 drop out dopo i primi trattamenti per scarsa compliance da parte del soggetto, 1 screening failure. Non si sono verificati eventi avversi. L'arruolamento dei pazienti continuerà anche nel corso del 2018.

### *Creazione di un Registro per le Cefalee*

*Progetto in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità ed altri centri cefalee italiani: L'impatto della cefalea cronica per la sanità pubblica*

Lo scopo della creazione di un registro nazionale italiano è quello di ottimizzare la definizione e gli endofenotipi dell'emicrania cronica, migliorando la gestione delle risorse economiche e delle procedure legate a questa patologia.

Sono stati arruolati 63 pazienti consecutivi affetti da emicrania cronica (EC) in 4 centri italiani di III livello (Roma, Bologna, Parma, Milano). Durante la visita ambulatoriale i pazienti sono stati sottoposti ad un questionario dedicato che include tutte le informazioni dettagliate sullo stile di vita, dati socio-demografici, caratteristiche cliniche dell'emicrania prima e dopo la cronicizzazione e utilizzo delle risorse (esami strumentali, accessi in Pronto Soccorso, ospedale, invalidità).

Questo studio pilota ha dimostrato che i pazienti affetti da EC: 1) presentano nella maggioranza dei casi sintomi di attivazione trigeminale - una caratteristica non usuale che può essere utile per rilevare differenti endofenotipi e per predire la risposta a trattamenti che agiscono sul sistema trigeminale; 2) si recano frequentemente in ospedale (in prevalenza accessi in Pronto Soccorso); 3) hanno effettuato, spesso in maniera ripetuta, accertamenti inutili o inappropriati; 4) raramente fruiscono riconoscimenti legati relativi alla loro invalidità o indennità.

E' in corso la prosecuzione di questo studio pilota che coinvolgerà più di 20 centri italiani a partire dal mese di febbraio 2018.

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

La malattia di Parkinson (PD) è una patologia neurodegenerativa cronica e progressiva, caratterizzata da disturbi motori di tipo extrapiramidale e disturbi non motori. Alcuni studi hanno mostrato che i pazienti con PD presentano un peso corporeo inferiore a soggetti sani della stessa età. Tale perdita di peso non intenzionale sembrerebbe spesso precedere le manifestazioni cliniche motorie della malattia e quindi la diagnosi. Il fenomeno della perdita di peso rappresenta un importante elemento clinico, poiché può condizionare la prognosi della malattia e comportare outcome sfavorevoli.

Sono stati ipotizzati vari fattori causali tra i quali, soprattutto negli stadi avanzati, mancanza di appetito per immobilità, disturbi motori e della coordinazione mano-bocca, difficoltà nella masticazione e disfagia, nausea, ipomotilità intestinale, movimenti involontari, terapia con levodopa. Tuttavia, tali fattori non sono in grado di spiegare univocamente e completamente il fenomeno. L'ipotesi fisiopatologica riportata da vari studi ritiene che l'ipertono muscolare caratterizzante la malattia, possa causare un aumento del dispendio energetico e quindi la perdita di peso.

L'obiettivo di questo studio è analizzare il fenomeno della perdita di peso dal punto di vista clinico e metabolico su un campione di pazienti con malattia di Parkinson che abbiano perso peso, comparandoli con un campione di soggetti con malattia di Parkinson che non riferiscono perdita di peso.

Lo studio si prefigge di:

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

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

In questo terzo ed ultimo anno di studio si è provveduto a terminare le visite di controllo (T1) per i soggetti appartenenti al gruppo dei casi. Hanno completato la seconda visita 13 pazienti. Tutti i pazienti con Body Mass Index (BMI) inferiore a 24 hanno effettuato, la consulenza con il medico nutrizionista. Durante il corso dello studio quattro soggetti hanno ritirato il loro consenso (due per impossibilità a raggiungere il centro a causa delle condizioni di salute, due per l'aggravarsi del deterioramento cognitivo già presente al baseline). Cinque soggetti sono invece stati istituzionalizzati nel periodo di tempo trascorso tra la prima visita ed il follow up (18 mesi). Si è inoltre provveduto all'arruolamento di tre nuovi controlli raggiungendo così la numerosità del campione prevista dal protocollo. A causa della scarsa motivazione dei soggetti e alla loro minore aderenza alle procedure del protocollo, si era deciso di effettuare una sola visita in questa popolazione. Comunque tutti i controlli, durante gli abituali follow-up effettuati negli ambulatori

del Centro Parkinson, una nuova valutazione **unified Parkinson's disease rating scale (UPDRS)**, con verifica del peso attuale e la rilevazione di eventuali modifiche terapeutiche. Le caratteristiche cliniche dei casi al T0 e al T1 e dei controlli inclusi nello studio sono riassunte nella Tabella 1.

	<b>CASI (N=21) T10</b>	<b>CASI (N= 13) T1</b>	<b>CONTROLLI (N=20)</b>
<b>ETA' (MEDIA ± DS)</b>	70,19 ± 6.2		69.4 ± 8.1
<b>SESSO (N)</b>	10 M, 11 F	4 M, 8 F	15 M, 5 F
<b>SCOLARITA' (MEDIA ± DS)</b>	11.14 ± 4.47	-	11.8 ± 3.42
<b>PATOLOGIE CARDIOVASCOLARI (%)</b>	33	23.07	35
<b>DIABETE (%)</b>	4.7	7.69	5
<b>PATOLOGIE GASTROENTERICHE (%)</b>	14	23.07	5
<b>ANNI DI MALATTIA (MEDIA ± DS)</b>	12.09 ± 6	-	10.2 ± 5.45
<b>TERAPIA CON LEVO-DOPA (%)</b>	100	100	100
<b>MG LEVO-DOPA/DIE (MEDIA ± DS)</b>	655.95 ± 254.57	613.46 ± 252.61	540 ± 198,24
<b>TERAPIA CON IMAO (%)</b>	66.6	53084	90
<b>TERAPIA CON COMT-I (%)</b>	57.1	23.07	50
<b>TERAPIA CON DA (%)</b>	38.1	46.15	45
<b>TERAPIA CON AMANTADINA (%)</b>	9.5	15.38	10
<b>TERAPIA CON ANTIDEPRESSIVI/ANTIPSIKOTICI (%)</b>	23.8	46.15	20
<b>TERAPIA PER LA DEMENZA (%)</b>	9.5	15.38	5
<b>HOEHN &amp; YAHR (MEDIA ± DS)</b>	2.8 ± 0.29	2.76 ± 0.56	2.52 ± 0.37
<b>UPDRS TOTALE (MEDIA ± DS)</b>	47.33 ± 13.65	51.69 ± 17.52	41.6 ± 14.75
<b>AIMS (MEDIA ± DS)</b>	5.25 ± 4.22 (N=20)	4.54 ± 3.67	5.16 ± 4.42 (N=10)
<b>MOCA (MEDIA ± DS)</b>	20.9 ± 5.21	22.07 ± 4.192	22.2 ± 4.89
<b>BMI (MEDIA ± DS)</b>	22.7 ± 4.16	23.83 ± 4.46	26.74 ± 3.05
<b>PESO PERSO (MEDIA ± DS)</b>	13.82 ± 7.23	+ 4.3 (N= 7) - 1.63 (N= 6)	NA
<b>MNA (MEDIA ± DS)</b>	20.9 ± 3.95	23.19 ± 2.41	25.67 ± 1.79

I dati raccolti durante la seconda visita hanno evidenziato come sette soggetti fossero stati in grado di recuperare il peso perso, nella maggior parte dei casi grazie alla sospensione di farmaci già noti per il loro effetto anoressizzante. Sei soggetti hanno invece continuato a perdere peso (-1.63

kg rispetto al T0). Si è inoltre evidenziato un peggioramento dell'UPDRS totale (+4.36 punti) e un deterioramento dell'assetto cognitivo, come testimoniato anche dal maggior utilizzo di farmaci per la demenza (+5.88%). Entrambi i dati concordano con quanto riportato in letteratura, dove il minore BMI è stato messo in correlazione con un peggioramento sia della sintomatologia motoria che di quella cognitiva dei pazienti parkinsoniani, sia in fase iniziale che avanzata di malattia.

Tutti i soggetti con BMI inferiore a 24 sono stati sottoposti ad una consulenza con il medico nutrizionista, ricevendo consigli su come migliorare la loro dieta. Tali consulenze hanno evidenziato come alcuni pazienti percepissero come adeguata una dieta in realtà scarsa per tipologia di alimenti e per quantità. L'alterazione più frequentemente riscontrata era una importante riduzione della quantità di proteine assunte, per la paura di causare una minore efficacia del farmaco Levodopa.

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

Tutti i dati raccolti sono stati caricati su supporto informatico ed inviati al servizio di Epidemiologia clinica dell'Istituto per l'analisi statistica e di correlazione. Nel corso del 2018 si prevede l'analisi dei dosaggi di adiponectina, leptina ed Interleuchina 6 nelle aliquote di pazienti e controlli, adipochine note in letteratura per il loro effetto anoressizzante.

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

La malattia di Parkinson (PD) e la paralisi sopranucleare progressiva (PSP) sono patologie a carattere neuro-degenerativo croniche e progressive, caratterizzate da disturbi motori e disturbi non motori. Alcuni studi hanno evidenziato che i pazienti affetti da PD e PSP presentano una motricità orale spesso ridotta rispetto alla categoria di persone della stessa età non affette dalla malattia ed una difficoltà nella deglutizione, la quale tende ad emergere tuttavia, in quanto sintomo non motorio, solo in un secondo momento rispetto alla diagnosi primaria. I disordini della deglutizione insorgono molto precocemente e i muscoli del distretto oro-bucco-faciale sono fondamentali sia per quanto riguarda l'efficace articolazione del linguaggio, che per la gestione delle varie consistenze durante l'ingestione di boli liquidi, semisolidi, solidi morbidi, solidi e doppie consistenze.

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

Il questionario è stato utilizzato come mezzo di screening precoce allo scopo di evitare impieghi superflui di attrezzature cliniche (Ad esempio la fiberoptic endoscopic examination of swallowing - FEES) laddove non ce fosse reale bisogno. Altro obiettivo è quello di dimostrare una certa attendibilità tra ciò che il paziente riferisce, e ciò che il Logopedista riscontra durante la fase di *Bedside Examination*.

Gli obiettivi dello studio sono:

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

– Ricercare una ipotetica correlazione tra deficit a carico della parola e deficit deglutitorio.

L'obiettivo finale è quello di sottoporre il questionario a 120 pazienti con Malattia di Parkinson per consentire attraverso l'analisi degli items, una distinzione in merito ai livelli di disordine deglutitorio. Si è deciso infatti di aumentare la numerosità del campione inizialmente stabilita in 100 soggetti per ottenere una maggiore significatività statistica.

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

Tutti i pazienti sono seguiti e monitorati durante lo svolgimento del trattamento attraverso l'esecuzione delle prassie orali eseguite durante i setting logopedici previsti per tutta la durata della degenza ospedaliera.

Al momento dell'inclusione, sono effettuati:

1. Indagine dell'orientamento Spazio/Temporale;
2. Analisi della motricità orale attraverso l'esecuzione su richiesta verbale delle prassie orali;
3. Indagine delle abilità diadococinetiche riguardanti coppie bisillabiche di fonemi anteriori, mediali e posteriori;
4. Indagine delle abilità deglutitorie mediante somministrazione di un questionario soggettivo ed oggettivo eseguito con tutte le consistenze proposte per lo studio clinico delle abilità deglutitorie;

Il questionario ideato per l'indagine e la verifica dell'andamento deglutitorio, è composto da 20 domande volte ad indagare le seguenti aree: difficoltà nella gestione di cibi solidi e liquidi sia nella fase orale che esofagea, permanenza di residui di cibo/comprese nel cavo orale, scialorrea, pregressa anamnesi per infezioni bronco-polmonari che facciano supporre una eziologia *ab ingestis*. I pazienti sono reclutati in modo consecutivo, tanto da rendere il più veritiero ed attendibile possibile il questionario. Tutti i pazienti sono valutati il giorno successivo all'ingresso in reparto e tutti si trovavano in stato farmacologico di ON.

Nel 2017 sono stati reclutati ulteriori 39 pazienti affetti da Morbo di Parkinson, raggiungendo il target prefissato di 120 pazienti.

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

- età media di 71.80 anni;
- durata media di malattia pari a 12.07 anni;
- maschi numero: 29
- femmine numero: 10

Si è inoltre provveduto alla creazione di un database dedicato e alla trascrizione dei dati raccolti su supporto informatico ricavato dal questionario. Il questionario è composto da 20 items, dei quali si è cercato attraverso un'indagine di frequenza di risposta preliminare data da parte dei pazienti, di capire quali fossero più significativi rispetto ad altri, di seguito riportiamo i risultati finali dei 120 pazienti reclutati.

ITEMS	DESCRIZIONE	SI %
1	Difficoltà masticazione cibi solidi	36,70
2	Residui cibo nella cavità orale	60,20
3	Fuoriuscita di cibo/liquidi dal naso	9,05
4	Fuoriuscita cibo dalla bocca	20,00
5	Maggiore quantità di saliva	55,50
6	Necessità di deglutire più volte	40,80

7	Difficoltà a deglutire cibi solidi	45,20
8	Difficoltà a deglutire cibi semisolidi	5,60
9	Cibo bloccato a livello della gola	47,87
10	Presenza di tosse durante deglutizione cibi liquidi	23,50
11	Presenza di tosse durante deglutizione cibi liquidi	18,87
12	Raucedine o abbassamento della voce dopo mangiato	19,62
13	Sensazione di saliva che penetra in trachea (al di fuori del pasto)	26,32
14	Difficoltà a respirare durante i pasti	7,56
15	Anamnesi di infezioni respiratorie ricorrenti	7,87
16	Tempo >20 minuti per consumare un pasto	43,67
17	Difficoltà ad assumere le compresse	32,12
18	Sensazione di cibo bloccato nell'esofago	28,02
19	Dolore retro-sternale durante il pasto	7,98
20	Necessità di bere molti liquidi per deglutire	28,12

Come visibile dalla tabella e come accennato sopra, si è cercato di notare a quali risposte i pazienti avessero risposto di Sì più frequentemente rispetto ad altre; in seguito a tale osservazione si è deciso di suddividere la popolazione campionata in 4 fasce: 0-1-2-3-, dove 0 rappresenta la totale assenza del disordine, 1 una lieve presenza di difficoltà deglutitoria, 2 una moderata presenza di disturbi e 3 un severo grado di disfagia.

Questa suddivisione è stata successiva all'analisi delle risposte fornite dai pazienti, seguita e confermata poi da una valutazione funzionale oggettiva del Logopedista eseguita a T0 in *bed side examination*. Ogni paziente poi è stato successivamente incanalato in una delle 4 fasce, sulla base sia delle risposte fornite in modo soggettivo da se stesso durante l'intervista, sia dalle prove alimentari eseguite immediatamente dopo.

Ciò che è emerso in questi 24 mesi, è stata una forte e specifica corrispondenza tra le risposte date durante il questionario dal paziente stesso e la valutazione funzionale; ciò sta a significare che il questionario si è dimostrato uno strumento utile e immediato nel supportare una rapida categorizzazione ed individuazione dei soggetti a rischio.

Da quanto emerso dall'analisi finale dei 120 pazienti visionati, il 26,40% della popolazione riferisce gravi difficoltà nella gestione di varie consistenze alimentari, che determinano forte disfagia; il 22.62 % presentava sintomi moderati, il 9.88% presentava sintomi lievi ed il 41.1 % non riferiva e riportava segni disfagici. Il dato rilevato dalle risposte date dai pazienti concorda con la valutazione oggettiva effettuata dal Logopedista atta a rilevare il grado di disordine deglutitorio.

#### *Studio pilota per la valutazione dell'effetto del Taping neuromuscolare nei pazienti Parkinsoniani*

La malattia di Parkinson (MdP) è un disturbo motorio progressivo e degenerativo di tipo neurologico caratterizzata da una triade sintomatologica che consiste in: tremore, rigidità e bradicinesia. A questi sintomi si aggiunge spesso un'alterazione posturale che può distinguersi in



due atteggiamenti differenti, quali la camptocormia e la sindrome di Pisa. Progredendo nella sua evoluzione, la MdP diventa sempre più disabilitante, rendendo difficili o persino impossibili attività quotidiane come lavarsi o vestirsi. Il paziente con MdP, per migliorare la qualità della vita, è costretto a continue cure farmacologiche e a trattamenti riabilitativi per contrastare la progressione del sintomo e la degenerazione anatomopatologica. A differenza dei classici sintomi, l'alterazione posturale sembra non essere soggetta all'effetto della Levo-dopa; per questo motivo risulta fondamentale l'ambito riabilitativo. Si è voluto valutare se l'applicazione di una stimolazione con Taping Neuromuscolare può determinare benefici effetti nei pazienti affetti da MdP soprattutto sulle componenti postura, rigidità e deambulazione. La postura anomala, con alterazione degli arti, del collo e del tronco, è una caratteristica ricorrente nella MdP, con una frequenza di circa 30%. Tra il 2% e 12.3% sono presenti anomalie più gravi come la camptocormia, la sindrome di Pisa e l'anterocollo. Alcuni studi sottolineano l'importanza dell'integrazione di strumenti riabilitativi per il trattamento multifunzionale (farmacologico e riabilitativo) della MdP. Diversi studi inseriscono il Taping Neuromuscolare tra gli strumenti riabilitativi nelle sindromi neurologiche degenerative. D'altro canto, nessuno studio sul Taping Neuromuscolare ha valutato il miglioramento della stabilità posturale e del range di movimento in soggetti affetti da MdP. Il Taping Neuromuscolare è un trattamento che induce micro movimenti che stimolano i recettori della cute. È comunemente usato nella traumatologia dello sport e ultimamente proposto per i pazienti affetti da Sclerosi Multipla. L'applicazione di un nastro elastico sulla pelle induce un effetto terapeutico locale ma allo stesso tempo distante per riflesso. L'applicazione del Taping Neuromuscolare con una tecnica decompressiva ed eccentrica dilata gli spazi interstiziali e quindi migliora la circolazione e l'assorbimento dei liquidi riducendo la pressione sotto cutanea favorendo il rilasciamento muscolare.

Il Taping Neuromuscolare fornisce un allungamento passivo attraverso l'applicazione di un nastro elastico con stimoli eccentrici favorendo la flessibilità e la coordinazione e migliorando il movimento in pazienti che soffrono di eccessiva contrazione muscolare a causa delle diverse condizioni cliniche. È stato ipotizzato che l'applicazione del Taping Neuromuscolare sia in grado di stimolare i meccanocettori cutanei. Questi recettori si attivano quando carichi meccanici (tatto, pressione, vibrazione) creano deformazioni della cute. La loro attivazione tramite uno stimolo adeguato provoca depolarizzazione locale, che innesca l'impulso nervoso che viaggia lungo le fibre afferenti verso il sistema nervoso centrale. Lo studio mira a quantificare l'efficacia del Taping Neuromuscolare come metodo di trattamento per migliorare la rigidità articolare, la postura, la deambulazione e l'autonomia nelle attività di vita quotidiana.

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

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

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

Lo studio ha previsto l'arruolamento di soggetti con MdP che afferivano al Clinical Trial Centre dell'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma con anomalie posturali e deficit della deambulazione. I pazienti sono stati sottoposti a:

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

- Somministrazione di scale specifiche cliniche. (ai tempi T0-T1-T2-T3)

Il Trattamento con Taping Neuromuscolare è stato effettuato per 4 settimane a cadenza bisettimanale (T0-T1). Le Valutazioni successive (T2-T3) sono state effettuate per quantificare gli effetti del Taping Neuromuscolare a lungo termine. La Gait Analysis (GA) è stata utilizzata come metodo di valutazione computerizzata quantitativa multifattoriale e tridimensionale del cammino che ha permesso di misurare in modo obiettivo e quantitativo le variazioni posturali.

E' stata effettuata una correlazione tra parametri biomeccanici e punteggi delle scale cliniche, al fine di valutare le correlazioni statistiche che verranno calcolate tenendo conto delle variazioni nei parametri biomeccanici e le modifiche corrispondenti nelle scale cliniche (MDS-UPDRS, TINETTI, EQ-5D, PDQ-8). Il coefficiente di Pearson è stato utilizzato per i dati parametrici e il coefficiente di Spearman per i dati non-parametrici.

Il protocollo A ha previsto la somministrazione farmacologica di:

- Terapia anti-parkinsoniana (Levo-dopa, Dopamino-agonisti, inibitori enzimatici).
- Terapia anti-parkinsoniana stabile da almeno 2 settimane precedenti all'inclusione del paziente nello studio, fino al termine dello studio compresi i tempi di follow-up (T2-T3).
- Terapia anti-parkinsoniana senza alcuna modifica del dosaggio, qualora non sia ritenuto necessario dal medico sperimentatore.

Il protocollo B ha previsto l'applicazione del Taping Neuromuscolare nei seguenti distretti:

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

Il Protocollo B ha previsto inoltre la somministrazione farmacologica di:

- Terapia anti-parkinsoniana (Levo-dopa, Dopamino-agonisti, inibitori enzimatici).
- Terapia anti-parkinsoniana stabile da almeno 2 settimane precedenti all'inclusione del paziente nello studio, fino al termine dello studio compresi i tempi di follow-up (T2-T3).
- Terapia anti-parkinsoniana senza alcuna modifica del dosaggio, qualora non sia ritenuto necessario dal medico sperimentatore.

Per il progetto sono stati arruolati complessivamente 52 pazienti di cui 46 rientravano nei criteri di inclusione. Il campione dello studio era composto da 46 pazienti, 23 pazienti che hanno effettuato il protocollo B (casi) e 23 pazienti il protocollo A (controlli). Il gruppo dei casi era composto da 15 uomini e 8 donne, con un'età media di 71,6 ( $\pm$  7.1), 10.4 ( $\pm$  7,5) anni di malattia, 643,75 mg ( $\pm$ 756,25) LEED al giorno e di stadiazione H&Y tra il 2 e 3. Il gruppo di controllo era composto da 13 uomini e 10 donne, con un'età media di 70,4 ( $\pm$  9.7), 7,1 ( $\pm$  5.0) anni di malattia, 624,25 mg ( $\pm$ 695,75) LEED al giorno e di stadiazione H&Y tra 2 e 3. Le valutazioni effettuate con Gait Analysis e con scale di valutazione, miravano a quantificare gli effetti dei due protocolli e la loro persistenza nel tempo. I pazienti al termine del trattamento hanno presentato risultati differenti, con variazioni significative principalmente nel gruppo dei casi, che è stato sottoposto quindi al trattamento con Taping Neuromuscolare e terapia farmacologica. Le misurazioni effettuate con Gait Analysis miravano a determinare se ci fossero state, nel corso del trattamento, modificazioni significative per quanto riguarda:

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

Nessun paziente è uscito prematuramente dallo studio e tutti i partecipanti hanno completato tutte le fasi del protocollo (n=46). Le caratteristiche cliniche sono esposte nella tabella:

	NMT+PT Group	PT Group
n. of subjects	23	23
M/F ratio	15/8	13/10
Age (years)	71.6 (7.1)	70.4 (9.7)
Disease duration (years)	10.4 (7.5)+	7.1 (5.0)
Hoehn & Yahr (range)	2-3	2-3
Moca	24.3 (2.8)	24.1 (3.3)
Levodopa equivalent dose	643,75 mg ( $\pm$ 756,25)	624,25 mg ( $\pm$ 695,75)

Risultati: di seguito i risultati delle scale cliniche effettuate prima e dopo il trattamento:

	NMT+PT Group			PT Group		
	PRE session	POST session	% variation	PRE session	POST session	% variation
MDS-UPDRS part I	12.6 (6.5)	11.9 (6.3)*	-5.2%	12.6 (6.7)	13 (6.8)	+2.8%
MDS-UPDRS part II	14.4 (6.8)	13.8 (5.8)	-3.6%	14.0 (8.8)	14.0 (8.9)	+0.3%
MDS-UPDRS part III	33.4 (14.2)	31.5 (13.4)*	-5.6%	28.0 (11.1)	28.2 (11.1)	+0.6%
MDS-UPDRS part IV	2.9 (3.9)	2.8 (3.8)	-2.9%	3.7 (4.1)	3.7 (4.1)	0%
PDQ8	25.0 (19.5)	22.6 (19.5)*	-9.8%	23.8 (17.8)	24.7 (19.3)	+3.8%
NMS	52.9 (32.2)	49.3 (29.9)*	-6.9%	49.4 (26.3)	49.4 (36.3)	+0.2%
EQ5D	3.8 (2.0)	3.2 (1.8)*	-16.1%	3.6 (2.5)	3.6 (2.5)	0%
FoG	9.7 (7.4)	8.9 (6.9)*	-8.1%	6.3 (7.7)	6.3 (7.7)	0%

Table II: Clinical Scales comparisons between the NMT+PT Group and PT Group in PRE and POST session and % variation for each score. \* $p < 0.05$ , PRE vs. POST session.

Abbreviations: UPDRS: Unified Parkinson's Disease Rating Scale; PDQ8: Parkinson's Disease Questionnaire; NMS: Non-Motor Symptom assessment scale; EQ5D: Euroquol; FoG: Freezing of Gait.

Nella prossima tabella mostriamo i risultati delle valutazioni eseguite attraverso la gait analysis:

	NMT+PT Group			PT Group		
	PRE session	POST session	% variation	PRE session	POST session	% variation

$\alpha 1$ (°)	14.7 (6.9)	12.9 (6.2)*	-12%	13.3 (10.5)	13.8 (10.7)	-4.2%
$\alpha 2$ (°)	6.3 (4.5)	4.9 (4.1)	-21.8%	4.8 (4.1)	5.5 (4.9)	15.8%
$\alpha 3$ (°)	5.3 (5.09)	4.6 (4.6)	-12.8%	5.7 (4.6)	6.7 (5.3)	18%

Table III: Mean and standard deviation values of kinematic parameters for the NMT+PT Group and PT Group in PRE and POST session and % variation for each parameter. \* $p < 0.05$ , PRE vs. POST session.

Abbreviations:  $\alpha 1$ : sagittal trunk inclination;  $\alpha 2$ = shoulders tilt (frontal plane) and  $\alpha 3$ = shoulders rotation (transversal plane).

I risultati clinici e delle valutazioni effettuate con la gait analysis hanno evidenziato un effetto benefico nei pazienti trattati con il NMT e terapia farmacologica rispetto ai pazienti trattati esclusivamente con la terapia farmacologica. E' stato inoltre osservato un miglioramento nei sintomi motori e non motori e di alcuni parametri cinematica della Gait analysis.

### *Creazione e validazione di una nuova scala specifica sul dolore nei pazienti parkinsoniani: Scala dolore autosomministrata nella Malattia di Parkinson (SDAS-MDP)*

La malattia di Parkinson (Mdp) è un disturbo motorio progressivo e degenerativo di tipo neurologico. Nonostante la patologia si presenti in genere dopo i 65 anni, circa il 15% delle persone affette sviluppa una malattia a "esordio precoce" prima di raggiungere i 50 anni. Sebbene il dolore nella Mdp sia un sintomo riportato già nelle prime descrizioni storiche, in letteratura ci sono pochi studi riguardanti questo aspetto della malattia. Più del 50% dei pazienti parkinsoniani lamenta sintomi dolorosi che sono spesso invalidanti e difficili da caratterizzare. Nonostante ciò, il dolore viene infatti sottostimato e rimane non trattato nella maggior parte dei casi, anche se incide in maniera significativa sulla qualità della vita dei pazienti. Per contrastare efficacemente il sintomo "dolore", occorre prima di tutto stabilirne la sua origine, le sue caratteristiche cliniche e la sua relazione con la malattia. Allo stato attuale esistono diverse scale per valutare e descrivere il dolore nella popolazione generale, ma soltanto una specifica per la Mdp (King's Parkinson's Disease Pain Scale), che risulta però molto lunga da somministrare nella pratica clinica quotidiana e di difficile interpretazione da parte dei pazienti/caregiver.

L'obiettivo è quindi quello di creare una scala che riesca a:

- essere compilata in modo semplice ed intuitivo dai pazienti e dai loro caregiver
- individuare la tipologia del sintomo dolore
- stabilirne le caratteristiche cliniche
- renda possibile correlarlo con le diverse fasi della malattia (On e OFF)
- renda possibile un intervento precoce e mirato

La nuova scala verrà validata mediante correlazione con le seguenti scale: Non-motor Symptoms scale, (NMS), King's Parkinson's Disease Pain Scale (KPPS), PD Questionnaire 8 (PDQ-8), EuroQuol (EQ-5D), Visual Analogic Scale (VAS), Wearing off questionnaire-9 (WOQ-9).

L'obiettivo sarà quello di creare uno strumento di valutazione rapida e semplice, che permetta di avere una individuazione immediata della tipologia e della severità del dolore in modo da consentirne una più tempestiva e facile gestione.

È prevista la partecipazione di 1 centro unico specializzato nella cura del PD.

La durata dello studio prevista è pari a 21 mesi per l'inclusione dei soggetti e tre mesi per l'analisi statistica dei dati. Il numero di pazienti previsti è pari a 100 nel centro coinvolto.

La popolazione in studio è costituita da tutti i soggetti affetti da PD afferenti consecutivamente al centro specialistico, che soddisfino i criteri di inclusione e di esclusione, nel periodo di arruolamento concordato.

E' prevista una sola valutazione di ciascun paziente, in occasione di una visita programmata in base alla pratica clinica del centro. Durante questa visita, il paziente completerà le seguenti scale:

Non-motor Symptoms scale, (NMS), King's Parkinson's Disease Pain Scale (KPPS), PD Quality of Life 8 (PDQ-8), EuroQuol (EQ-5D), Visual Analogic Scale (VAS), Wearing off questionnaire -9 (WOQ-9).

Nel corso del primo anno sono state effettuate le seguenti attività:

#### 1. Revisione sistematica della letteratura

È stata effettuata una revisione della letteratura utilizzando Medline: le parole chiave scelte sono state: Parkinson's disease, non-motor symptoms, pain, evaluation tools. La ricerca della letteratura è stata realizzata senza stabilire alcun limite di tempo, dato lo scarso numero di articoli sull'argomento.

È stato usato l'operatore booleano AND per limitare il campo di ricerca, sul database PubMed. Sono state consultate anche le banche dati di Embase, CINAHL e Cochrane, senza però aver avuto nessun riscontro utile alla revisione. La ricerca è stata implementata mediante revisione manuale della letteratura citata negli articoli selezionati. Sono stati selezionati tutti gli studi in cui il sintomo dolore veniva valutato mediante strumenti di valutazione. La revisione ha portato all'identificazione di soli 10 articoli, di cui sono stati valutati:

- tipologia del dolore analizzato (cronico o sporadico)
- criteri di inclusione della popolazione studiata
- tipologia delle scale di valutazione usate, nessuna delle quali autosomministrabile ad eccezione della VAS
- numerosità campionaria
- Hoehn&Yahr, cioè la stadiazione della MdP, basata sulla progressione dei sintomi della malattia (Hoehn and Yahr, 1967)

La ricerca effettuata ha evidenziato la mancanza di strumenti specifici per la misurazione del dolore nella MdP e determinato una estrema variabilità nei dati di prevalenza del sintomo dolore e la creazione di svariati sistemi di classificazione che non hanno poi trovato applicazione nella pratica clinica per la loro scarsa fruibilità. E' stato inoltre evidenziato come le scale utilizzate per analizzare il dolore nella MdP, ad eccezione della King's Parkinson's disease Pain Scale (KPPS), non siano specifiche per tale malattia e come si siano rivelate limitate nel valutarne le caratteristiche. Al contrario la KPPS si è dimostrata uno strumento valido nell'individuare e differenziare la sintomatologia dolorosa nel paziente parkinsoniano ma risulta di difficile e lunga somministrazione.

#### 2. Creazione della nuova scala

E' proprio questa analisi che ha messo in evidenza la necessità di creare una scala di valutazione per il dolore nel paziente parkinsoniano, che sia fruibile, semplice da compilare, di auto-somministrazione, che renda conto delle diverse fasi di malattia (fluttuazioni motorie) e facilmente somministrabile in ambito di studi clinici e a livello ambulatoriale. E' stata pertanto sviluppata la Scala Dolore Auto-Somministrata nella Malattia di Parkinson (SDAS-MDP), scala specifica creata dall'equipe del Clinical Trial Center del Centro per lo studio e la cura del Morbo di Parkinson dell'IRCCS San Raffaele Pisana e disturbi del movimento.

Lo strumento è suddiviso in 6 aree che distinguono le diverse tipologie di dolore:

- Dolore muscolo-scheletrico/radicolare
- Dolore cronico
- Dolore cronico viscerale
- Dolore legato ai MI (movimenti involontari)
- Dolore legato al calo della terapia
- Dolore da rigidità notturna

Le aree sono state selezionate facendo riferimento alla classificazione di Wasner e Deuschl e Ford, con l'analisi del dolore di tipo muscolare e scheletrico, del dolore cronico e del dolore cronico viscerale. Un'ampia sezione della scala è stata dedicata al dolore associato alla presenza di movimenti involontari (discinesie) e periodi off, con analisi della presenza di distonie a carico delle estremità e a carico della muscolatura del torace e dell'addome. La correlazione tra l'insorgenza di sintomatologia dolorosa a carico del torace e dell'addome e i periodi di wearing

off e off risulta di particolare importanza in quanto difficilmente riconosciuta: molto spesso questo si traduce in una non necessaria somministrazione di analgesici ed antispastici o nella esecuzione di lunghe procedure diagnostiche mirate all'esclusione di patologie addominali, cardiache e toraciche. La corretta diagnosi dei suddetti dolori viscerali consente quindi una loro rapida risoluzione o mediante la somministrazione di farmaci a pronto assorbimento o mediante ottimizzazione della terapia farmacologica. L'ultima area analizzata è relativa alla acinesia notturna ed ai sintomi con cui si estrinseca.

La scelta dei termini utilizzati è stata effettuata tenendo conto della terminologia comunemente usata durante le visite ambulatoriali per definire i vari segni e sintomi di malattia. Una prima bozza della scala è stata somministrata a 25 pazienti ambulatoriali per determinare se lo strumento fosse:

- a. comprensibile: i termini che sono risultati di difficile lettura sono stati sostituiti da sinonimi più semplici, senza alterare la specificità del sintomo in studio.
- b. completa: che la scala comprendesse tutte le tipologie di dolori che i pazienti potevano lamentare.
- c. autosomministrabile: l'equipè si è accertata che tutte le aree analizzate e i relativi punteggi fossero di facile compilazione sia per il paziente che per il care-giver
- d. punteggio: i pazienti hanno mostrato un maggiore gradimento per la compilazione di una scala in cui i valori erano espressi in maniera numerica rispetto a quelli espressi in maniera visiva-analogica come nella VAS. E' stata pertanto adottata questa tipologia di scoring.

Per ogni item della scala è quindi stato definito un punteggio che va da 0 a 5 (0= Nessuno, 1= Molto lieve, 2= Lieve, 3= Moderato, 4= Forte, 5= Molto forte) descrivendo in maniera completa le varie intensità di dolore di cui il paziente può fare esperienza.

La scala è stata poi revisionata dai quattro neurologi specialisti nella MdP dell'equipe dell'IRCCS San Raffaele Pisana e dal responsabile scientifico del centro che hanno contribuito alla definizione delle aree e dei sintomi in esame. La creazione si è poi avvalsa della consulenza del direttore del corso di laurea in Scienze infermieristiche ed ostetriche, ricercatore specializzato in gestione del dolore cronico.

### 3. Stesura del protocollo di validazione

Dopo aver finalizzato la scala, si è provveduto alla stesura del protocollo di validazione.

Come primo approccio sono state selezionate le scale da somministrare al paziente e da porre in correlazione con la nuova scala del dolore. Tutti gli strumenti scelti per la comparazione sono stati ampiamente validati nella MdP e permetteranno non solo la validazione della scala ma anche la sua correlazione con indici di qualità di vita e con le fluttuazioni motorie.

Si è scelto quindi di utilizzare le seguenti scale: Non-motor Symptoms scale, (NMS), King's Parkinson's Disease Pain Scale (KPPS), PD Questionnaire 8 (PDQ-8), Euro Quol (EQ-5D), Visual Analogic Scale (VAS), Wearing off questionnaire-9 (WOQ-9).

La popolazione in studio è costituita da tutti i soggetti affetti da PD afferenti consecutivamente al centro specialistico, che soddisfino i criteri di inclusione e di esclusione, nel periodo di arruolamento concordato. E' prevista una sola valutazione di ciascun paziente, in occasione di una visita programmata in base alla pratica clinica del centro. La durata dello studio prevista è pari a 12 mesi per l'inclusione dei soggetti e tre mesi per l'analisi statistica dei dati. E' attualmente in corso l'analisi statistica, effettuata dal gruppo di statistici del IRCCS San Raffaele Pisana che si occupa di trial clinici, per la determinazione della numerosità del campione, la scelta dei parametri delle caratteristiche cliniche necessarie alla statistica descrittiva e la determinazione dei parametri psicometrici della scala. Si è provveduto inoltre alla stesura di un Case Report Form cartaceo per la registrazione di tutti i dati acquisiti. Ai pazienti viene assegnato esclusivamente un numero identificativo progressivo per tutelare la privacy.

### *Esposizioni occupazionali e rischio di malattia di Parkinson*

La malattia di Parkinson (MdP) è una malattia neurodegenerativa cronica, progressivamente invalidante, a forte impatto sulla qualità della vita dei pazienti e sui costi sanitari. Si stima che in

Italia le persone affette da Parkinson siano circa 230.000; la prevalenza della malattia è pari all'1-2% della popolazione sopra i 60 anni e al 3-5% della popolazione sopra gli 85 anni. Una delle ipotesi più accreditate sulla patogenesi della MdP è che essa sia una patologia multifattoriale, causata da una interazione sfavorevole tra numerosi fattori ambientali a cui il paziente è esposto durante la propria vita (sostanze tossiche, farmaci, stili di vita, ecc) ed una predisposizione genetica ereditata all'interno della famiglia.

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

Dal confronto delle distribuzioni di frequenza nell'analisi univariata del campione, si è osservato come alcune categorie professionali siano risultate distribuite in maniera notevolmente asimmetrica tra casi e controlli, tra queste i medici/professioni sanitarie, i militari, i piloti di aereo ed il personale di volo e alcuni tipi di artigiani.

Queste indicazioni sono risultate di particolare interesse, in quanto la letteratura sulla MdP riporta un'estesa valutazione dei rischi di tipo occupazionale per alcune professioni (agricoltori, saldatori), mentre non segnala un aumento del rischio in altre categorie (personale aeroportuale, militari ecc) evidenziate invece dal nostro studio.

Per valutare la tipologia di esposizione presente nelle suddette occupazioni, vista la mancanza di Job Exposure Matrixes già esistenti per tali professioni, relative ai rischi occupazionali per MdP, si è deciso di procedere con un Exposure Assessment dedicato. Tale attività è stata coordinata dall'Università Federico II Napoli. Sono stati elaborati dei questionari integrativi mansione-specifici da somministrare mediante intervista telefonica a 112 soggetti appartenenti ai gruppi professionali distribuiti in maniera asimmetrica tra casi e controlli (tipografi, falegnami, operai settore calzaturiero, lavoratori settore aeroportuale/piloti, militari, lavoratori professioni sanitarie). I questionari sono stati elaborati con lo scopo di analizzare la mansione specifica, il tempo di esposizione lavorativa e l'eventuale lavoro notturno o su turni, l'esposizione a sostanze chimiche e la durata dell'esposizione, i rischi percepiti dal lavoratore, la tipologia di azienda o di datore di lavoro e la sede geografica del luogo di lavoro, il periodo di svolgimento di tale mansione.

Dei 112 casi e controlli individuati dal medico del lavoro, nel corso del primo anno sono stati effettivamente raccolti 76 questionari (3 soggetti hanno risposto a due diversi questionari in quanto avevano effettuato 2 differenti professioni a rischio nell'ambito della loro vita lavorativa). Sono stati riscontrati 8 decessi; 7 persone hanno rifiutato di rispondere alle domande e in 24 casi non è stato possibile contattare l'interessato per mancata risposta al telefono o numero telefonico errato/non attivo.

Tutti questionari sono stati rivisti manualmente da uno specialista in medicina del lavoro per cercare di categorizzare le tipologie lavorative e le eventuali esposizioni a sostanze tossiche. Questi i dati raccolti:

Settore sanitario: totale questionari somministrati 25, di cui 13 femmine e 12 maschi suddivisi in 15 casi e 10 controlli. All'interno di questa categoria sono stati identificati 13 medici (10 casi e 3 controlli); 3 ausiliari, 5 Infermieri, 1 Odontoiatra, 2 Tecnici di radiologia ed 1 Veterinario.

Settore aeroportuale: totale questionari somministrati 13, di cui 13 maschi suddivisi in 11 Casi e 2 controlli.

Settore militare: totale questionari somministrati 21, di cui 20 maschi e 1 femmina, suddivisi in 16 casi e 5 controlli.

Settore della stampa: totale questionari somministrati 7, con 5 Maschi e 2 Femmine, suddivisi in 5 casi e 2 controlli.

Settore calzaturiero: Totale questionari somministrati 3, 2 maschi e 1 femmina suddivisi in 2 casi e 1 Controllo.

Settore della lavorazione del legno: Questionari totali 6, con 6 maschi e nessun soggetto di sesso femminile, suddivisi in 4 casi e 2 controlli.

Successivamente tutti i soggetti sono stati contattati personalmente dal gruppo dei medici del lavoro con delle interviste mirate in base alle esposizioni mansione-specifiche emerse dai questionari raccolti. Per ogni categoria professionale si è poi provveduto ad una caratterizzazione dei vari tossici presenti in ciascun ambiente lavorativo, e alla determinazione dell'entità e della durata delle esposizioni.

Per la categoria medici si è tenuto conto delle mansioni specializzazione-specifiche e delle esposizioni ad esse correlate, dei turni lavorativi, della frequentazione o meno di sale operatorie, dei livelli di stress associati a mansioni caratterizzate da importanti responsabilità nei confronti dei pazienti.

La procedura di valutazione del rischio di esposizione ad agenti chimici nelle attività dei laboratori artigianali è stata differenziata dalle valutazioni di attività in cui si fa uso di agenti tossici in cicli produttivi (industriali), nei quali si è in presenza di livelli d'emissione relativamente alti e sufficientemente costanti nel tempo. La determinazione del tempo d'esposizione ha rappresentato uno degli elementi critici dello studio in quanto fattore fondamentale in grado di determinare la reale esposizione e in quanto cut off indispensabile per una ipotetica attuazione di metodiche di protezione dei lavoratori esposti.

## **RICERCA TRASLAZIONALE**

### **Laboratorio di Neurobiologia Molecolare e Cellulare**

*Stimolazione della riparazione del DNA come approccio terapeutico innovativo per la malattia di Alzheimer: neuroni chimicamente derivati da fibroblasti di pazienti Alzheimer come nuovo modello*

La mancata riparazione di danni al DNA e la presenza di difetti nel funzionamento dei sistemi di riparazione del DNA sono implicati nella morte neuronale osservata in diverse malattie neurodegenerative tra cui la malattia di Alzheimer (AD). Nei neuroni, la formazione e/o la riparazione di danni al DNA può avere un ruolo specifico nei processi cognitivi. In particolare è stato osservato come la formazione di rotture a doppio filamento del DNA (DSBs) sia causata dalla normale attività cerebrale e costituisca un processo fisiologico necessario per i processi di apprendimento e memoria (Suberbielle et al., 2013; Madabhushi et al., 2015). D'altra parte, livelli patologici del peptide beta amiloide (A $\beta$ ), uno dei principali responsabili dell'AD, aumentano il danno al DNA mediante l'induzione di un'attività sinaptica anormale (Suberbielle et al., 2013).

Nei neuroni, i DSB sono riparati dalla "not homologous end joining (NHEJ)", un sistema di riparazione basato sul complesso della proteina chinasi DNA-dipendente (DNA-PK). Una riduzione dell'attività della NHEJ è stata osservata sia in cervelli di soggetti anziani che di pazienti AD ed il trattamento con A $\beta$  di cellule neuronali causa l'inibizione dell'attività e della funzione della DNA-PK (Cardinale et al., 2012). Risultati preliminari del Laboratorio mostrano come topi privi della subunità catalitica della proteina DNA-PK (DNA-PKcs), topi DNA-PK  $-/-$ , manifestino un'inibizione del potenziamento a lungo termine (LTP) a livello delle sinapsi delle collaterali di Schaffer e dei neuroni commissurali dell'area CA1 dell'ippocampo, rispetto a topi di controllo. Questi risultati suggeriscono un ruolo potenziale della DNA-PKcs anche nella funzione sinaptica.

L'obiettivo principale del progetto è identificare il ruolo del complesso della DNA-PK nella patogenesi dell'AD e nella plasticità sinaptica, e di proporre l'aumento dell'attività della DNA-PK come nuovo approccio terapeutico per l'AD utilizzando un modello innovativo, "paziente-specifico", quale le colture cellulari neuronali umane indotte chimicamente (neuroni -ciNs e precursori neuronali -ciNPCs), derivanti da fibroblasti di pazienti affetti dalla forma familiare e/o sporadica di AD.



E' stata utilizzata una nuova tecnologia basata sullo strumento High Content (Thermo Fisher e ScanR High Content Imaging, Olympus Life Science rispettivamente in Cina ed in Italia). Tale strumento, che unisce la moderna biologia cellulare ed i relativi strumenti di biologia molecolare alla microscopia automatizzata, ha permesso di svolgere in modo rapido e con alta riproducibilità tutta una serie di esperimenti di localizzazione proteica e di misura dei livelli proteici in cellule neuronali di controllo e di pazienti AD.

Sono stati misurati la presenza ed i livelli di Abeta intracellulare, mediante high content assay, nei fibroblasti ed in colture neuronali chimicamente indotte, derivanti da pazienti FAD e soggetti di controllo (provenienti dalla biobanca del Coriell Institute - USA). Tali esperimenti hanno mostrato la presenza concomitante di Abeta e del marker di danno al DNA rappresentato dalla forma fosforilata dell'istone gH2AX.

Sono stati misurati la presenza ed i livelli proteici del complesso della DNA-PK (DNA-PKcs, Ku70 e Ku86) mediante high content assay, nei fibroblasti ed in colture neuronali chimicamente indotte, derivanti da pazienti FAD e soggetti di controllo. In seguito al transdifferenziamento, sia i ciNs che cellule NPCs, ottenuti da pazienti AD, mostrano una riduzione dei livelli proteici di del complesso della DNA-PK di circa il 30%. Inoltre i cofattori Ku70 e Ku86 mostrano una alterazione della distribuzione cellulare che appare limitata a strutture vescicolari accumulate ai margini cellulari. Al contrario, la distribuzione della subunità catalitica del complesso (DNA-PKcs) rimane invariata.

Sono stati valutati gli effetti del trattamento con Abeta esogena in cellule NPCs provenienti da pazienti FAD e soggetti sani age-matched. Abbiamo osservato un significativo aumento del livello del cofattore Ku70 in seguito al trattamento, nei soggetti di controllo mentre i livelli di Ku86 e DNA-PKcs sono risultati invariati. L'aumento di Ku70 è associato ad un incremento dei livelli di fosforilazione dell'istone gH2AX, marker di danno al DNA.

Poiché tale incremento è stato osservato solo nelle cellule NPCs di soggetti di controllo ma non in quelle derivate da pazienti AD è ragionevole ipotizzare una diversità nella risposta al danno ossidativo mediato dalla peptide Abeta in seguito all'insorgenza della malattia.

Sulla base dei dati ottenuti in questo primo anno, i ricercatori si aspettano di confermare che la riduzione e la diversa distribuzione intracellulare delle proteine del complesso della DNA-PK sono associate con una riduzione dell'efficienza di riparazione dei DSBs ed una diminuzione delle cinetiche di riparazione dei DSBs in cellule AD rispetto a cellule di soggetti di controllo. Inoltre in questo nuovo anno si potrà valutare se l'aumento dei livelli di Abeta in cellule AD sia associato ad una riduzione dell'attività chinastica della DNA-PK. Nel loro insieme, questi studi hanno la potenzialità di valutare il sistema di riparazione del DNA mediante NHEJ in neuroni umani e inoltre di testare sostanze in grado di stimolare la riparazione del DNA in neuroni umani come possibile approccio terapeutico per l'AD.

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

Il corretto funzionamento dei sistemi di riparazione del DNA è un prerequisito essenziale per la sopravvivenza cellulare e l'alterazione di questi sistemi può contribuire allo sviluppo non soltanto di diverse forme tumorali ma anche di malattie neurodegenerative, come la malattia di Alzheimer (AD). I risultati recenti ottenuti in questa direzione suggeriscono come la presenza di deficit funzionali dei sistemi di riparazione delle rotture a doppio filamento del DNA (DSBs) svolgano un ruolo importante nei processi neurodegenerativi e nelle disfunzioni sinaptiche osservate nei pazienti AD. Pertanto, l'analisi dei fattori essenziali per il funzionamento di questi sistemi di riparazione, come potenziali nuovi target terapeutici e come eventuali biomarcatori periferici di patologia, potrebbe aprire una nuova prospettiva per la cura e la diagnosi dell'AD. Inoltre, è plausibile ipotizzare che mutazioni e/o polimorfismi in alcuni geni coinvolti nella riparazione dei DSBs possano rappresentare dei fattori di rischio per lo sviluppo dell'AD e dei deficit cognitivi ad essa associati. Tra questi, i geni codificanti il complesso della DNA-PK (DNA-PKcs, Ku70, Ku86) potrebbero avere una rilevanza significativa poiché questo complesso media l'attività della "non-homologous end joining (NHEJ)", il sistema principale di riparazione dei DSBs nei neuroni, e la

sua funzionalità è significativamente ridotta nei pazienti AD. Dato interessante, infatti, è che i topi BALB/c, un ceppo murino comunemente usato in laboratorio e con una scarsa capacità di apprendimento, presentano due polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) nel gene codificante la DNA-PK (Prkdc SNPs R2140C e M3844V), che sono stati associati ad una ridotta espressione ed attività della DNA-PK così come della capacità di riparazione del DNA.

Negli anni precedenti sono stati valutati il coinvolgimento del complesso della DNA-PK e dell'attività di NHEJ da esso mediata nella patogenesi di AD e la potenzialità di questo complesso come biomarcatore periferico di patologia. A questo scopo sono stati analizzati i livelli di espressione delle proteine Ku 70, Ku 86 e DNA-PKcs su cellule PBMC derivanti dal sangue periferico di pazienti AD di grado moderato-severo. I risultati derivanti da queste analisi hanno mostrato una riduzione significativa dei livelli proteici nucleari dell'eterodimero Ku nel 40-50 % dei pazienti AD rispetto agli individui di controllo.

L'obiettivo principale di questo progetto è quello di identificare il complesso della DNA-PK e più in generale della funzionalità della riparazione dei DSBs come nuovi biomarcatori periferici e/o potenziali bersagli terapeutici della malattia di Alzheimer in pazienti con un grado lieve di malattia.

Nel presente progetto di ricerca l'esplorazione clinica di nuovi biomarcatori è stata condotta su 25 pazienti affetti da AD reclutati attraverso la biobanca del San Raffaele Pisana e confrontati con un gruppo di 25 soggetti di controllo. I soggetti sono stati reclutati secondo i seguenti criteri di inclusione/esclusione :

Criteri di inclusione:

- Età > 65 anni
- Probabile diagnosi di AD definita secondo i criteri del NINCDS-ADRDA (McKhann et al., 2011)
- Pazienti con un grado lieve di malattia in accordo con i criteri della clinical dementia rating (CDR scale ranged 0.5–1.5; Morris, 1993) e del mini-mental state examination (MMSE score 18-23; Magni et al., 1996).
- Il gruppo di controllo sarà costituito da un numero equivalente di soggetti confrontabili per età e per caratteristiche socio-culturali e cliniche, e privi di patologie neurodegenerative, con un MMSE > 26.

Criteri di esclusione:

- Presenza di diabete mellito
- Presenza di tumore
- Altre forme di demenza non Alzheimer (comprese quelle indotte da ischemia, trauma cranico...)
- Presenza di malattie autoimmuni
- Presenza di infezioni e infiammazioni acute
- Vaccinazioni effettuate nelle sei settimane precedenti l'esame
- Abuso di droghe o di alcol
- Malattie psichiatriche come le psicosi o la depressione maggiore

I soggetti selezionati sono stati sottoposti ad un prelievo ematico di 12 ml di sangue intero periferico. Le cellule PBMC (peripheral blood mononuclear cells) sono state isolate e separate mediante gradiente di Ficoll, aliquotate e soggette ad estrazione di proteine. Le proteine sono state estratte mediante frazionamento nucleo-citoplasma (NE-PER kit, Thermo Scientific), quantificate (Micro BCA kit, Pierce) ed analizzate tramite Western Blot. Le bande immunoreattive sono state rilevate attraverso la reazione di chemiluminescenza utilizzando l'ImageQuant LAS 4000 (GE Healthcare). La quantificazione delle bande corrispondenti alle proteine DNA-PKcs, Ku 70 e Ku 86 sono state normalizzate usando come marcatore citosolico la  $\beta$ -tubulina e come marcatore nucleare l'istone H1.

I risultati derivanti da queste analisi hanno mostrato una riduzione dei livelli proteici nucleari del complesso della DNA-PK di circa il 30% nei pazienti AD rispetto agli individui di controllo. L'analisi delle frazioni citosoliche non ha mostrato una modulazione significativa di queste proteine. L'elevata variabilità, sia nei controlli che nei pazienti AD, limita tuttavia la significatività dei risultati ottenuti.

## Laboratorio di Elettrofisiologia

### *Studio del ruolo del recettore nicotinico muscolare come target terapeutico per contrastare la progressione della malattia in modelli animali di SLA*

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una malattia degenerativa che colpisce i motoneuroni (MNs) e porta alla progressiva paralisi del muscolo scheletrico. Recenti scoperte suggeriscono che, oltre al motoneurone, anche il muscolo partecipi alla patogenesi della SLA sia in pazienti che in modelli animali della patologia. Infatti, vi sono recenti evidenze su topi SOD1<sup>G93A</sup> a diversi stadi di malattia, che dimostrano che la disfunzione della NMJ insieme ad un deterioramento dello stress ossidativo e il controllo della qualità delle proteine nei MNs spinali sono meccanismi fondamentali per la rapida progressione della malattia. E' stato osservato che i topi 129Sv-SOD1<sup>G93A</sup> a rapida progressione di malattia, mostravano un esordio anticipato ed una sopravvivenza ridotta (2 mesi) rispetto a topi C57-SOD1<sup>G93A</sup> a lenta progressione, nonostante un'analogia perdita dei MNs.

Recenti studi su biopsie muscolari di pazienti affetti da SLA hanno anche dimostrato che le alterazioni nell'espressione di recettori dell'Acetilcolina (AChRs) sono specifiche dei pazienti affetti da SLA in quanto non si verificano in pazienti non-ALS con denervazione da trauma supportando ancora una volta il ruolo del muscolo nella patogenesi della malattia.

Inoltre, si è visto che promuovere la stabilità della funzione AChR nel muscolo scheletrico umano attraverso il trattamento con un endocannabinoide, il palmitoiletanolamide (PEA), può contribuire alla conservazione della eccitabilità muscolare e al miglioramento della funzione polmonare nei pazienti affetti da SLA. Così, individuare anomalie a livello del recettore dell'acetilcolina potrebbe preservare i MNs sia a livello centrale che periferico con un potenziale impatto positivo sul decorso della malattia.

L'obiettivo principale del progetto è di studiare la funzionalità del recettore dell'Acetilcolina in tessuti muscolari di topi hSOD1<sup>G93A</sup> che rappresentano uno dei modelli animali di SLA più usati e meglio caratterizzati. Esso infatti riassume molti aspetti del profilo clinico dei pazienti, diventando un modello utile per lo studio della patologia. Tuttavia, terapie che hanno dato effetti benefici sul decorso della patologia in questo modello, non si sono rivelate poi così efficaci nei trials clinici sui pazienti. Lo scopo principale del progetto è caratterizzare le correnti dell'Acetilcolina in tessuti muscolari di topi hSOD1<sup>G93A</sup> e confrontarli con tessuti muscolari di pazienti SLA. L'idea è di trovare aspetti comuni che possano ulteriormente validare il modello animale per rendere più mirate ed efficaci nuove terapie farmacologiche da testare sui pazienti.

In particolare, l'obiettivo è quello di:

1. Caratterizzare, attraverso registrazioni elettrofisiologiche, le correnti dell'Acetilcolina (Ampiezza, decadimento, affinità per il neurotrasmettitore) in muscoli di topi SOD1<sup>G93A</sup> (Tibiale anteriore, Tricipite, Gastrocnemio e Diaframma) a rapida e lenta progressione di malattia microtrapiantati in oociti di *Xenopus* e confrontarli con topi di controllo. L'idea è quella di individuare proprietà recettoriali differenti che possano in parte spiegare il differente epilogo di malattia nonostante l'analogia perdita di MNs.
2. Confrontare i dati ottenuti sul modello animale con registrazioni effettuate su muscoli di pazienti SLA (esordio spinale) con diverso grado di progressione della malattia. Lo scopo è quello di fare un'analisi comparativa della funzionalità dei AChRs nei modelli murini di SLA e nei pazienti al fine di investigare se la loro alterazione potrebbe essere predittiva della gravità della malattia.
3. Studiare gli effetti del PEA su recettori dell'ACh provenienti da tessuti di topi SOD1<sup>G93A</sup> a rapida e lenta progressione di malattia microtrapiantati in oociti di *Xenopus*. Poiché lavori precedenti hanno dimostrato che il PEA promuove la stabilità della funzionalità di recettore ACh contenenti principalmente la subunità  $\epsilon$ , vogliamo indagare se vi è un effetto differenziale del PEA in questi tessuti.
4. Testare il PEA direttamente sui topi a rapida e lenta progressione di malattia allo scopo di studiare se un approccio mirato a modulare la funzionalità dei AChRs muscolari,

diminuendo la desensibilizzazione delle correnti evocate dall'ACh, potrebbe essere efficace nel ritardare, e possibilmente bloccare, l'atrofia che si verifica nei muscoli di topi SOD1<sup>G93A</sup>. I tessuti di pazienti affetti da SLA e di controllo ottenuti da pazienti denervati in seguito a trauma sono stati forniti dal responsabile del Centro SLA del Policlinico Umberto I di Roma. L'uso di questi tessuti è stato regolarmente autorizzato dalla Commissione Etica dell'Università Sapienza di Roma. L'ago-biopsia è stata effettuata dai muscoli bicipite e deltoide come descritto precedentemente. I tessuti muscolari di topi 129Sv-SOD1<sup>G93A</sup> e C57-SOD1<sup>G93A</sup> (tibiale, tricipite, gastrocnemio, diaframma) sono stati forniti dal laboratorio dell'IRCCS Mario Negri di Milano. In dettaglio i metodi utilizzati sono stati i seguenti:

- Preparazione di membrane. Le membrane sono state preparate come descritto precedentemente (Palma et al., 2011):circa 0.1-0.5 gr di tessuto congelato sono stati omogeneizzati in 2 ml di buffer di glicina usando un omogenizzatore Ultra Turrex (Ika, Germania). Il filtrato è stato centrifugato per 15 min a 9500 g con un centrifuga Beckmann (rotore C1015) e il super raccolto e centrifugato per due ore a 100.000 g usando una centrifuga TL100 a 4 °C. Il pellet, dopo essere stato lavato e risospeso in buffer di glicina (5 mM) è stato usato direttamente oppure conservato a -80 °C fino all'uso.
- Registrazioni voltage-clamp. Dopo 24 ore dall'iniezione citoplasmatica di membrane sono state registrate negli oociti le correnti totali con la tecnica del voltage-clamp intracellulare con due elettrodi (3 M KCl). Le correnti dell'ACh sono state registrate dagli oociti come descritto precedentemente (Palma et al., 2011).

Con il progetto di ricerca i ricercatori del Laboratorio di Elettrofisiologia hanno descritto e caratterizzato le correnti dell'Acetilcolina evocate in tessuti muscolari di topi SOD1 microtrapiantati in oociti di *Xenopus*. Sono stati analizzati tessuti muscolari di diverse zone del corpo (Tibiale anteriore, Tricipite, Gastrocnemio, Diaframma) in topi a rapida e lenta progressione di malattia e messi a confronto tra loro e con i rispettivi controlli. La caratteristica preponderante che si evince dall'analisi di questi tessuti è un tempo di decadimento della corrente dell'Acetilcolina molto più prolungato nei tessuti di topi SLA rispetto ai controlli con tempi più lunghi negli animali a rapida evoluzione ( $T_{0.5}$ : 10.8s) rispetto a quelli a lenta progressione ( $T_{0.5}$ : 7.4s). Lo studio delle correnti evocate nei muscoli di pazienti SLA ha portato al medesimo risultato facendo presupporre una ridotta affinità del recettore nicotinico per il suo agonista in questi tessuti con conseguente riduzione della sua funzionalità. Lo studio degli effetti del PEA sui topi SOD1 è ancora in fase di attuazione ma ci aspettiamo di ottenere una stabilizzazione della funzionalità recettoriale come già precedentemente dimostrato sul tessuto umano.

## **Laboratorio di Biochimica dell'Invecchiamento**

*Identificazione di determinanti cellulari e molecolari di malattia o di risposta alle terapie in pazienti affetti da Parkinson*

Evidenze emergenti dalla letteratura e dal Laboratorio di Biochimica dell'Invecchiamento indicano che un calo di attività di Adipose triglyceride lipase (ATGL) nella malattia di Parkinson(PD) possa concorrere all'instaurarsi o alla progressione della patologia. In particolare, la mancata attività di ATGL, potrebbe portare a livello neuronale all'alterazione della massa e della funzionalità mitocondriale e determinare un accumulo di trigliceridi intracellulare. Questa situazione potrebbe verificarsi anche nel muscolo scheletrico con conseguente impatto negativo sull'attività motoria del paziente. Inoltre, è stato dimostrato come l'espressione di ATGL sia un meccanismo redox-mediato e dipendente dall'aumento della produzione di ROS a livello mitocondriale e che il calo di ATGL si associa con un aumento di citochine pro-infiammatorie. Infine, recenti evidenze suggeriscono un'alterazione del processo autofagico nel cervello di pazienti PD o in modelli animali di PD. Inoltre, alcune proteine PD-associate (alpha-sinucleina, parkina e PINK1) sono coinvolte nei meccanismi molecolari dell'autofagia, confermando un'associazione tra autofagia e PD patogenesi. Anche in questo contesto ATGL potrebbe avere un ruolo data la recente scoperta di motivi LIR (motivi interazione proteina-proteina con LC3) nella sua struttura.

Dai risultati ottenuti emerge che ATGL e PGC-1alpha svolgono un ruolo sinergico nell'omeostasi bioenergetica e che ATGL potrebbe avere un ruolo accessorio nel controllo della disponibilità di nutrienti anche attraverso la regolazione del processo autofagico, pertanto gli obiettivi che il programma di ricerca si propone di raggiungere sono:

1. Validare l'efficienza dei processi osservati nel PD. Si studia l'asse ROS/ATGL/PGC-1alpha in modelli murini di PD. In particolare, si valuta se i livelli di mRNA e proteici di ATGL e PGC-1alpha sono alterati nel tessuto muscolare e adiposo e in regioni del cervello, in modo da suggerire queste variazioni come marcatori predittivi o utilizzarli come fattori di rischio del PD.
2. Determinare il ruolo del processo infiammatorio indotto da carenza di ATGL. Si valuta l'instaurarsi di processi infiammatori mediati dall'attivazione di NF-kB in seguito a modulazione di ATGL e/o al trattamento con neurotossine.
3. Determinare il ruolo di ATGL nella modulazione dei processi autofagici. Si valuta il processo autofagico in condizioni fisiologiche o di induzione, attraverso diversi protocolli sperimentali, in seguito alla modulazione dell'espressione di ATGL.
4. Suggerire approcci nutrizionali e farmacologici innovativi per la prevenzione ed il trattamento del PD. Si determinano gli effetti di regimi nutrizionali (digiuno intermittente, dieta ad alto contenuto di grassi) in cellule neuronali, muscolari e adipociti allo scopo di identificare fattori cellulari specifici che possano favorire l'espressione di ATGL e PGC-1alpha.

Materiali/pazienti e metodi:

- Cellule e trattamenti. Saranno utilizzate cellule dopaminergiche di neuroblastoma umano SH-SY5Y, preadipociti (3T3-L1) e mioblasti murini (C2C12). Le cellule sono trattate con tossine mitocondriali ampiamente impiegate nei modelli sperimentali di PD (rotenone, MPTP, 6-OHDA). Per mimare il regime di restrizione calorica, viene effettuata una deprivazione di nutrienti (starvation) coltivando le cellule anziché in un terreno standard in un mezzo contenente basso contenuto di glucosio e in assenza di siero. Per mimare condizioni di "overfeeding" le cellule sono trattate con una miscela di acidi grassi (es. acido oleico e linolenico).
- Trasfezioni: Trasfezione con Nucleofector 4D® per la modulazione dell'espressione di ATGL e PGC-1alpha.
- Modelli in vivo. Topi C57BL/6 WT, topi KO per PGC-1alpha e ATGL, topi transgenici alpha-synA53T.
- Trattamenti. Rotenone (tossina PD), Dieta ad alto contenuto di grassi, digiuno intermittente.
- Altre metodologie. Saggi biochimici: trigliceridi, glicerolo, enzimi della beta-ossidazione, ATP, consumo di ossigeno, citochine infiammatorie. Analisi delle proteine: BN-PAGE, co-IP, Western blot. Biologia molecolare: RT-qPCR, Stell Array, ChIP. Metodi genetici: genotipizzazione (SNPs). Biologia cellulare: microscopia confocale, citofluorimetria. Analisi istologiche.

Il digiuno intermittente (IF) è stato suggerito come strategia nutrizionale in malattie neurodegenerative associate ad alterazioni della bioenergetica a livello cerebrale. Tuttavia, in letteratura non ci sono dati sull'effettiva protezione dell'IF sul processo di neurodegenerazione indotto da tossine mitocondriali, quali rotenone. Il rotenone è una neurotossina che inibisce selettivamente il Complesso I della catena di trasporto degli elettroni causando morte dei neuroni dopaminergici, mimando così i processi neurodegenerativi caratteristici del Parkinson. I ricercatori hanno quindi valutato gli effetti dell'IF in topi C57BL/6J trattati con rotenone per 28 giorni. IF (24 h di alternanza digiuno/ ad libitum) è stato applicato su topi non trattati e su topi trattati con rotenone. I risultati ottenuti hanno evidenziato che entrambe le due categorie di animali andavano incontro a perdita di peso rispetto ai controlli (dieta ad libitum). Inoltre, gli animali trattati con rotenone e IF presentavano maggiore difficoltà ad effettuare il rotarod test. Questo gruppo di animali presentavano la maggiore perdita di neuroni dopaminergici e aumento di alpha-sinucleina nella substantia nigra. Infine analisi di lipidomica e metabolomica hanno messo in evidenza un

aumento di amminoacidi eccitatori e di lipidi infiammatori. In conclusione, i risultati ottenuti hanno evidenziato che tossine mitocondriali in concomitanza con IF portano ad un peggioramento della patologia. (Tatulli et al. *Front. Cell Neurosci.* 2018).

Al contrario, risultati molto promettenti sono stati ottenuti da un approccio nutrizionale differente, basato su digiuno controllato (tabella settimanale: 40 ore digiuno – 24 ore ad libitum – 24 ore digiuno – 72 ore ad libitum, per 4 mesi). Questo regime ha limitato i danni di una dieta ad alto contenuto di grassi in quanto i livelli di trigliceridi e di glucosio ematico sono risultati molto diminuiti rispetto a topi alimentati con la sola dieta grassa. Inoltre, particolarmente protetto è risultato il tessuto muscolare scheletrico dove ATGL non andava incontro al calo fisiologico durante l'invecchiamento e cooperava nel mantenimento dell'integrità mitocondriale. In conclusione questo studio pone le basi per un trasferimento dell'approccio nutrizionale applicato a condizioni fisio-patologiche dove la funzionalità del tessuto muscolare scheletrico è fortemente alterata come invecchiamento, obesità e malattie età-correlate (Lettieri Barbato et al. *PLOS ONE*, in revision).

Disfunzioni mitocondriali, infiammazione e senescenza a livello del tessuto adiposo sono caratteristiche non solo dell'invecchiamento ma anche dell'obesità. In questo contesto è stato studiato se l'obesità materna possa portare ad alterazioni dell'integrità del tessuto adiposo nella progenie. Topi C57/BL6 sono stati trattati con una dieta ad alto contenuto di grassi durante la gestazione e per tutto il periodo dell'allattamento. I risultati ottenuti hanno dimostrato che una dieta ricca di grassi porta ad alterazioni a livello mitocondriale sia nella madre sia nella progenie con un aumento delle cellule senescenti del tessuto adiposo. La disfunzione mitocondriale si associava ad un aumento del rapporto NADH/NAD<sup>+</sup> e ad alterazioni degli enzimi NAD<sup>+</sup> dipendenti quali SIRT1 e PARP1. Il risultato più interessante di questo studio è stato il ripristino della funzionalità mitocondriale nella progenie in seguito a supplementazione della dieta grassa con niacina (precursore del NAD<sup>+</sup>) che ha portato a suggerire che strategie mirate a innalzare i livelli di NAD<sup>+</sup> possono tamponare gli effetti deleteri a livello dei mitocondri e di conseguenza a livello sistemico nell'obesità (Lettieri Barbato et al. *Oncotarget* 2017)

Per quanto riguarda il ruolo metabolico della lipasi ATGL in vari processi metabolici, non direttamente correlati alla sua attività idrolasica, sono stati analizzati aspetti di questo enzima correlati all'infiammazione, all'alterazione dello stress ossidativo e dell'autofagia. E' stato messo in evidenza che l'enzima attraverso l'attivazione del mediatore peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  (PPAR- $\alpha$ ) sia in grado di governare aspetti fortemente alterati o predisponenti anche il processo di degenerazione della cellula neuronale (Vegliante et al. *Cell Death Dis.* In press 2018)

## **PUBBLICAZIONI**

### **Area Riabilitazione Neuromotoria**

#### **Efficacy of robotic-assisted gait training in chronic stroke patients: preliminary results of an Italian bi-centre study.**

Aprile I, Iacovelli C, Padua L, Galafate D, Criscuolo S, Gabbani D, Cruciani A, Germanotta M, Di Sipio E, De Pisi F, Franceschini M.

NeuroRehabilitation. 2017;41(4):775-782.

The gait recovery is a realist goal in the rehabilitation of almost Stroke patients. Over the last years, the introduction of robotic technologies in gait rehabilitation of stroke patients has had a greatest interest. The aim of this study was to evaluate efficacy of Robotic Gait Training (RGT) in chronic stroke patients. Fourteen chronic stroke patients were divided into two groups. Six patients received RGT, eight patients received traditional gait rehabilitation. Patients were assessed with clinical scales, as well as with gait analysis, at the beginning and at the end of the treatment.

Significant changes in some clinical scales for both the groups were detected. In the robotic group, patients showed higher percentage changes in the MRC scale ( $p=0.020$ ), in the 6MWT ( $p=0.043$ ) and in the Ashworth scale (hip:  $p=0.008$ ; knee:  $p=0.043$ ; ankle:  $p=0.043$ ) when compared with the traditional group. With respect to the gait analysis, we did not found any difference neither in the within-group analysis, nor in the between-group analysis. Both rehabilitation treatments do not change the compensatory strategies in chronic patients but the RGT offers to the patients a more intensive and controlled gait training increasing the gait endurance and decreasing spasticity in the lower limb.

#### **Incidence of traumatic spinal cord injury in Italy during 2013-2014: a population-based study.**

Ferro S, Cecconi L, Bonavita J, Pagliacci MC, Biggeri A, Franceschini M.

Spinal Cord. 2017 Sep 5[Epub ahead of print].

This is an observational prospective population-based incidence study. The main objective of this study was to assess the incidence of traumatic spinal cord injuries (TSCIs) and incidence rates, in order to provide estimates by age, gender, characteristics and cause. This study was conducted at acute-care spinal cord injury (SCI) hospitals and SCI centers from 11 Italian regions, between 1 October 2013 and 30 September 2014. Data of all consecutive patients with acute TSCI who met the inclusion criteria were obtained through case reporting by clinicians. The data were collected into a web database. Incidence rates and incidence rate ratios were calculated and stratified by age, gender, cause, level and completeness. From 50% of the entire population of Italy, 445 new cases of TSCI were included. The crude incidence rate of TSCI was 14.7 cases per million per year (95% CI: 13.4-16.4); the overall male to female ratio was 4:1 and the mean age was 54. Complete information was available in 85% of the sample and revealed tetraplegia in 58% and incomplete lesion in 67% of cases. The leading cause of TSCI was falls (40.9%) followed by road traffic accidents (33.5%). The leading cause was falls for patients over 55 and road traffic accidents for patients under 55. The changing trend of TSCI epidemiology concerns the increase in the average age of TSCI people and the increase of both cervical and incomplete lesions. The etiology shows the primacy of falls over road traffic accidents and suggests the need for a change in prevention policies

#### **Robot-assisted end-effector-based gait training in chronic stroke patients: A multicentric uncontrolled observational retrospective clinical study.**

Mazzoleni S, Focacci A, Franceschini M, Waldner A, Spagnuolo C, Battini E, Bonaiuti D.

NeuroRehabilitation 2017;40(4):483-492.

Until now studies report inconclusive results as regards the effectiveness of exclusive use of robot-assisted training and clinical indications in stroke patients.

The aim of the study is to evaluate if the only robot-assisted end-effector-based gait training can be feasible in chronic stroke subjects in terms of gait recovery.

Five rehabilitation centers participated and one hundred chronic post-stroke patients were recruited. Patients underwent a robot-assisted end-effector-based gait training as only rehabilitation treatment. 6 Minute Walk Test, 10 Meter Walk Test, Timed Up and Go test, Modified Ashworth Scale, Motricity Index, Functional Ambulation Classification (FAC) and Walking Handicap Scale were used as outcome clinical measure. Patients were divided into two groups: those assessed as FAC <3 (Group 1) and as FAC ≥ 3 (Group 2). Statistically significant changes were observed in each clinical outcome measure. Significant changes were observed in Group 1 and in Group 2. Significant percentages of patients achieved Minimally Clinically Important Difference in 6 Minute Walk Test in Group 2 and Timed Up and Go test in Group 1. Chronic stroke patients exposed to only robot-assisted end-effector-based gait training showed significant improvements in global motor performances, gait endurance, balance and coordination, lower limbs strength and even spasticity.

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

Del Percio C, Drinkenburg W, Lopez S, Infranato F, Bastlund JF, Laursen B, Pedersen JT, Christensen DZ, Forloni G, Frasca A, Noe FM, Bentivoglio M, Fabene PF, Bertini G, Colavito V, Kelley J, Dix S, Richardson JC, Babiloni C; PharmaCog Consortium. *Neurobiol Aging* 2017;49: 20-30.

Resting state electroencephalographic (EEG) rhythms reflect the fluctuation of cortical arousal and vigilance in a typical clinical setting, namely the EEG recording for few minutes with eyes closed (i.e., passive condition) and eyes open (i.e., active condition). Can this procedure be back-translated to C57 (wild type) mice for aging studies? On-going EEG rhythms were recorded from a frontoparietal bipolar channel in 85 (19 females) C57 mice. Male mice were subdivided into 3 groups: 25 young (4.5-6 months), 18 middle-aged (12-15 months), and 23 old (20-24 months) mice to test the effect of aging. EEG power density was compared between short periods (about 5 minutes) of awake quiet behavior (passive) and dynamic exploration of the cage (active). Compared with the passive condition, the active condition induced decreased EEG power at 1-2 Hz and increased EEG power at 6-10 Hz in the group of 85 mice. Concerning the aging effects, the passive condition showed higher EEG power at 1-2 Hz in the old group than that in the others. Furthermore, the active condition exhibited a maximum EEG power at 6-8 Hz in the former group and 8-10 Hz in the latter. In the present conditions, delta and theta EEG rhythms reflected changes in cortical arousal and vigilance in freely behaving C57 mice across aging. These changes resemble the so-called slowing of resting state EEG rhythms observed in humans across physiological and pathological aging. The present EEG procedures may be used to enhance preclinical phases of drug discovery in mice for understanding the neurophysiological effects of new compounds against brain aging.

### **Area Parkinson e disturbo del movimento**

#### **Biomarkers of monitoring and functional reserve of physiological systems over time in HIV: expert opinions for effective secondary prevention.**

Andreoni M, Mussi C, Bellagamba R, Di Campli F, Montinaro V, Babiloni C. *New Microbiol.* 2017 Oct 10;40(4)[Epub ahead of print]

HIV-positive individuals are more vulnerable to poor health than HIV-negative individuals. This vulnerability is characterized by a higher risk of several common, age-related health problems, even after adjustment for established risk factors. This expert opinion report aims at identifying the optimal biomarkers for monitoring the structural integrity and function of physiological systems at risk across aging in HIV-seropositive subjects. These biomarkers, readily available locally and relatively cost-effective for clinicians in primary and secondary care, should allow early detection of the first preclinical structural and functional changes in renal, brain, cardiovascular, and skeleton systems or apparatus in HIV subjects across aging. A particular interest of this report is the definition of the concept of biomarker of the "organ functional reserve". This definition emphasizes the fact that some biomarkers for monitoring the molecular, structural and functional integrity of a given organ reflect a level of impairment that is basically irremediable despite effective pharmacological or nonpharmacological intervention.



### **Abnormalities of cortical neural synchronization mechanisms in subjects with mild cognitive impairment due to Alzheimer's and Parkinson's Diseases: an EEG Study.**

Babiloni C, Del Percio C, Lizio R, Noce G, Cordone S, Lopez S, Soricelli A, Ferri R, Pascarelli MT, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Aarsland D, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Onofri M, Stocchi F, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Caravias G, Garn H, Sorpresi F, Pievani M, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Başar E, Yener G, Emek-Savaş DD, Triggiani AI, Franciotti R, Frisoni GB, Bonanni L, De Pandis MF.

*J Alzheimers Dis.* 2017;59(1):339-358.

The aim of this retrospective and exploratory study was that the cortical sources of resting state eyes-closed electroencephalographic (rsEEG) rhythms might reveal different abnormalities in cortical neural synchronization in groups of patients with mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease (ADMCI) and Parkinson's disease (PDMCI) as compared to healthy subjects. Clinical and rsEEG data of 75 ADMCI, 75 PDMCI, and 75 cognitively normal elderly (Nold) subjects were available in an international archive. Age, gender, and education were carefully matched in the three groups. The Mini-Mental State Evaluation (MMSE) was matched between the ADMCI and PDMCI groups. Individual alpha frequency peak (IAF) was used to determine the delta, theta, alpha1, alpha2, and alpha3 frequency band ranges. Fixed beta1, beta2, and gamma bands were also considered. eLORETA estimated the rsEEG cortical sources. Receiver operating characteristic curve (ROC) classified these sources across individuals. Results showed that compared to the Nold group, the posterior alpha2 and alpha3 source activities were more abnormal in the ADMCI than the PDMCI group, while the parietal delta source activities were more abnormal in the PDMCI than the ADMCI group. The parietal delta and alpha sources correlated with MMSE score and correctly classified the Nold and diseased individuals (area under the ROC=0.77-0.79). In conclusion, the PDMCI and ADMCI patients showed different features of cortical neural synchronization at delta and alpha frequencies underpinning brain arousal and vigilance in the quiet wakefulness. Future prospective cross-validation studies will have to test these rsEEG markers for clinical applications and drug discovery.

### **Abnormalities of cortical neural synchronization mechanisms in patients with dementia due to Alzheimer's and Lewy body diseases: an EEG study.**

Babiloni C, Del Percio C, Lizio R, Noce G, Cordone S, Lopez S, Soricelli A, Ferri R, Pascarelli MT, Nobili F, Arnaldi D, Aarsland D, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Onofri M, Stocchi F, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Caravias G, Garn H, Sorpresi F, Pievani M, Frisoni GB, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Başar E, Yener G, Emek-Savaş DD, Triggiani AI, Franciotti R, De Pandis MF, Bonanni L.

*Neurobiol Aging.* 2017 Jul;55:143-158.

The aim of this retrospective exploratory study was that resting state eyes-closed electroencephalographic (rsEEG) rhythms might reflect brain arousal in patients with dementia due to Alzheimer's disease dementia (ADD), Parkinson's disease dementia (PDD), and dementia with Lewy body (DLB). Clinical and rsEEG data of 42 ADD, 42 PDD, 34 DLB, and 40 healthy elderly (Nold) subjects were available in an international archive. Demography, education, and Mini-Mental State Evaluation score were not different between the patient groups. Individual alpha frequency peak (IAF) determined the delta, theta, alpha 1, alpha 2, and alpha 3 frequency bands. Fixed beta 1, beta 2, and gamma bands were also considered. rsEEG cortical sources were estimated by means of the exact low-resolution brain electromagnetic source tomography and were then classified across individuals, on the basis of the receiver operating characteristic curves. Compared to Nold, IAF showed marked slowing in PDD and DLB and moderate slowing in ADD. Furthermore, all patient groups showed lower posterior alpha 2 source activities. This effect was dramatic in ADD, marked in DLB, and moderate in PDD. These groups also showed higher occipital delta source activities, but this effect was dramatic in PDD, marked in DLB, and moderate in ADD. The posterior delta and alpha sources allowed good classification accuracy (approximately 0.85-0.90) between the Nold subjects and patients, and between ADD and PDD patients. In quiet wakefulness, delta and alpha sources unveiled different spatial and frequency features of the cortical neural synchronization underpinning brain arousal in ADD, PDD, and DLB patients. Future prospective cross-validation studies should test these rsEEG markers for clinical applications and drug discovery.

**Efficacy and safety of istradefylline in moderate to severe Parkinson's disease: A phase 3, multinational, randomized, double-blind, placebo-controlled trial (i-step study).**

Isaacson S, Eggert K, Kumar R, **Stocchi F**, Mori A, Ohta E, Toyama K, Spence G, Clark G, Cantillon M.

J Neurol Sci. 2017 10/15;381, Supplement:351-352.

This Phase 3 study was conducted to evaluate the efficacy and safety of istradefylline as adjunctive treatment to L-dopa combination in patients with moderate to severe Parkinson's disease.

Patients were randomized to 12-week double-blind treatment with placebo, istradefylline 20 mg/d, or 40 mg/d. Primary efficacy: change from baseline to Week 12 in the total OFF hours/day. The primary efficacy parameters were analyzed using Mixed-Effect Model Repeated Measure (MMRM) adjusting for multiple comparisons. Safety endpoints included treatment-emergent adverse events (TEAEs), clinical laboratory values, vital signs, and electrocardiograms.

Of the 613 randomized patients (placebo, n=204; istradefylline 20 mg/d, n=202; istradefylline 40 mg/d, n=207), 89% completed the study. Compared to placebo, changes from baseline in total OFF hours/day were superior at all time points for both 20 mg/d and 40 mg/d, but at Week 12 (primary endpoint) were not statistically different. At Week 12, the least squares (LS) mean changes from baseline in total OFF time/day were -0.88, -1.20, and -1.15 hours for the placebo, istradefylline 20 mg/d, and 40 mg/d groups, respectively. Istradefylline 20 mg/d and 40 mg/d were well tolerated. Common TEAEs in both istradefylline groups were dyskinesia, fall, insomnia, and nausea; all were mild to moderate.

Istradefylline 20 mg/d and 40 mg/d showed greater reduction from baseline in total hours OFF time/day at all time points than placebo; however, not reaching statistical significance at Week 12, the primary endpoint of the study. Istradefylline was well tolerated.

**The coefficient of friction in Parkinson's disease gait.**

Kleiner A, Galli M, Franceschini M, De Pandis MF, **Stocchi F**, Albertini G, de Barros RM.

Funct Neurol. 2017 Jan/Mar;32(1):17-22.

This study aimed to characterize the coefficient of friction (COF) curves of patients with Parkinson's disease (PD) during barefoot gait and to evaluate the relationships between this variable and functional scales. Twenty-two subjects with PD (ON phase of levodopa) and 22 healthy subjects participated in this study. The participants walked barefoot along a pathway that went over two force plates embedded in the floor of the data collection room. The instantaneous COF was calculated as the ratio between the horizontal and vertical components of the ground reaction forces. Two-sample t-tests applied to every 1% of the support phase of the COF curve were used to compare the groups and to identify the phases in which the two groups were different. Specifically, three COF areas were computed: Area 1 (for the loading response phase), Area 2 (for the midstance phase) and Area 3 (for the terminal stance phase). Pearson's tests were applied to assess the associations between the COF curve areas and the clinical scales. The subjects with PD exhibited lower COF values during the loading response and terminal stance phases and higher COF values during the mid-stance phase compared with the control group. A strong positive correlation was observed between Area 1 and the Timed Up and Go Test (90.3%). In conclusion, the patients' COFs exhibited patterns that were different from those of the control group. Moreover, during the loading response phase, these differences were well-correlated with the Timed Up and Go Test scale data; Timed Up and Go Test data can be used to identify the risk of falls among PD patients.

Kleiner AFR, Pagnussat AS, Prisco GD, Vagnini A, **Stocchi F**, De Pandis MF, **Galli M**.

**Analyzing gait variability and dual-task interference in patients with Parkinson's disease and freezing by means of the word-color Stroop test.**

Aging Clin Exp Res. 2017 Dec 2. doi: 10. [Epub ahead of print]

The ability to carry out two tasks at once is critical to effective functioning in the real world and deficits are termed Dual-task interference or effect-DTE. DTE substantially compromised the gait of subjects with Parkinson's disease and freezing of gait (PD+FOG), leading to exaggerated slowing, increasing gait dysrhythmicity, and inducing FOG episodes. This study aimed to investigate the DTE in gait variability of subjects with PD and freezing of gait (PD+FOG). Thirty-three patients with PD+FOG and 14 healthy individuals (REFERENCE) took part at this study. Two gait conditions were analyzed: usual walking (single

task) and walking while taking the word-color Stroop test (dual task). The computed variables were as follows: gait velocity, step length, step timing, gait asymmetry, variability measures and DTE of each variable. The PD + FOG group has presented negative DTE values for all analyzed variables, indicating dual task cost. The REFERENCE group has presented dual-task benefits for step length standard deviation and step time. Differences between both groups and conditions were found for all variables, except for step time. Taking the word-color Stroop test while walking led to a larger dual-task cost in subjects with PD + FOG.

### **Opicapone for the management of end-of-dose motor fluctuations in patients with Parkinson's disease treated with L-DOPA.**

Lees AJ, Ferreira J, Rascol O, Reichmann H, Stocchi F, Tolosa E, Poewe W.  
Expert Rev Neurother. 2017 Jul;17(7):649-659.

Opicapone is a third generation, highly potent and effective catechol O-methyltransferase (COMT) inhibitor that optimizes the pharmacokinetics and bioavailability of L-DOPA therapy. Areas covered: In this review, the authors describe the preclinical and clinical development of opicapone. In PD patients with motor fluctuations, once daily opicapone administration was well-tolerated and consistently reduced OFF-time and increased ON-time without increasing the frequency of troublesome dyskinesia, and these benefits were maintained over at least a year of continued open-label therapy. Expert commentary: With its convenient once-daily regimen, adjunct opicapone should be considered as an effective option for use in L-DOPA treated PD patients experiencing motor fluctuations.

### **Factors influencing psychological well-being in patients with Parkinson's disease.**

Nicoletti A, Mostile G, Stocchi F, Abbruzzese G, Ceravolo R, Cortelli P, D'Amelio M, De Pandis MF, Fabbrini G, Pacchetti C, Pezzoli G, Tessitore A, Canesi M, Zappia M.  
PLoS One. 2017 Dec 15;12(12):e0189682.

Both motor and non-motor symptoms could contribute to significant deterioration of psychological well-being in patients with Parkinson's disease (PD). However, its assessment has been only indirectly evaluated using tools based on health-related quality of life (HRQoL), such as the PDQ-39 scale. The aim of the study is to evaluate psychological well-being in PD using a specific tool of assessment, the Psychological Well-being Scale (PWS), and its clinical correlates. This article reports data of patients' perception of health state, as measured by means of the PWS, from an epidemiological, cross-sectional study conducted in Italian PD patients (FORTE Study). We tested possible relationship between well-being and clinical characteristics including fatigue, depression, sleep disruption and HRQoL. 272 patients completed the PWS questionnaire. Significant and clinically-relevant correlations were found between PWS total score and Parkinson's Fatigue Scale, Beck Depression Inventory, UPDRS Section I, PD Sleep Scale and PDQ-39 for HRQoL scores. Only clinically negligible correlations were found between PWS and motor scores. Non-motor symptoms have a significant impact on psychological well-being in PD patients.

### **Levodopa: A new look at an old friend.**

Olanow CW, Stocchi F.  
Mov Disord. 2017 Nov 27. [Epub ahead of print]

Levodopa is the most effective antiparkinsonian agent, but chronic treatment is associated with the development of motor complications in the majority of patients with PD. Recent scientific and clinical advances are improving this situation. Long-term, double-blind studies demonstrate that dose is an important risk factor for the development of both motor fluctuations and dyskinesia, and suggest that it is best to use low doses of l-dopa when possible. Inhaled l-dopa and sublingual apomorphine are now being developed as rescue therapies that permit rapid and predictable reversal of off periods. Finally, substantial evidence suggests that motor complications are related to the nonphysiological restoration of brain dopamine with intermittent oral doses of standard l-dopa. Double-blind studies demonstrate significant clinical benefits with continuous intraintestinal infusion of l-dopa. New approaches that provide continuous plasma l-dopa levels without the need for a surgical procedure are currently being investigated. Finally, the development of an oral long-acting form of l-dopa that provides continuous plasma l-dopa levels is actively being pursued.

Collectively, these approaches offer the potential to considerably reduce and even prevent the disability associated with l-dopa-induced motor complications.

### **Mutations in TMEM230 are not a common cause of Parkinson's disease.**

Quadri M, Breedveld GJ, Chang HC, Yeh TH, Guedes LC, Toni V, Fabrizio E, De Mari M, Thomas A, Tassorelli C, Rood JP, Saddi V, Chien HF, Kievit AJ, Boon AJ, Stocchi F, Lopiano L, Abbruzzese G, Cortelli P, Mecocci G, Cossu G, Barbosa ER, Ferreira JJ; International Parkinsonism Genetics Network, Lu CS, Bonifati V. *Mov Disord.* 2017 Feb;32(2):302-304.

### **Non motor symptoms in progressive supranuclear palsy: prevalence and severity.**

Radicati FG, Martinez Martin P, Fossati C, Chaudhuri KR, Torti M, Rodriguez Blazquez C, Vacca L, Stocchi F. *NPJ Parkinsons Dis.* 2017 Dec 8;3:35. eCollection 2017.

NMSs have been extensively studied in PD patients but not in other forms of parkinsonism such as Progressive Supranuclear Palsy (PSP). The primary objective of this study was to analyze the frequency, severity and the type of non-motorsymptoms (NMS) in PSP patients using the non-motorsymptoms scale (NMSS). The secondary objective was to differentiate NMS between PSP and Parkinson's disease (PD). We enrolled in this cross-sectional study 50 consecutive PSP and 100 matched Parkinson's disease (PD) patients, in the proportion PSP/PD = 1/2, matched in age, sex, and disease duration. Motor and NonMotorsymptoms (different scales for each disease) were evaluated at baseline using PSP scale, SCOPA Motor, Montreal Cognitive Assessment (MOCA), HADS, Hamilton, and NonMotor Symptom scale (NMSS). Comparative analysis was done using chi-squared test, Mann-Whitney test and Fisher's exact test. Fifty PSP (56% female) and 100 PD (59% female) patients completed the study protocol and were included for statistical analysis. The NMSS total domains score in the PSP group was  $77.58 \pm 42.95$  (range 14-163) with NMS burden grade: 4, very severe, and the in the PD group was  $41.97 \pm 35.45$  (range: 0-215) with NMS burden grade: 3, severe. The comparative analysis showed that NMS total score ( $p < 0.0001$ ), Sleep/Fatigue ( $p = 0.0007$ ), Mood/Apathy ( $p = 0.0001$ ), Gastrointestinal ( $p < 0.0001$ ), and Urinary dysfunction ( $p = 0.0001$ ) domains were significantly more severe in PSP patients than in PD. This observational study reports that NMSs are very frequent in PSP patients hence the higher burden of NMS in PSP specifically related to mood/apathy, attention/memory, gastrointestinal, urinary disturbances compared to PD.

### **The Parkinson's Disease Composite Scale: Results of the first validation study.**

Stocchi F, Radicati FG, Chaudhuri KR, Johansson A, Padmakumar C, Falup-Pecurariu C, Martinez Martin P. *Eur J Neurol.* 2017 Nov 29. doi: 10.1111/ene.13529. [Epub ahead of print]

The study included 194 Parkinson's disease (PD) patients in five countries. Investigators completed the following scales: PDCS, the Movement Disorder Society Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS), Parkinson's Disease Sleep Scale Version 2, Montreal Cognitive Assessment, the Scale for Evaluation of Neuropsychiatric Disorders in Parkinson's Disease and the Clinical Impression of Severity Index for PD (CISI-PD). For test-retest analysis, a second administration of the PDCS was carried out in 61 stable patients (as per the CISI-PD) in 7-14 days after the first evaluation. The PDCS is a novel scale for PD with a total of 17 items divided into four domains: motor, non-motor, treatment complications and disability. Parkinson's Disease Composite Scale mean and median values were close. Skewness values were into the criterion limits (-1 to +1). The complete range of scores was covered for 14 of the 17 items (83.4%). A floor effect of 25.26% and 28.25% was observed in the complications and disability level dimensions due to the proportion of patients free of these difficulties. No relevant floor or ceiling effect was observed for the PDCS total score (1.03% and 0.52%, respectively). The stability of the scale appeared excellent with most items meeting weighted kappa and intraclass correlation coefficient values  $> 0.80$ . The convergent validity of the PDCS with corresponding scores of the MDS-UPDRS showed high correlation values ( $r_s \geq 0.60$ ). The internal validity was into acceptable limits, with the majority of values higher than the minimal 0.30 threshold. The standard error of measurement suggested a satisfactory precision (SEM 3.81,  $< 30\%$  of the

PDCS total score standard deviation). The PDCS appears to be a feasible, acceptable, reproducible and valid scale.

### **Randomized trial of praladenant, given as monotherapy, in patients with early Parkinson disease.**

Stocchi F, Rascol O, Hauser RA, Huyck S, Tzontcheva A, Capece R, Ho TW, Sklar P, Lines C, Michelson D, Hewitt DJ; Praladenant Early Parkinson Disease Study Group. *Neurology*. 2017 Jun 6;88(23):2198-2206.

The aim of the study is to evaluate the adenosine 2a receptor antagonist praladenant as a nondopaminergic drug for the treatment of Parkinson disease (PD) when given as monotherapy.

This was a randomized, 26-week, placebo- and active-controlled, parallel-group, multicenter, double-blind trial conducted in adults diagnosed with PD for <5 years who were not yet receiving l-dopa or dopamine agonists. Patients with a Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) part 3 (motor function) score  $\geq 10$  and Hoehn & Yahr score  $\leq 3$  were randomized 1:1:1:1 to praladenant 2, 5, or 10 mg twice daily, rasagiline 1 mg (active-control) once daily, or placebo. The primary endpoint was the change from baseline at week 26 in the sum of UPDRS parts 2 (activities of daily living) and 3 scores (UPDRS<sub>2+3</sub>).

The number of patients treated was 1,007. Neither praladenant nor rasagiline was superior to placebo after 26 weeks. The differences vs placebo (95% confidence interval) in UPDRS<sub>2+3</sub> scores (with a negative difference indicating improvement vs placebo) were praladenant 2 mg = 2.60 (0.86, 4.30), praladenant 5 mg = 1.30 (-0.41, 2.94), praladenant 10 mg = 0.40 (-1.29, 2.11), and rasagiline 1 mg = 0.30 (-1.35, 2.03). Post hoc analyses did not identify a single causal factor that could explain the finding of a failed trial. Praladenant was generally well-tolerated with few patients discontinuing due to adverse events (praladenant 7%, rasagiline 3%, placebo 4%).

No evidence supporting the efficacy of praladenant as monotherapy was observed in this phase 3 trial. The lack of efficacy of the active control rasagiline makes it difficult to interpret the results.

Clinical Trial Registration: [Clinicaltrials.gov](http://Clinicaltrials.gov): [NCT01155479](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01155479). This study provides Class I evidence that for patients with early PD, praladenant is not effective as monotherapy at the doses studied (2, 5, 10 mg).

### **Constipation in Parkinson's Disease.**

Stocchi F, Torti M.

*Int Rev Neurobiol*. 2017;134:811-826.

Constipation is one of the main and disabling nonmotor symptoms in Parkinson's disease (PD), with a prevalence ranging from 24.6% to 63% according to the different diagnostic criteria used to define chronic constipation. Constipation is currently recognized as a risk factor of PD in relation to the number of evacuation per week and its severity. Moreover, several studies have demonstrated that constipation may precede the occurrence of motor symptoms underlying an earlier involvement of the enteric nervous system and the dorsal motor nucleus of the vagus in the  $\alpha$ -synuclein pathology. In PD, constipation is mainly due to slower colonic transit or puborectalis dyssynergia, but the concomitant use of antiparkinsonian, pain, and antidepressant medications may worsen it. An accurate diagnosis and an adequate treatment of constipation it is pivotal to prevent complications such as intestinal occlusion and to ensure an optimal clinical response to levodopa.

### **Classification of healthy subjects and Alzheimer's disease patients with dementia from cortical sources of resting state EEG rhythms: a study using artificial neural networks.**

Triggiani AI, Bevilacqua V, Brunetti A, Lizio R, Tattoli G, Cassano F, Soricelli A, Ferri R, Nobili F, Gesualdo L, Barulli MR, Tortelli R, Cardinali V, Giannini A, Spagnolo P, Armenise S, Stocchi F, Buenza G, Scianatico G, Logroscino G, Lacidogna G, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Del Percio C, Frisoni GB, Babiloni C.

*Front Neurosci*. 2017 Jan 26;10:604.

Previous evidence showed a 75.5% best accuracy in the classification of 120 Alzheimer's disease (AD) patients with dementia and 100 matched normal elderly (Nold) subjects based on cortical source current density and linear lagged connectivity estimated by eLORETA freeware from resting state eyes-closed

electroencephalographic (rsEEG) rhythms (Babiloni et al., 2016a). Specifically, that accuracy was reached using the ratio between occipital delta and alpha1 current density for a linear univariate classifier (receiver operating characteristic curves). Here we tested an innovative approach based on an artificial neural network (ANN) classifier from the same database of rsEEG markers. Frequency bands of interest were delta (2-4 Hz), theta (4-8 Hz), alpha1 (8-10.5 Hz), and alpha2 (10.5-13 Hz). ANN classification showed an accuracy of 77% using the most 4 discriminative rsEEG markers of source current density (parietal theta/alpha 1, temporal theta/alpha 1, occipital theta/alpha 1, and occipital delta/alpha 1). It also showed an accuracy of 72% using the most 4 discriminative rsEEG markers of source lagged linear connectivity (inter-hemispherical occipital delta/alpha 2, intra-hemispherical right parietal-limbic alpha 1, intra-hemispherical left occipital-temporal theta/alpha 1, intra-hemispherical right occipital-temporal theta/alpha 1). With these 8 markers combined, an accuracy of at least 76% was reached. Interestingly, this accuracy based on 8 (linear) rsEEG markers as inputs to ANN was similar to that obtained with a single rsEEG marker (Babiloni et al., 2016a), thus unveiling their information redundancy for classification purposes. In future AD studies, inputs to ANNs should include other classes of independent linear (i.e., directed transfer function) and non-linear (i.e., entropy) rsEEG markers to improve the classification.

### **Serotonin receptor targeted therapy for migraine treatment: an overview of drugs in phase I and II clinical development.**

Barbanti P, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, Palmirotta R.  
Expert Opin Investig Drugs. 2017 Mar;26(3):269-277.

Research has focused on serotonin (5-HT) 5-HT<sub>1D</sub> and 5-HT<sub>1F</sub> receptors to develop drugs acting through non-vasoconstrictive mechanisms for treating acute migraine and those targeting 5-HT<sub>2B</sub> and 5-HT<sub>7</sub> receptors for preventing migraine. Areas covered: This paper reviews antimigraine drugs targeting 5-HT receptors in one phase I trial (sumatriptan iontophoretic transdermal system, TDS) and five phase II clinical trials (PNU-142633, LY334370, lasmiditan, NOX-188). Expert opinion: Data from our overview on investigational drugs in phase I and II clinical trials using the 5-HT<sub>1B/1D</sub> receptor agonist (sumatriptan TDS), 5-HT<sub>1D</sub> receptor agonist (PNU-142633), 5-HT<sub>1F</sub> receptor agonists (LY334370, lasmiditan) and a combined 5-HT<sub>1B/1D</sub> receptor agonist with nNOS inhibition (NOX-188) provided encouraging data for sumatriptan TDS and lasmiditan, disappointing results for PNU-142633, and promising findings for NOX-188. The 5-HT<sub>1F</sub> receptor agonist lasmiditan, a drug acting through non-vasoconstrictive mechanisms, represents a promising safe, effective and tolerated acute migraine therapy also for patients at cardiovascular risk. Upcoming phase III trials should clarify the optimal lasmiditan dose and eventual clinical advantages over triptans. The negative results for the PNU-142633 trial prompt further studies using specific compounds more precisely targeting 5-HT<sub>1D</sub> receptors. Antagonism at 5-HT<sub>2B</sub> and 5-HT<sub>7</sub> receptors, a promising strategy to prevent migraine, is still limited to experimental migraine models.

### **The role of anti-CGRP antibodies in the pathophysiology of primary headaches.**

Barbanti P, Aurilia C, Fofi L, Egeo G, Ferroni P.  
Neurol Sci. 2017 May;38(Suppl 1):31-35.

Calcitonin gene-related peptide (CGRP), a potent vasodilator and pain-signaling neuropeptide, is a validated therapeutic target for migraine and cluster headache. Four anti-CGRP monoclonal antibodies (mAbs) have been developed, representing the first specific, mechanism-based, migraine prophylactic treatment. CGRP mAbs demonstrated good efficacy coupled to excellent tolerability and safety in 5 phase II clinical trials. Notably, CGRP mAbs induced complete migraine remission in a patients' subset. To date, more than 20 phase III trials using CGRP mAbs for of episodic and chronic migraine and cluster headache prevention are ongoing. Future investigations will shed light on migraine endophenotypes predictive of good CGRP mAbs responsiveness and provide answers on their long-term cardiovascular safety.

### **Onabotulinum toxin A in the treatment of chronic migraine: patient selection and special considerations.**

Barbanti P, Ferroni P.  
J Pain Res. 2017 Sep 29;10:2319-2329.

Discovered by serendipity, onabotulinumtoxin A (BoNT-A) is the only US Food and Drug Administration-approved treatment for the prevention of chronic migraine (CM), one of the most disabling and burdensome human conditions. Its efficacy, safety and tolerability, proved by the largest and longest migraine therapeutic trial (the Phase III Research Evaluating Migraine Prophylaxis Therapy program [PREEMPT]), have been replicated by various real-life studies also in the presence of medication overuse. The benefit of BoNT-A prophylaxis is likely due to its ability to counteract peripheral and central nociceptive sensitization through reversible chemical denervation of pericranial sensitive afferents. Its efficacy increases considerably over time during long-term treatments, significantly varying among patients. The present review focuses on the state-of-the-art of current knowledge on putative instrumental, biochemical and clinical predictors of BoNT-A responsiveness, outlining the need for a thorough characterization of the full phenotypic migraine picture when trying to predict good responders. Available evidence suggests that disentangling the BoNT-A responsiveness puzzle requires 1) a reappraisal of easy-obtainable clinical details (eg, site and quality of pain, presence of cranial autonomic symptoms), 2) a proper stratification of patients with CM according to their headache frequency, 3) the evaluation of potential synergistic effects of concomitant prophylaxis/treatment and 4) a detailed assessment of modifiable risk factors evolution during treatment.

Barbanti P, Fofi L, Aurilia C, Egeo G, Caprio M.

**Ketogenic diet in migraine: rationale, findings and perspectives.**

Neurol Sci. 2017 May;38(Suppl 1):111-115.

Ketogenic diet (KD) is an established treatment for refractory pediatric epilepsy and a promising therapy for diverse neurological diseases. Clinical data on KD in migraine-obtained from 150 patients investigated in case reports and prospective studies-suggest that KD may be a rapid onset effective prophylaxis for episodic and chronic migraine. KD would contribute to restore brain excitability and metabolism and to counteract neuroinflammation in migraine, although its precise mechanism is still unclear. Randomized controlled studies are needed to confirm the usefulness of KD in migraine and to investigate its optimal duration, repeatability, feasibility in normal weight subjects, efficacy in pediatric population and association to conventional migraine prophylaxis.

**Procoagulant imbalance in premenopausal women with chronic migraine.**

Ferroni P, Barbanti P, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, La Farina F, Valente MG, De Marchis ML, Spila A, Palmirota R, Della-Morte D, Guadagni F.

Neurology. 2017 Oct 3;89(14):1525-1527.

**Redox mechanisms in migraine: novel therapeutics and dietary interventions.**

Ferroni P, Barbanti P, Della-Morte D, Palmirota R, Jirillo E, Guadagni F.

Antioxid Redox Signal. 2017 Oct 7. doi: 10.1089/ars.2017.7260. [Epub ahead of print]

Migraine represents the third most prevalent and the seventh most disabling human disorder. Approximately 30% of migraine patients experience transient, fully reversible, focal neurological symptoms (aura) preceding the attack. Recent Advances: Awareness of the hypothesis that migraine actually embodies a spectrum of illnesses-ranging from episodic to chronic forms-is progressively increasing and poses novel challenges for clarifying the underlying pathophysiological mechanisms of migraine as well as for the development of novel therapeutic interventions. Several theories have evolved to the current concept that a combination of genetic, epigenetic, and environmental factors may play a role in migraine pathogenesis, although their relative importance is still being debated. One critical issue that deserves a particular attention is the role of oxidative stress in migraine. Indeed, potentially harmful oxidative events occur during the migraine attack and long-lasting or frequent migraine episodes may increase brain exposure to oxidative events that can lead to chronic transformation. Moreover, a wide variety of dietary, environmental, physiological, behavioral, and pharmacological migraine triggers may act through oxidative stress, with clear implications for migraine treatment and prophylaxis. Interestingly, almost all current prophylactic migraine agents exert antioxidant effects. Increasing awareness of the role of oxidative stress and/or decreased antioxidant defenses in migraine pathogenesis and progression to a chronic condition lays the foundations for the design of novel prophylactic approaches, which, by reducing brain oxidative phenomena, could favorably modify the clinical course of migraine.

### **Non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS) as symptomatic treatment of migraine in young patients: a preliminary safety study.**

Grazzi L, Egeo G, Liebler E, Padovan AM, Barbanti P.  
Neurol Sci. 2017 May;38(Suppl 1):197-199.

Recent clinical experiences and clinical trials have demonstrated the safety, tolerability, and efficacy of non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS; gammaCore<sup>®</sup>) for the acute and prophylactic treatment of migraine. nVNS has a favorable adverse event profile, making it an attractive option for sensitive patient populations. We explored the safety, tolerability, and efficacy of nVNS as acute migraine treatment in adolescents. A group of adolescent patients suffering from migraine without aura were trained to use gammaCore to manage their migraine attacks. 46.8% of the treated migraine attacks (22/47) were considered successfully treated and did not require any rescue medication. No device-related adverse events were recorded. This preliminary study suggests that nVNS may represent a safe, well-tolerated, and effective for acute migraine treatment in adolescents.

### **Modulation of GABAA receptors in the treatment of epilepsy.**

Palma E, Ruffolo G, Cifelli P, Roseti C, van Vliet EA, Aronica E.  
Curr Pharm Des. 2017 Aug 9. doi [Epub ahead of print]

A variety of evidence suggested that an imbalance in excitatory and inhibitory neurotransmission could be one of the pathophysiological mechanisms underlying the occurrence and progression of seizures. Understanding the causes of this imbalance may provide essential insight into the basic mechanisms of epilepsy and may uncover novel targets for future drug therapies. Accordingly, GABA is the most important inhibitory neurotransmitter in the CNS and its receptors (e.g., GABAARs) can still be relevant targets of new antiepileptic drugs (AEDs).

Up to now, a variety of modulating agents that directly or indirectly act at GABAARs have been proposed for restoring the physiological balance of excitation and inhibition in the epileptogenic brain. While benzodiazepine, barbiturates and allosteric modulators of GABAARs are well-known for their anticonvulsant effect, new compounds as modulators of chloride homeostasis or phytocannabinoids are not completely unraveled and their antiepileptic action is still matter of debate. In addition, several inflammatory mediators as cytokines and chemokines play an important role in the modulation of GABAAR function, even if further research is needed to translate these new findings from the bench to the bedside. Finally yet importantly, a new frontier in epilepsy research is represented by the observation that specific small noncoding RNAs, namely miRNAs, may regulate GABAAR function paving the road to therapeutic approaches based on the modulation of gene expression.

Here, we review key physiological, neuropathological and functional studies that altogether strengthen the role of modulation of GABAARs function as therapeutic target. The discovery of the novel molecular mechanisms underlying the GABAergic transmission in epilepsy represents another heavy piece in the "epileptic puzzle". Even if GABAAR is an old story in the pharmacology of the epilepsy, the reviewed findings suggest that new players in the scenario need to be considered.

### **The TCA cycle as a bridge between oncometabolism and DNA transactions in cancer.**

Ciccarone F, Vegliante R, Leo LD, Ciriolo MR.  
Semin Cancer Biol. 2017 Dec;47:50-56.

Cancer cells exploit metabolic rearrangements for sustaining their high proliferation rate and energy demand. The TCA cycle is a central metabolic hub necessary for ATP production and for providing precursors used in many biosynthetic pathways. Thus, dysregulation of the TCA cycle flux is frequently observed in cancer. The identification of mutations in several enzymes of the TCA cycle in human tumours demonstrated a direct connection between this metabolic pathway and cancer occurrence. Moreover, changes in the expression/activity of these enzymes were also shown to promote metabolic adaptation of cancer cells. In this review, the main genetic and non-genetic alterations of TCA cycle in cancer will be described. Particular attention will be given to extrametabolic roles of TCA cycle enzymes and metabolites underlying the regulation of nuclear and mitochondrial DNA transactions.



### **Maternal high calorie diet induces mitochondrial dysfunction and senescence phenotype in subcutaneous fat of newborn mice.**

Lettieri-Barbato D, D'Angelo F, Sciarretta F, Tatulli G, Tortolici F, Ciriolo MR, Aquilano K. *Oncotarget*. 2017 Aug 4;8(48):83407-83418.

Mitochondrial dysfunction, inflammation and senescence-like features are observed in adipose depots in aging and obesity. Herein, we evaluated how maternal high calorie diet (HCD) may impact on subcutaneous adipose tissue (sAT) of the newborn mice. Adult C57BL/6J mice were randomly divided in three groups: normal calorie diet (NCD), HCD and HCD supplemented with niacin 8 weeks before mating. Mothers and pups were then sacrificed and metabolic and molecular analyses were carried out on sAT. HCD induced mitochondrial dysfunction in mothers without inflammation and senescence, whereas in pups we also revealed the occurrence of senescent phenotype. The mitochondrial dysfunction-associated senescence in pups was accompanied by a drop in  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  ratio and alteration in the  $\text{NAD}^+$ -dependent enzymes PARP1 and SIRT1. Importantly, maternal dietary supplementation with niacin during gestation and lactation restrained  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  decrease imposed by HCD limiting inflammatory cytokine production and senescence phenotype in newborn sAT. Given the fundamental role of sAT in buffering nutrient overload and avoiding pathogenic ectopic fat accumulation, we suggest that  $\text{NAD}^+$  boosting strategies during maternal HCD could be helpful in limiting sAT dysfunction in newborn.

### **Frontal functional connectivity of electrocorticographic delta and Theta rhythms during action execution versus action observation in humans.**

Babiloni C, Del Percio C, Lopez S, Di Gennaro G, Quarato PP, Pavone L, Morace R, Soricelli A, Noce G, Esposito V, Gallese V, Mirabella G. *Front Behav Neurosci*. 2017 Feb 7;11:20.

We have previously shown that in seven drug-resistant epilepsy patients, both reaching-grasping of objects and the mere observation of those actions did desynchronize subdural electrocorticographic (ECoG) alpha (8-13 Hz) and beta (14-30) rhythms as a sign of cortical activation in primary somatosensory-motor, lateral premotor and ventral prefrontal areas (Babiloni et al., 2016a). Furthermore, that desynchronization was greater during action execution than during its observation. In the present exploratory study, we reanalyzed those ECoG data to evaluate the proof-of-concept that lagged linear connectivity (LLC) between primary somatosensory-motor, lateral premotor and ventral prefrontal areas would be enhanced during the action execution compared to the mere observation due to a greater flow of visual and somatomotor information. Results showed that the delta-theta (<8 Hz) LLC between lateral premotor and ventral prefrontal areas was higher during action execution than during action observation. Furthermore, the phase of these delta-theta rhythms entrained the local event-related connectivity of alpha and beta rhythms. It was speculated the existence of a multi-oscillatory functional network between high-order frontal motor areas which should be more involved during the actual reaching-grasping of objects compared to its mere observation. Future studies in a larger population should cross-validate these preliminary results.

### **Early changes in alpha band power and DMN BOLD activity in Alzheimer's disease: A simultaneous resting state EEG-fMRI study.**

Brueggen K, Fiala C, Berger C, Ochmann S, Babiloni C, Teipel SJ. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2017;9:319. eCollection 2017.

Simultaneous resting state functional magnetic resonance imaging (rsfMRI)-resting state electroencephalography (rsEEG) studies in healthy adults showed robust positive associations of signal power in the alpha band with BOLD signal in the thalamus, and more heterogeneous associations in cortical default mode network (DMN) regions. Negative associations were found in occipital regions. In Alzheimer's disease (AD), rsfMRI studies revealed a disruption of the DMN, while rsEEG studies consistently reported a reduced power within the alpha band. The present study is the first to employ simultaneous rsfMRI-rsEEG in an AD sample, investigating the association of alpha band power and BOLD signal, compared to healthy controls (HC). We hypothesized to find reduced positive associations in DMN regions and reduced negative associations in occipital regions in the AD group. Simultaneous resting state fMRI-EEG was recorded in 14 patients with mild AD and 14 HC, matched for age and gender. Power within

the EEG alphaband (8-12 Hz, 8-10 Hz, and 10-12 Hz) was computed from occipital electrodes and served as regressor in voxel-wise linear regression analyses, to assess the association with the BOLD signal. Compared to HC, the AD group showed significantly decreased positive associations between BOLD signal and occipital alphabandpower in clusters in the superior, middle and inferior frontal cortex, inferior temporal lobe and thalamus ( $p < 0.01$ , uncorr., cluster size  $\geq 50$  voxels). This group effect was more pronounced in the upper alpha sub-band, compared to the lower alpha sub-band. Notably, we observed a high inter-individual heterogeneity. Negative associations were only reduced in the lower alpha range in the hippocampus, putamen and cerebellum. The present study gives first insights into the relationship of resting-state EEG and fMRI characteristics in an AD sample. The results suggest that positive associations between alphabandpower and BOLD signal in numerous regions, including DMN regions, are diminished in AD.

### **Trunk-lower limb coordination pattern during gait in patients with ataxia.**

Caliandro P, Iacovelli C, Conte C, Simbolotti C, Rossini PM, Padua L, Casali C, Pierelli F, Reale G, Serrao M.

Gait Posture. 2017 Jun 27;57:252-257.

Although deficit of coordination between the upper and lower body segments might play an important role in impairing gait and stability in ataxic patients, this deficit has not been investigated in subjects with ataxia so far. To evaluate the coordination between trunk and thigh in a sample of patients with ataxia compared with healthy controls and to correlate the coordination measures with the clinical severity. This is a prospective observational study.

Sixteen patients with degenerative cerebellar ataxia and sixteen age- and sex-matched controls were studied. We assessed the coordination on the sagittal plane between trunk and thigh, considered as rigid segments, by the continuous relative phase (CRP) method. We used the coefficient of multiple correlation (CMC) to measure the within-subject (CMC<sub>WS</sub>) variability, and the SARA scale to assess clinical severity.

CRP curves are dissimilar between ataxic patients and controls, the former showing a chaotic behavior compared to the well-shaped CRP curves observed in the latter. Trunk-thigh coordination has a higher within-subject variability in ataxic patients (median CMC<sub>WS</sub>: 0.53 for patients, 0.89 for controls,  $p < 0.001$ ). We also found that the CMC<sub>WS</sub> of the CRP curves negatively correlates with the gait ( $\rho: -0.565$ ,  $p: 0.023$ ) and stance ( $\rho: -0.567$ ,  $p: 0.022$ ) sub-scores and the total score of the SARA scale ( $\rho: -0.711$ ,  $p: 0.002$ ).

Ataxia shows a deficit of spatio-temporal coordination between trunk and thigh. Such a deficit is correlated with the degree of the clinical impairment indicating an important role of inter-segmental coordination in determining the severity of ataxia.

### **Defining a functional network homeostasis after stroke: EEG-based approach is complementary to functional MRI.**

Caliandro P, Reale G, Vecchio F, Iacovelli C, Miraglia F, Masi G, Rossini PM.

Brain. 2017 Dec 1;140(12):e71.

### **Small-World Characteristics of Cortical Connectivity Changes in Acute Stroke.**

Caliandro P, Vecchio F, Miraglia F, Reale G, Della Marca G, La Torre G, Lacidogna G, Iacovelli C, Padua L, Bramanti P, Rossini PM.

Neurorehabil Neural Repair. 2017 Jan;31(1):81-94.

Background After cerebral ischemia, disruption and subsequent reorganization of functional connections occur both locally and remote to the lesion. Recently, complexity of brain connectivity has been described using graph theory, a mathematical approach that depicts important properties of complex systems by quantifying topologies of network representations. Functional and dynamic changes of brain connectivity can be reliably analyzed via electroencephalography (EEG) recordings even when they are not yet reflected in structural changes of connections. Objective We tested whether and how ischemic stroke in the acute stage may determine changes in small-worldness of cortical networks as measured by cortical sources of EEG. Methods Graph characteristics of EEG of 30 consecutive stroke patients in acute stage (no more than 5 days after the event) were examined. Connectivity analysis was performed using eLORETA in both hemispheres. Results Network rearrangements were mainly detected in delta, theta, and alpha bands when patients were compared with healthy subjects. In delta and alpha bands similar findings were observed in both hemispheres regardless of the side of ischemic lesion: bilaterally decreased small-worldness in the delta band and

bilaterally increased small-worldness in the alpha2 band. In the theta band, bilaterally decreased small-worldness was observed only in patients with stroke in the left hemisphere. Conclusions After an acutestroke, brain cortex rearranges its network connections diffusely, in a frequency-dependent modality probably in order to face the new anatomical and functional frame.

### **Bilateral 5 Hz transcranial alternating current stimulation on fronto-temporal areas modulates resting-state EEG.**

D'Atri A, Romano C, Gorgoni M, Scarpelli S, Alfonsi V, Ferrara M, Ferlazzo F, Rossini PM, De Gennaro L.  
Sci Rep. 2017 Nov 15;7(1):15672.

Rhythmic non-invasive brain stimulations are promising tools to modulate brain activity by entraining neural oscillations in specific cortical networks. The aim of the study was to assess the possibility to influence the neural circuits of the wake-sleep transition in awake subjects via a bilateraltranscranialalternatingcurrentstimulation at 5 Hz ( $\theta$ -tACS) on fronto-temporalareas. 25 healthy volunteers participated in two within-subject sessions ( $\theta$ -tACS and sham), one week apart and in counterbalanced order. We assessed the stimulation effects on cortical EEG activity (28 derivations) and self-reported sleepiness (Karolinska Sleepiness Scale).  $\theta$ -tACS induced significant increases of the theta activity in temporo-parieto-occipital areas and centro-frontal increases in the alpha activity compared to sham but failed to induce any online effect on sleepiness. Since the total energy delivered in the sham condition was much less than in the active  $\theta$ -tACS, the current data are unable to isolate the specific effect of entrained theta oscillatory activity per se on sleepiness scores. On this basis, we concluded that  $\theta$ -tACS modulated theta and alpha EEG activity with a topography consistent with high sleep pressure conditions. However, no causal relation can be traced on the basis of the current results between these rhythms and changes on sleepiness.

### **The fall of sleep K-complex in Alzheimer Disease.**

De Gennaro L, Gorgoni M, Reda F, Lauri G, Truglia I, Cordone S, Scarpelli S, Mangiaruga A, D'atri A, Lacidogna G, Ferrara M, Marra C, Rossini PM.  
Sci Rep. 2017 Jan 3;7:39688.

Although a slowing of electroencephalographic (EEG) activity during wakefulness and -to some extent- sleep of Alzheimer disease (AD) patients (i.e., increased slow-frequency activity) was documented, recent findings in healthy elderly show a decreased 0.6-1 Hz slow wave activity (SWA) during NREM, which was associated to  $\beta$ -amyloid deposition and impaired hippocampal memory consolidation. We hypothesize that the apparent contradiction may be explained by the partial overlap between 0.6-1 Hz EEG activity and K-Complex (KC). According to this view, we studied both frontal KCs and SWA in 20 AD patients and 20 healthy age-matched controls (HC) during nightly sleep, under the hypothesis that KCs better discriminate patients from healthy elderly than  $\leq 1$  Hz SWA. A drastic decrease of KC density during stage 2 NREM was found in AD compared to HC. Patients show more than 40% reduction of the KC density, allowing a correct classification of 80%. On the other hand,  $\leq 1$  Hz SWA of AD patients is slightly (not significantly) higher in most cortical areas compared to HC. Although no significant changes of  $\leq 1$  Hz SWA are detectable over frontal areas in AD, KC density decreases over the same location, and its decrease is related to the cognitive decline.

### **Ongoing electroencephalographic activity associated with cortical arousal in transgenic PDAPP mice (hAPP V717F).**

Del Percio C, Drinkenburg W, Lopez S, Limatola C, Bastlund JF, Christensen DZ, Pedersen JT, Forloni G, Frasca A, Noè FM, Bentivoglio M, Fabene PF, Bertini G, Colavito V, Dix S, Ferri R, Bordet R, Richardso JC, Babiloni C.  
Curr Alzheimer Res. 2018;15(3):259-272.

It has been shown that theta (6-10 Hz) and delta (1-6 Hz) ongoing electroencephalographic (EEG) rhythms revealed variations in the cortical arousal in C57 Wild Type (WT) mice during cage exploration (active condition) compared to awake quiet behavior (passive condition; IMI PharmaCog project,

[www.pharmacog.eu](http://www.pharmacog.eu)). The objective was to test if these EEG rhythms might be abnormal in old PDAPP mice modeling Alzheimer's disease (AD) with a hAPP Indiana V717F mutation (They show abnormal neural transmission, cognitive deficits, and brain accumulation of A $\beta$ 1-42). Ongoing EEG rhythms were recorded by a frontoparietal bipolar channel in 15 PDAPP and 23 WT C57 male mice (mean age of 22.8 months  $\pm$ 0.4 and 0.3 standard error, respectively). EEG absolute power (density) was calculated. Frequency and amplitude of individual delta and theta frequency (IDF and ITF) peaks were considered during passive and active states in the wakefulness. Compared with the WT group, the PDAPP group showed higher frequency of the IDF during the passive condition and lower frequency of the ITF during the active state. Furthermore, the WT but not PDAPP group showed significant changes in the frontoparietal EEG power (IDF, ITF) during active over passive state. PDAPP mice were characterized by less changes in the brain arousal during an active state as revealed by frontoparietal EEG rhythms. Future studies will have to cross-validate the present results on large animal groups, clarify the neurophysiological underpinning of the effect, and test if the disease modifying drugs against AD amyloidosis normalize those candidate EEG biomarkers in PDAPP mice.

### **Age related differences in functional synchronization of EEG activity as evaluated by means of TMS-EEG coreregistrations.**

Ferreri F, Vecchio F, Guerra A, Miraglia F, Ponzo D, Vollero L, Iannello G, Maatta S, Mervaala E, Rossini PM, Di Lazzaro V.

Neurosci Lett. 2017 Mar 18;647:141-146.

It was recently demonstrated that the characteristics of EEG rhythms preceding a transcranial magnetic stimulation (TMS) of the motor cortex (M1) influence the motor-evoked potential (MEP) amplitude with a peculiar pattern, thus reflecting the M1 functional state. As physiological aging is related to a decrease in motor performance and changes in excitability and connectivity strength within cerebral sensorimotor circuits, we aimed to explore whether aging affects EEG-MEP interactions. Using MRI-navigated TMS and multichannel EEG, we compared the EEG-MEP interactions observed in healthy aged subjects with those observed in young volunteers. We divided the MEPs amplitude into two different subgroups consisting of "high" and "low" MEPs, based on the 50th percentile of their amplitude distribution. Then we analysed the characteristics of the pre-stimulus EEG from M1 and correlated areas separately for the "high" and "low" MEPs, comparing the two conditions. In both young and old subjects, significantly larger MEPs were evoked when the stimulated M1 was coupled in the beta-2 band with the homolateral prefrontal cortex. Conversely, only in young participants was the MEP size modulated when the M1 and homolateral parieto-occipital cortices were coupled in the delta band. The elderly didn't show this kind of pattern. Importantly, this coupling was significantly higher in elderly brains than in young brains, both for high and low MEPs. Our results suggest an age-related significant influence of time-varying coupling of spatially patterned EEG rhythms on motor cortex excitability in response to TMS.

### **Contribution of transcranial magnetic stimulation to assessment of brain connectivity and networks.**

Hallett M, Di Iorio R, Rossini PM, Park JE, Chen R, Celnik P, Strafella AP, Matsumoto H, Ugawa Y.

Clin Neurophysiol. 2017 Sep 5;128(11):2125-2139.

The goal of this review is to show how transcranial magnetic stimulation (TMS) techniques can make a contribution to the study of brain networks. Brain networks are fundamental in understanding how the brain operates. Effects on remote areas can be directly observed or identified after a period of stimulation, and each section of this review will discuss one method. EEG analyzed following TMS is called TMS-evoked potentials (TEPs). A conditioning TMS can influence the effect of a test TMS given over the motor cortex. A disinaptic connection can be tested also by assessing the effect of a pre-conditioning stimulus on the conditioning-test pair. Basal ganglia-cortical relationships can be assessed using electrodes placed in the process of deep brain stimulation therapy. Cerebellar-cortical relationships can be determined using TMS over the cerebellum. Remote effects of TMS on the brain can be found as well using neuroimaging, including both positron emission tomography (PET) and functional magnetic resonance imaging (fMRI). The methods complement each other since they give different views of brain networks, and it is often valuable to use more than one technique to achieve converging evidence. The final product of this type of work is to show how information is processed and transmitted in the brain.

### **Electroencephalographic sensorimotor rhythms are modulated in the acute phase following focal vibration in healthy subjects.**

Lopez S, Bini F, Del Percio C, Marinozzi F, Celletti C, Suppa A, Ferri R, Staltari E, Camerota F, Babiloni C.

Neuroscience. 2017 Jun 3;352:236-248.

Few minutes of focal vibration (FV) on limb muscles can improve motor control in neurological (stroke, Parkinson) patients for unknown underlying neurophysiological mechanisms. Here we hypothesized that in healthy volunteers this FV would increase excitability in the primary sensorimotor cortex (S1-M1) during an isometric contraction of the stimulated muscle. The design included an initial control condition with no FV stimulation (Baseline) as well as three short experimental sessions of FV and a Sham (fake) session in a pseudo-random order. In the Baseline condition and immediately after those sessions, electroencephalographic (EEG) activity was recorded during a mild isometric muscle contraction of the right arm. Alpha and beta motor-related EEG power desynchronization (MRPD) at C4 and C3 electrodes overlying Rolandic regions were used as an index of the cortical excitation in S1-M1. Results showed that, compared to the Baseline (no FV) or Sham stimulation, the first two FV sessions showed a cumulative increase in alpha (but not beta) MRPD at C3 electrode, suggesting a specific effect of vibration on the excitability of contralateral S1-M1 generating EEG "mu" rhythms. FV over limb muscles modulates neurophysiological oscillations enhancing excitability of contralateral S1-M1 in healthy volunteers. The proposed mechanism may explain the clinical effects of vibratory rehabilitation in neurological patients with motor deficits.

### **Searching for signs of aging and dementia in EEG through network analysis.** Miraglia F, Vecchio F, Rossini PM.

Behav Brain Res. 2017 Jan 15;317:292-300.

Graph theory applications had spread widely in understanding how human cognitive functions are linked to dynamics of neuronal network structure, providing a conceptual frame that can reduce the analytical brain complexity. This review summarizes methodological advances in this field. Electroencephalographic functional network studies in pathophysiological aging will be presented, focusing on neurodegenerative disease -such Alzheimer's disease-aiming to discuss whether network science is changing the traditional concept of brain disease and how network topology knowledge could help in modeling resilience and vulnerability of diseases. Aim of this work is to open discussion on how network model could better describe brain architecture.

### **Association between CSF biomarkers, hippocampal volume and cognitive function in patients with amnesic mild cognitive impairment (MCI).**

Nathan PJ, Lim YY, Abbott R, Galluzzi S, Marizzoni M, **Babiloni C**, Albani D, Bartres-Faz D, Didic M, Farotti L, Parnetti L, Salvadori N, Müller BW, Forloni G, Girtler N, Hensch T, Jovicich J, Leeuwis A, Marra C, Molinuevo JL, Nobili F, Pariente J, Payoux P, Ranjeva JP, Rolandi E, Rossini PM, Schönknecht P, Soricelli A, Tsolaki M, Visser PJ, Wiltfang J, Richardson JC, Bordet R, Blin O, Frisoni GB; PharmaCog Consortium.

Neurobiol Aging. 2017 Jan 18;53:1-10.

Few studies have examined the relationship between CSF and structural biomarkers, and cognitive function in MCI. We examined the relationship between cognitive function, hippocampal volume and cerebrospinal fluid (CSF)  $A\beta_{42}$  and tau in 145 patients with MCI. Patients were assessed on cognitive tasks from the Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB), the Geriatric Depression Scale and the Functional Activities Questionnaire. Hippocampal volume was measured using magnetic resonance imaging (MRI), and CSF markers of  $A\beta_{42}$ , tau and p-tau<sub>181</sub> were also measured. Worse performance on a wide range of memory and sustained attention tasks were associated with reduced hippocampal volume, higher CSF tau and p-tau<sub>181</sub> and increased tau/ $A\beta_{42}$  ratio. Memory tasks were also associated with lower ability to conduct functional activities of daily living, providing a link between AD biomarkers, memory performance and functional outcome. These results suggest that biomarkers of  $A\beta$  and tau are strongly related to cognitive

performance as assessed by the CANTAB, and have implications for the early detection and characterization of incipient AD.

**In search of sleep biomarkers of Alzheimer's disease: K-complexes do not discriminate between patients with mild cognitive impairment and healthy controls.**

Reda F, Gorgoni M, Lauri G, Truglia I, Cordone S, Scarpelli S, Mangiaruga A, D'Atri A, Ferrara M, Lacidogna G, Marra C, Rossini PM, De Gennaro L.  
Brain Sci. 2017 Apr 29;7(5).

The K-complex (KC) is one of the hallmarks of Non-Rapid Eye Movement (NREM) sleep. Recent observations point to a drastic decrease of spontaneous KCs in Alzheimer's disease (AD). However, no study has investigated when, in the development of AD, this phenomenon starts. The assessment of KC density in mild cognitive impairment (MCI), a clinical condition considered a possible transitional stage between normal cognitive function and probable AD, is still lacking. The aim of the present study was to compare KC density in AD/MCI patients and healthy controls (HCs), also assessing the relationship between KC density and cognitive decline. Twenty amnesic MCI patients underwent a polysomnographic recording of a nocturnal sleep. Their data were compared to those of previously recorded 20 HCs and 20 AD patients. KCs during stage 2 NREM sleep were visually identified and KC densities of the three groups were compared. AD patients showed a significant KC density decrease compared with MCI patients and HCs, while no differences were observed between MCI patients and HCs. KC density was positively correlated with Mini-Mental State Examination (MMSE) scores. Our results point to the existence of an alteration of KC density only in a full-blown phase of AD, which was not observable in the early stage of the pathology (MCI), but linked with cognitive deterioration.

Serino S, Barello S, Miraglia F, Triberti S, Repetto C.

**Virtual reality as a potential tool to face frailty challenges.**

Front Psychol. 2017 Sep 5;8:1541. eCollection 2017

The aging population and the corresponding increase in age-related diseases present scientific community and public health authorities with imminent challenges. One of these challenges deals with a deeper understanding of functional status of elderly in order to prevent and/or delay the onset of late-life disability (Rodríguez-Artalejo and Rodríguez-Mañas, 2014). The syndrome of “frailty” has been recently introduced in literature to specifically characterize the health of older individuals who deserve special attention because of their increased vulnerability to adverse health outcomes (Afilalo et al., 2010). Although there is not a unique definition of frailty (Morley et al., 2013), the majority of studies refers to the five operational criteria (Fried et al., 2001): decreased gait speed, reduced grip strength, prolonged and unmotivated exhaustion, low physical activity, unintended weight loss. The problem of different definitions leads also to a large variation in reported prevalence rates, which range approximately from 5 to 60% (Collard et al., 2012). However, this multifaceted decline in different physiological systems make frail older individuals progressively more exposed to stressors (Clegg et al., 2013), making urgent the need for better care interventions.

In parallel, some authors suggested to introduce also the phenotype of “cognitive frailty” to refer to older individuals who manifest a concurrent weakness in both physical and cognitive domains (Kelaiditi et al., 2013). Other than the presence of physical frailty, Kelaiditi and colleagues (Kelaiditi et al., 2013) proposed that the key criteria of cognitive frailty is the presence of mild cognitive impairment, in the absence of dementia. A very recent large study (Delrieu et al., 2016), involving 1.617 participants, clarified that cognitive frailty individuals showed a specific weakness in executive domain (i.e., a wide range of high-level cognitive abilities including problem-solving, planning, monitoring). These findings were in line with studies suggesting a crucial link between an early cognitive decline in frontal areas and gait deficits (Montero-Odasso et al., 2011), since they share common brain networks. Different treatment approaches have been investigated in clinical trials for reducing the functional decline of frail individuals: exercise interventions (Forster et al., 2009), nutritional programs (Fiatarone et al., 1994), and integrated approaches (Looman et al., 2016). Three main issues emerged so far: the need for a more precise identification of markers of frailty; a call for innovative therapeutic strategies; the importance to develop personalized and integrated care models and intervention approaches aimed at improving independence, preferably delivered in their home setting (de

Vos et al., 2012). In this context, we suggest that Virtual Reality can be an innovative tool potentially able to address the aforementioned issues.

**Cortical connectivity modulation during sleep onset: A study via graph theory on EEG data.**

Vecchio F, Miraglia F, Gorgoni M, Ferrara M, Iberite F, Bramanti P, De Gennaro L, Rossini PM. *Hum Brain Mapp.* 2017 Nov;38(11):5456-5464.

Sleep onset is characterized by a specific and orchestrated pattern of frequency and topographical EEG changes. Conventional power analyses of electroencephalographic (EEG) and computational assessments of network dynamics have described an earlier synchronization of the centrofrontal areas rhythms and a spread of synchronizing signals from associative prefrontal to posterior areas. Here, we assess how "small world" characteristics of the brain networks, as reflected in the EEG rhythms, are modified in the wakefulness-sleep transition comparing the pre- and post-sleep onset epochs. The results show that sleep onset is characterized by a less ordered brain network (as reflected by the higher value of small world) in the sigma band for the frontal lobes indicating stronger connectivity, and a more ordered brain network in the low frequency delta and theta bands indicating disconnection on the remaining brain areas. Our results depict the timing and topography of the specific mechanisms for the maintenance of functional connectivity of frontal brain regions at the sleep onset, also providing a possible explanation for the prevalence of the frontal-to-posterior information flow directionality previously observed after sleep onset.

**"Small World" architecture in brain connectivity and hippocampal volume in Alzheimer's disease: a study via graph theory from EEG data.**

Vecchio F, Miraglia F, Piludu F, Granata G, Romanello R, Caulo M, Onofri V, Bramanti P, Colosimo C, Rossini PM. *Brain Imaging Behav.* 2017 Apr;11(2):473-485.

Brain imaging plays an important role in the study of Alzheimer's disease (AD), where atrophy has been found to occur in the hippocampal formation during the very early disease stages and to progress in parallel with the disease's evolution. The aim of the present study was to evaluate a possible correlation between "Small World" characteristics of the brain connectivity architecture-as extracted from EEG recordings-and hippocampal volume in AD patients. A dataset of 144 subjects, including 110 AD (MMSE 21.3) and 34 healthy Nold (MMSE 29.8) individuals, was evaluated. Weighted and undirected networks were built by the eLORETA solutions of the cortical sources' activities moving from EEG recordings. The evaluation of the hippocampal volume was carried out on a subgroup of 60 AD patients who received a high-resolution T1-weighted sequence and underwent processing for surface-based cortex reconstruction and volumetric segmentation using the Freesurfer image analysis software. Results showed that, quantitatively, more correlation was observed in the right hemisphere, but the same trend was seen in both hemispheres. Alpha band connectivity was negatively correlated, while slow (delta) and fast-frequency (beta, gamma) bands positively correlated with hippocampal volume. Namely, the larger the hippocampal volume, the lower the alpha and the higher the delta, beta, and gamma Small World characteristics of connectivity. Accordingly, the Small World connectivity pattern could represent a functional counterpart of structural hippocampal atrophy and related-network disconnection.

Vecchio F, Miraglia F, Porcaro C, Cottone C, Cancelli A, Rossini PM, Vecchio F.

**Electroencephalography-Derived Sensory and Motor Network Topology in Multiple Sclerosis Fatigue.**

*Neurorehabil Neural Repair.* 2017 Jan;31(1):56-64.

People with multiple sclerosis (MS) frequently complain of excessive fatigue, which is the most disabling symptom for half of them. While the few drugs used to treat MS fatigue are of limited utility, we recently observed the efficacy of a personalized neuromodulation treatment. Here, we aim at strengthening knowledge of the brain network changes that occur when MS fatigue increases, using graph theory. We collected electroencephalographic (EEG; 23 or 64 channels) data in resting state with eyes open in 27 relapsing-remitting (RR) patients with mild MS (EDSS  $\leq 2$ ), suffering a wide range of fatigue as scored by the modified Fatigue Impact Scale (mFIS) (2-69, within a total range 0-84). To estimate graph theory small-

world index (SW), we calculated the lagged linear coherence between EEG cortical eLORETA sources, in the standard frequency bands delta (2-4 Hz), theta (4-8 Hz), alpha1 (8-10.5 Hz), alpha2 (10.5-13 Hz), beta1 (13-20 Hz), beta2 (20-30 Hz), and gamma (30-45 Hz). We calculated the SW of these undirected and weighted networks separately in the four left and right frontal (motor) and parieto-occipito-temporal (sensory) brain networks. A correlative analysis demonstrated increased fatigue symptoms along with the SW specifically in the Sensory network of the left dominant hemisphere in the beta1 band (Pearson's  $r = 0.404$ ,  $P = .020$ ). Our study indicates a specific involvement of the dominant-hemisphere sensory network in MS fatigue. It suggests that compensatory neuromodulation interventions could enhance efficacy in relieving this debilitating symptom by targeting this area.

### **Small world brain network characteristics during EEG Holter recording of a stroke event.**

Vecchio F, Miraglia F, Romano A, Bramanti P, Rossini PM.

Clin Neurophysiol. 2017 Jan;128(1):1-3.

Several studies revealed that cerebral ischemia provokes transient or permanent disruption of functional connections both locally and distantly from the lesion. Recently, brain connectivity has been described using graph theory, a mathematical approach which depicts the brain as a network in order to simplify its complex topology. The human brain consists of complex inhibitory and excitatory circuits located in specialized areas, which are engaged in sharing and integrating information with a time-varying interplay at resolution in the millisecond range. Brain functional activity is based on a balance between manifold processes of local segregation and global integration, quantified by the clustering coefficient and the path length coefficient, respectively (Bassett and Bullmore, 2006). A connectivity pattern characterized by high clustering and short path, known as “small world” network model (Watts and Strogatz, 1998), reflects the need of the brain networks to satisfy the competitive demands of local and global processing. Recent studies demonstrated that stroke presents functional balance disruption with respect to control subjects (Yin et al., 2014). In this unique case report, we analyzed an EEG Holter recording before and during a stroke attack, using graph theory.

Vecchio F, Miraglia F, Rossini PM.

### **Connectome: Graph theory application on functional brain networks architecture.**

Clinical Neurophysiology Practice. 2017 10/24 Epub ahead of print]

Network science and graph theory applications have recently spread widely to help in understanding how human cognitive functions are linked to neuronal network structure, thus providing a conceptual frame that can help in reducing the analytical brain complexity and underlining how network topology can be used to characterize and model vulnerability and resilience to brain disease and dysfunction. The present review focuses on few pivotal recent studies of our research team regarding graph theory application in functional dynamic connectivity investigated by electroencephalographic (EEG) analysis. The article is divided into two parts. The first describes the methodological approach to EEG functional connectivity data analysis. In the second part, network studies of physiological aging and neurological disorders are explored, with a particular focus on epilepsy and neurodegenerative dementias, such as Alzheimer's disease.

Zappasodi F, Croce P, Giordani A, Assenza G, Giannantoni NM, Profice P, Granata G, Rossini PM, Tecchio F.

### **Prognostic value of EEG microstates in acute stroke.**

Brain Topogr. 2017;30(5):698-710.

Given the importance of neuronal plasticity in recovery from a stroke and the huge variability of recovery abilities in patients, we investigated neuronal activity in the acute phase to enhance information about the prognosis of recovery in the stabilized phase. We investigated the microstates in 47 patients who suffered a first-ever mono-lesional ischemic stroke in the middle cerebral artery territory and in 20 healthy control volunteers. Electroencephalographic (EEG) activity at rest with eyes closed was acquired between 2 and 10 days (T0) after ischemic attack. Objective criteria allowed for the selection of an optimal number of microstates. Clinical condition was quantified by the National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) both in acute (T0) and stabilized (T1,  $5.4 \pm 1.7$  months) phases and Effective Recovery (ER) was calculated as  $(NIHSS(T1)-NIHSS(T0))/NIHSS(T0)$ . The microstates A, B, C and D emerged as the most stable. In patients with a left lesion inducing a language impairment, microstate C topography differed from controls.



Microstate D topography was different in patients with a right lesion inducing neglect symptoms. In patients, the C vs D microstate duration differed after both a left and a right lesion with respect to controls (C lower than D in left and D lower than C in right lesion). A preserved microstate B in acute phase correlated with a better effective recovery. A regression model indicated that the microstate B duration explained the 11% of ER variance. This first ever study of EEGmicrostates in acutestroke opens an interesting path to identify neuronal impairments with prognostic relevance, to develop enriched compensatory treatments to drive a better individual recovery.

## **LINEA 2**

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

---

*Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo volto a valutare l'efficacia e la sicurezza di omecamtiv mecarbil (OM) in termini di morbilità e mortalità nei soggetti affetti da insufficienza cardiaca cronica con frazione d'eiezione ridotta. Studio di fase III. (AMG 423)*

Lo studio è multicentrico randomizzato, controllato con placebo, in doppio cieco, a gruppi paralleli sugli esiti cardiovascolari (CV), condotto su pazienti con ridotta frazione di eiezione (HFrEF), inclusi i soggetti attualmente ospedalizzati o con anamnesi di ricoveri ospedalieri per insufficienza cardiaca. Si tratta di uno studio "event-driven" che si conclude al raggiungimento di circa 1590 eventi di morte per causa CV. Circa 8000 pazienti eleggibili sono randomizzati secondo un rapporto 1:1 per ricevere OM o placebo.

Tutti i soggetti dovranno essere trattati con terapie standard compatibili con le Linee Guida di buona pratica clinica regionali, secondo il giudizio dello sperimentatore. I pazienti devono essere in trattamento con la terapia standard per via orale per il trattamento del Congestive Heart Failure (CHF), che deve essere ottimizzata alla dose massima tollerata, se non controindicata.

Prima che venga eseguita una qualsiasi procedura di screening, è necessario raccogliere il consenso informato scritto dai soggetti. Sono eseguite le seguenti procedure: anamnesi medica/chirurgica, classificazione della New York Heart Association (NYHA), esame obiettivo/valutazione di altezza, segni vitali, peso, eventi avversi ed uso concomitante di altri farmaci, elettrocardiogramma, valutazione degli esiti riferiti dal paziente (patient-reported outcomes - PRO), test di gravidanza, analisi delle urine, prelievo ematico per la definizione del profilo ematochimico ed ematologico per la valutazione di NT-proBNP, troponina I, CK-MB, biomarcatori per analisi di PK. Infine durante lo studio viene sottoposto un questionario ai pazienti, il Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire (KCCQ), per andare a valutare il punteggio totale dei sintomi sia al basale che alla settimana 24 (dopo trattamento con OM vs Placebo).

L'obiettivo primario dello studio consiste nella valutazione degli effetti del trattamento omecamtiv mecarbil (OM) rispetto al placebo fino alla morte per causa cardiovascolare (CV) o al primo evento di insufficienza cardiaca, in base all'evento che si verifica per primo, nei soggetti con HFrEF che seguono una terapia standard.

Gli obiettivi secondari sono:

- Valutazione degli effetti OM fino a: morte per causa CV; ospedalizzazione per insufficienza cardiaca; decesso per tutte le cause;
- Valutazione degli effetti del trattamento con OM sulla variazione degli esiti riferiti dai pazienti (PRO, Patient-Reported Outcome);
- Valutazione della sicurezza OM misurata in base all'incidenza per soggetto degli eventi avversi riportati; inclusi gli eventi avversi seri di aritmie ventricolari che richiedono il trattamento e gli eventi ischemici cardiaci maggiori accertati positivamente (infarto del miocardio fatale e non fatale, ospedalizzazione per angina instabile e rivascolarizzazione cronica).

Il reclutamento di pazienti è stato pianificato per 24 mesi. La durata prevista del trattamento dopo il completamento del reclutamento e fino al raggiungimento del numero di eventi CV necessari è di 24 mesi. Pertanto, si prevede che il follow-up per i primi soggetti arruolati raggiunga circa 48 mesi (4 anni) e per gli ultimi soggetti arruolati circa 24 mesi (2 anni). Un soggetto viene seguito fino a quando circa 1590 soggetti non saranno deceduti per cause CV. A seconda del tasso di endpoint accumulati, il tempo di follow-up per i singoli soggetti e la durata dello studio potrà essere più lunga o più breve del previsto.

Si ritiene che OM, in aggiunta alla terapia standard, sia ben tollerato e superiore al placebo in termini di riduzione del rischio di morte per causa CV o di eventi di insufficienza cardiaca nei soggetti affetti da HFrEF. Inoltre ci si aspetta che OM riduca i rischi individuali di morte per causa CV, di ospedalizzazioni per CHF, di decesso per tutte le cause e che migliori i sintomi nei soggetti con HFrEF.

*(Dual Antiplatelet Therapy) DoUble Anti Platelet therapy LOng term registry (UPLOAD). A multicentre, observational prospective study is to describe the events associated with the long-term DAPT (beyond 12 months) in post-MI patients with a high ischemic risk profile*

Lo studio è osservazionale prospettico con distribuzione uniforme in tutta Italia, ed è condotto secondo le linee guida per la classificazione e la gestione di studi osservazionali sui farmaci.

Lo scopo di questo studio è quello di andare a valutare l'efficacia e la sicurezza della doppia terapia antiaggregante (DAPT) (oltre i 12 mesi) in pazienti con pregresso infarto del miocardio e con un rischio ischemico elevato.

Valutare l'efficacia e la sicurezza del trattamento DAPT oltre i 12 mesi dopo un MI ( myocardial infarction), in pazienti con un profilo di rischio ischemico alto.

Osservando i seguenti punti:

1) valutare il beneficio della terapia DAPT dopo 12 mesi in termini di Major Adverse Cardiovascular Event - MACE (Infarto Miocardico Acuto – IMA- , ictus, morte cardiovascolare), emorragie maggiori secondo i criteri TIMI, l'aderenza alla terapia con DAPT e le eventuali cause di interruzione precoce.

2) Identificare la popolazione di Pazienti con precedente MI che potrebbero avere un beneficio netto in termini di MACE (end-point composito, IMA, ictus, morte cardiovascolare, sanguinamenti maggiori) da un prolungato mantenimento della doppia anti-aggregazione a 24 e 36 mesi dall'evento. Si può infatti ipotizzare che la semplice associazione di fattori di rischio o l'inclusione di questi all'interno di score più complessi possa adeguatamente permettere di identificare i pazienti con un beneficio clinico netto più favorevole, derivante dal prolungamento della DAPT.

I pazienti sono arruolati solo a seguito della verifica dei criteri di inclusione ed esclusione.

Le visite di follow-up includono la storia clinica, una visita cardiologica, ECG ed test di esercizio fisico. Dopo 6 mesi tutti i pazienti sono valutati e, in conformità con le Linee Guida fornita dalla European Society of Cardiology (ESC) 2017 e con la Good Clinical Practice, sono divisi in due gruppi: il primo continua con il DAPT mentre il secondo passa alla terapia antiaggregante

Le visite di follow up vengono effettuate a 6/24/36 mesi al solo gruppo DAPT. In caso di nuovi eventi avversi, viene presa in considerazione una ulteriore visita in ospedale.

Si intende identificare i criteri predittivi per l'individuazione di pazienti che possano beneficiare di doppia antiaggregazione dopo il termine dei 12 mesi.

*Indagine Sicoa NOAC(New Oral Anticoagulants)in Elderly Patients (ISNEP) - Studio Osservazionale, Nazionale, Multicentrico, Prospettico*

La Fibrillazione atriale (FA) è l'aritmia sostenuta più frequente nella pratica clinica. Negli ultimi anni vi è stato un notevole sviluppo delle conoscenze di questa aritmia sia dal punto di vista elettrofisiologico sia clinico. Parallelamente, c'è stato un notevole sviluppo anche delle possibilità terapeutiche, farmacologiche, elettriche ed ablativo con vari gradi di invasività e di efficacia.

Tuttavia la FA continua a rappresentare un problema clinico, sociale ed economico di sempre maggiore importanza essendo l'aritmia sostenuta più frequente, con una prevalenza che raggiunge il 6% dopo i 65 anni di età. Nello studio FIRE, l'1.5% degli accessi al Pronto Soccorso ed il 3.3% dei ricoveri erano imputabili a fibrillazione o flutter atriale.

Attualmente sono oltre 700.000 i malati in Italia e 114.000 sono i nuovi casi ogni anno. Sopra i 40 anni, un individuo su quattro rischia di sviluppare questa patologia. La prevalenza della fibrillazione atriale è dello 0,5-1%, considerando la totalità della popolazione, ma cresce progressivamente con l'aumentare dell'età, raggiungendo il 9% nei soggetti con più di 80 anni. La stessa tendenza si osserva per l'incidenza della patologia. A fronte di un tasso del 2% nella popolazione generale, si arriva al 13% negli over 80. Entro il 2050 è previsto un incremento dei casi di patologia, che dovrebbero aumentare di 2,5 volte. In Italia la fibrillazione atriale è causa del 3,3% di tutte le ospedalizzazioni e dell'1,5% dei ricoveri in pronto soccorso. La FA recidivante nella popolazione Italiana (57 milioni di abitanti) corrisponde al 40% di tutti i casi di FA; il che corrisponde ad una

prevalenza in Italia di 114.000 – 228.000 pazienti e ad un'incidenza di 28.000 nuovi casi all'anno. A sua volta la FA recidivante refrattaria corrisponde al 50% di tutti i casi di FA recidivante e al 20% di tutti i casi di FA, il che si traduce in una prevalenza in Italia di 57.000-114.000 pazienti e un'incidenza di 11.400 nuovi casi all'anno.

Lo scopo del presente studio è quello di descrivere nel mondo reale della pratica clinica, in riferimento all'utilizzo in Italia dei nuovi farmaci anticoagulanti orali (NAO) per la profilassi tromboembolica, una serie di parametri che caratterizzano il profilo clinico e terapeutico dei pazienti con FA non valvolare parossistica, persistente o permanente, afferenti ai centri di cardiologia di SICOA rappresentativi della offerta sanitaria nazionale, con particolare riferimento al profilo di rischio tromboembolico ed emorragico dei pazienti di età >80 anni, al trattamento farmacologico concomitante e alla aderenza alla terapia anticoagulante. Si tratta, in particolare, di pazienti in cui il trattamento è decisamente sottostimato e nei quali la terapia anticoagulante o non viene praticata o, addirittura, impropriamente eseguita con farmaci antiaggreganti.

Il progetto è uno studio multicentrico osservazionale prospettico, condotto secondo le linee guida per la classificazione e conduzione degli studi osservazionali sui farmaci, pubblicate con Determinazione 20 marzo 2008 nella G.U. Serie Generale n. 76 del 31.03.2008.

Una volta verificati criteri di arruolamento e acquisito il consenso informato, ogni centro recluta 15/20 pazienti consecutivi con fibrillazione atriale non valvolare e in terapia anticoagulante orale, di età >80 anni, il 20% dei quali di età >85 anni.

I pazienti sono sottoposti a valutazione clinica completa comprendente la rilevazione dei al momento dell'arruolamento e con follow up a 6 e 12 mesi.

L'arruolamento comincerà entro il secondo semestre del 2018 tra i pazienti afferenti alle strutture ambulatoriali e di ricovero di 30 unità operative del network nazionale SICOA, di almeno 500 pazienti affetti da fibrillazione atriale non valvolare e trattati con terapia anticoagulante orale, secondo linee guida ESC e determinazioni AIFA.

I centri partecipanti sono strutture sanitarie pubbliche (o ad esse equiparate) o private accreditate. Ai Comitati Etici di tutti i centri partecipanti è inviata, a cura del proponente, tutta la documentazione necessaria per le autorizzazioni alla conduzione dello studio, secondo quanto previsto dalla normativa vigente per gli studi osservazionali.

I criteri di inclusione allo studio sono:

- età  $\geq$  80 anni
- FA parossistica, persistente o permanente
- in trattamento anticoagulante orale da almeno 1 mese (NAO o VKA).
- sottoscrizione del consenso informato

Vengono esclusi dalla studio i pazienti con:

- FA di tipo valvolare - sottoposti a cardiocirurgia e a procedure di ablazione nel mese precedente
- altre condizioni patologiche con aspettativa di vita <6 mesi

Si intende individuare criteri predittivi per l'individuazione di pazienti che possano beneficiare di anticoagulazione con New Oral Anticoagulants (NOACS) in pazienti anziani.

### *VICTORIA (VeriCiguaT gObal study in subjects with heart failure and Reduced ejection frAction)*

Si tratta di uno studio clinico multicentrico di fase III, 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).

Vericiguat è un nuovo stimolatore orale della guanilato ciclasi solubile (sGC) in corso di sviluppo per il trattamento dello scompenso cardiaco cronico. Bayer e Merck Sharp & Dohme (MSD; Merck & Co. In Nord America) stanno sviluppando in collaborazione vericiguat e per condurre il presente studio avviano una partnership tra università e industria farmaceutica con il Canadian VIGOUR Centre (CVC) dell'Università di Alberta e con il Duke Clinical Research Institute (DCRI).

Circa 4872 soggetti sono randomizzati in questo studio con lo scopo di valutare l'efficacia e la sicurezza di MK-1242 (vericiguat) rispetto al placebo, in aggiunta ad una terapia standard di base. Dopo una fase di screening della durata massima di 30 giorni, i soggetti eleggibili vengono trattati fino al verificarsi del numero di eventi di morte cardiovascolare (CV) richiesto (follow-up mediano stimato della durata di circa 18 mesi).

Prima che venga eseguita una qualsiasi procedura di screening, è necessario raccogliere il consenso informato scritto dai soggetti. Sono eseguite le seguenti procedure: anamnesi medica/chirurgica, classificazione della NYHA, esame obiettivo/valutazione di altezza, segni vitali, peso, eventi avversi ed uso concomitante di altri farmaci, elettrocardiogramma, test di gravidanza, analisi delle urine, prelievo ematico per la definizione del profilo ematochimico ed ematologico per la valutazione dei biomarcatori e per analisi di PK. Infine durante lo studio viene sottoposto un questionario ai pazienti. Lo studio ha come obiettivo primario la valutazione dell'efficacia dello stimolatore orale della guanilato ciclastasi solubile (sGC) MK-1242 (vericiguat) rispetto al placebo, in aggiunta a una terapia standard di base, nel prolungare il tempo di insorgenza dell'endpoint composito di morte CV o ricovero per scompenso cardiaco nei soggetti con HFrEF.

Gli Obiettivi secondari si prefiggono di:

- 1) Valutare l'efficacia di MK-1242 (vericiguat) nel prolungare il tempo di insorgenza di morte CV rispetto al placebo.
- 2) Valutare l'efficacia di MK-1242 (vericiguat) nel prolungare il tempo di insorgenza del primo ricovero per scompenso cardiaco rispetto al placebo.
- 3) Valutare l'efficacia di MK-1242 (vericiguat) nel prolungare il tempo di insorgenza di tutti i ricoveri per scompenso cardiaco (primo e successivi) rispetto al placebo.
- 4) Valutare l'efficacia di MK-1242 (vericiguat) nel prolungare il tempo di insorgenza dell'endpoint composito di mortalità per tutte le cause o di ricovero per scompenso cardiaco rispetto al placebo.
- 5) Valutare l'efficacia di MK-1242 (vericiguat) nel prolungare il tempo di insorgenza di mortalità per tutte le cause rispetto al placebo.
- 6) Valutare la sicurezza e la tollerabilità di MK-1242 (vericiguat).

Lo studio VICTORIA si propone di valutare l'efficacia clinica di vericiguat in aggiunta a una terapia standard di base per i soggetti con HFrEF e stabilire l'efficacia clinica di vericiguat in uno studio pivotal di fase III in linea con la guida disponibile sulle sperimentazioni cliniche di prodotti medicinali per il trattamento dello scompenso cardiaco.

*Liposcudil plus vs Ezetimibe (LIPLEZ) studio multicentrico randomizzato, in doppio cieco, crossover, prevede l'arruolamento di pazienti affetti da cardiopatia ischemica e intolleranti alle statine*

Questo studio multicentrico randomizzato, in doppio cieco, crossover, prevede l'arruolamento di 200 pazienti affetti da cardiopatia ischemica e intolleranti alle statine. Valutati i criteri di inclusione ed esclusione, il paziente firma il consenso informato e verrà arruolato nello studio. E' quindi sottoposto a valutazione clinica/strumentale (esame obiettivo,ecg) ed ematologica con determinazione di colesterolemia totale, colesterolemia LDL, colesterolemia HDL, Trigliceridemia, ALT, AST, CPK, creatininemia. In caso di riscontro di valori di colesterolemia LDL>70 mg/dl (target delle linee guida internazionali) i pazienti vengono randomizzati in 2 gruppi:

Gruppo A: trattamento con nutraceutico a base di riso rosso fermentato contenente 3 mg di monacolina k associato a coenzima Q 30 mg e berberina 500 mg.

Gruppo B: trattamento con ezetimibe 10 mg.

I pazienti di entrambi i gruppi sono trattati rispettivamente con nutraceutico ed ezetimibe per 60 giorni consecutivamente al termine dei quali, dopo verifica di buona aderenza terapeutica (che se superiore al 90 %, permetterà al paziente di permanere nello studio), sono ripetuti una valutazione clinica e gli esami ematochimici eseguiti all'arruolamento. Dopo una sospensione di 15 giorni, del trattamento farmacologico in entrambi i gruppi, i pazienti subiscono un crossover della randomizzazione e iniziano rispettivamente il trattamento con ezetimibe quelli trattati con

nutraceutico nel primo periodo e con nutraceutico quelli trattati con ezetimibe nei primi 15 giorni, la seconda fase dello studio (cross-over) ha una durata di 60 giorni. All'inizio e al termine del secondo periodo di esposizione ai trattamenti i pazienti arruolati ripetono le stesse indagini del primo periodo. Al termine del secondo periodo, i pazienti non a target secondo linee guida, confluiscono in un unico braccio che vede effettuare il trattamento combinato con ezetimibe e nutraceutico per altri 60 giorni, al termine dei quali vengono ripetute le stesse indagini cliniche ed ematologiche effettuate in precedenza.

L'obiettivo primario dello studio è quello di valutare se l'utilizzo del nutraceutico a base di riso rosso fermentato, berberina e coenzima Q10 sia efficace e sicuro in pazienti affetti da cardiopatia ischemica intolleranti alle statine al pari di ezetimibe.

Gli obiettivi secondari riguardano:

- 1) sicurezza del trattamento con nutraceutico
- 2) miglioramento qualità della vita

Si ritiene di potere dimostrare la validità terapeutica di nutraceutici nel ridurre la colesterolemia totale in pazienti con pregresso evento cardiovascolare .

### *Effetto del training dei muscoli respiratori in pazienti sottoposti a chirurgia cardiaca*

La valutazione della capacità funzionale in soggetti con recente intervento cardio-chirurgico che entrano in un programma di riabilitazione cardiologica di fase I, "intensiva", è tradizionalmente affidata al test del cammino di 6 minuti (6mwt) che viene eseguito una prima volta al momento del ricovero in riabilitazione ed una seconda volta alla fine del ciclo intensivo, che avviene mediamente dopo 3 settimane. Il miglioramento ottenuto dall'intervento riabilitativo è stimato attraverso l'incremento della distanza percorsa al 6mwt (finale-iniziale) ed il cambiamento nell'auto-percezione della fatica alla fine del test, valutato attraverso la scala di Borg modificata.

Il test del cammino presenta alcune importanti limitazioni: in soggetti giovani, la distanza percorsa al primo 6mwt effettuato all'ingresso, è spesso già corrispondente al valore teorico per età e genere e non si osservano significativi incrementi nel test eseguito dopo 3 settimane. Il 6mwt può individuare un certo grado di limitazione funzionale ma non consente di discriminare il contributo relativo delle diverse componenti (funzione respiratoria, cardiaca).

Recenti dati pubblicati in pazienti post-cardiochirurgici dimostrano che in tali soggetti la limitazione funzionale è in parte ascrivibile alle modificazioni della meccanica respiratoria indotte dalla stessa toracotomia. E' pertanto probabile che un intervento riabilitativo mirato a migliorare la meccanica respiratoria e ridurre lo stress dei muscoli respiratori possa avere effetti benefici contribuendo a migliorare la capacità funzionale dei pazienti post-cardiochirurgici.

Al fine di valutare le alterazioni della meccanica respiratoria in corso di esercizio ed il loro miglioramento alla fine dell'intervento riabilitativo si è v effettuare la misurazione degli scambi gassosi durante l'esecuzione del 6mwt.

Il test del cammino di sei minuti (6mwt) è diffusamente utilizzato in ambito riabilitativo (cardiologico- pneumologico) per valutare: il grado di limitazione funzionale dei pazienti con recente evento acuto; il miglioramento ottenuto in tali pazienti, attraverso un programma di riabilitazione cardiologica.

Integrando il 6mwt con l'analisi dei gas respiratori consente di valutare quale sia il contributo delle diverse componenti (funzione respiratoria, cardiaca) nel determinare la limitazione della capacità funzionale. In particolare l'analisi dei gas respiratori durante l'esecuzione del walking test.

L'obiettivo dello studio è di effettuare un confronto fra 2 tipi di intervento riabilitativo: intervento tradizionale: training aerobico vs intervento combinato (training aerobico + training muscoli respiratori).

L'ipotesi dello studio è che l'intervento combinato determini un significativo miglioramento della meccanica respiratoria edell'efficienza ventilatoria rispetto al solo training aerobico e che questo si traduca in una migliore performance al 6mwt.

Lo studio prevede l'arruolamento di 70 pazienti con i seguenti requisiti: recente intervento cardiocirurgico (<10 giorni), stabilità clinica, età > 70 anni

Criteri di esclusione: versamento pleurico e/o pericardico clinicamente significativo (Sat<90%-PA<90 mmHg e sintomi di bassa gittata); bradicardia sintomatica, fibrillazione atriale con elevata frequenza ventricolare (>110 bpm); problemi ortopedici/neurologici limitanti la deambulazione e, pertanto, l'esecuzione del 6mwt; eccessiva mobilità sternale. La popolazione arruolata viene suddivisa in 2 gruppi: 1) gruppo training aerobico tradizionale: cyclette/pedaliera/pedana a basso carico (50-60% FCT max) 2 volte al giorno per un totale di 2 ore; 2) gruppo training combinato: training aerobico per 1 ora al giorno; training muscoli respiratori.

I pazienti eseguono dapprima il 6mwt tradizionale lungo un corridoio del reparto di cardiologia con valutazione di pressione arteriosa, frequenza cardiaca, e saturazione di O<sub>2</sub> basale ed alla fine del test. Successivamente, eseguono un test di 6 minuti in pedana. In partenza la pedana viene avviata alla velocità di 1 km/h. La velocità viene quindi modulata durante il corso del test in rapporto alla volontà del paziente. L'analisi dei gas respiratori viene effettuata durante il test in pedana.

Vengono valutati i seguenti parametri: l'analisi VO<sub>2</sub> a riposo, massimo valore ottenuto durante il test e dopo 1 minuto di recupero; VE/CO<sub>2</sub> basale, massimo valore ottenuto durante il test e dopo 1 minuto di recupero; PETCO<sub>2</sub>: basale, massimo valore ottenuto durante il test e dopo 1 minuto di recupero; frequenza respiratoria: basale, massimo valore ottenuto durante il test e dopo 1 minuto di recupero. I 2 test del cammino vengono effettuati al momento del ricovero ed in dimissione (3 settimane).

Valutati i criteri di inclusione ed esclusione, il paziente firma il consenso informato e viene arruolato nello studio. Viene quindi sottoposto a valutazione clinica/ strumentale ed ematologica.

I pazienti sono randomizzati in 2 gruppi:

1) gruppo training aerobico tradizionale: cyclette/pedaliera/pedana a basso carico (50-60% FCT max) 2 volte al giorno per un totale di 2 ore.

2) gruppo training combinato: training aerobico per 1 h al giorno; training muscoli respiratori.

I pazienti eseguono dapprima il 6mwt tradizionale. Successivamente, eseguono un test di 6 minuti in pedana. I 2 test del cammino vengono effettuati a distanza di 3 settimane l'uno dall'altro.

Se l'ipotesi dello studio verrà confermata, ci si aspetta di rilevare che il training combinato sia più efficace del solo training aerobico nell'indurre il recupero funzionale dei pazienti anziani post-cardiocirurgici.

*Utilizzazione del "Cycle Medical Personal Trainer" in pazienti affetti da insufficienza cardiaca: confronto con programmi di allenamento standard.*

L'aumento dell'età media della popolazione, la prevalenza di malattie a decorso cronico, e i relativi conseguenti aumenti dei costi hanno portato la società ad affrontare nuove sfide nella medicina clinica e riabilitativa. Un approccio particolarmente promettente è quello di investire su metodi innovativi e tecnologicamente all'avanguardia che personalizzino la gestione terapeutica dei pazienti, con un conseguente decisivo risparmio di risorse umane ed economiche. A tal riguardo, concetti e metodi avanzati propri dei campi della medicina, dell'ingegneria e della matematica sono sinergicamente ed interattivamente utilizzati nel progetto al fine di fornire nuove prospettive cliniche per una medicina personalizzata e nuove proposte tecnologiche nel management e nel trattamento di pazienti con patologie croniche invalidanti quali l'insufficienza cardiaca cronica (Chronic Heart Failure - CHF). Ricerca di tipo interdisciplinare, sviluppo ed innovazione tecnologica sono alla base di questo progetto che si pone in maniera coordinata l'obiettivo di valorizzare i propri risultati attraverso pubblicazioni scientifiche e un nuovo brevetto (il "cycle medical personal trainer").

La logica di intervento tende ad essere mirata, dettagliata, ed al contempo efficacemente basata sulle evidenze cliniche e scientifiche. Le valutazioni conclusive si basano su analisi ex-post che coinvolgono indicatori scientifici, tecnologici, di innovazione e fattibilità così come anche un'attenta revisione delle letterature scientifiche alla luce dei nuovi risultati ottenuti. Ciascuna Unità



coinvolta dispone di laboratori attrezzati e strumentazione ampiamente operativa e idonea alle attività di ricerca proposte e ai tests previsti. L'obiettivo finale è la realizzazione dell'innovativo "cycle medical personal trainer". In particolare, quest'ultimo, al contrario dei ciclo-ergometri tradizionali, è in grado di "somministrare la dose ottimale" ed in piena sicurezza di esercizio aerobico in maniera individualizzata, concorrendo al miglioramento di "outcomes" prognostici, quali la modulazione autonoma cardiaca ed altri parametri clinici, quali la capacità funzionale. Per far ciò non vengono utilizzati metodi invasivi e costosi o indiretti e complessi quali metodi di analisi del lattato o metodi di misurazione dei gas di scambio ma l'analisi della HRV (variabilità della frequenza cardiaca) durante le singole sessioni di allenamento. In questo contesto non è richiesta la conoscenza a priori delle caratteristiche del paziente che effettua il test al ciclo-ergometro, eccetto che per il grado di severità del quadro clinico - dati questi utilizzati per generare i riferimenti di HR sulla base della HRV misurata.

Nuovi contributi scientifici del progetto includono lo sviluppo di un nuovo algoritmo di identificazione non-parametrico per l'analisi in frequenza della variabilità della frequenza cardiaca (Heart Rate Variability - HRV) utilizzato per individuare in modo preciso durante la singola sessione di allenamento i cambiamenti delle diverse componenti dello spettro di frequenza della HRV e stimare accuratamente la densità spettrale (potenza) delle sue componenti. Ulteriori punti di forza del presente progetto riguardano la possibilità di individuare nuovi parametri "dinamici" (sulla base della resistenza di carico del ciclo-ergometro e della frequenza cardiaca registrate durante le sessioni di allenamento) che possano essere utilizzati: i) come conferma a posteriori di classificazione a livello della specifica patologia e di sotto-classificazione a livello del grado di severità clinica della malattia; ii) come marcatori di efficacia del training fisico e dei miglioramenti a lungo termine da esso indotti.

Infine potenziali ricadute del progetto includono l'utilizzo della metodologia proposta per valutare l'efficacia addizionale di specifiche terapie farmacologiche.

La HRV valutata in condizioni di riposo (clinostatismo-ortostatismo) rappresenta un indice clinico della modulazione simpato-vagale esercitata dal sistema nervoso autonomo sull'attività del nodo senoatriale. Il training fisico di tipo aerobico si è mostrato in grado di migliorare la HRV nei pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica, rivestendo un ruolo prognostico positivo. Tuttavia una questione chiave ancora sussiste riguardo la "dose ottimale" di attività fisica da "prescrivere" al singolo paziente, al fine di ottenere i massimi miglioramenti della HRV e di altri importanti indicatori prognostici (VO<sub>2</sub> max, VE/VCO<sub>2</sub> slope etc.). La possibilità di monitorare la HRV "on line" durante lo svolgimento dell'attività fisica può rappresentare un utile e decisivo strumento a tale scopo.

Nessuno studio ha affrontato la possibilità di definire programmi di allenamento in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica sulla base della HRV monitorata "on line" nel corso dell'esercizio fisico stesso, durante il quale si verificano variazioni della HRV dovute alla modulazione sia di origine neurovegetativa che meccanica dell'attività del nodo senoatriale.

Il presente progetto si propone di implementare sostanzialmente la metodologia dell'allenamento personalizzato guidato automaticamente dalla HRV in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica, per i quali l'esercizio fisico è considerato un elemento fondamentale delle strategie terapeutiche.

Nel presente progetto, differenti discipline, quali ingegneria biomedica e dei controlli automatici, matematica e cardiologia si integrano al fine di realizzare un ciclo-ergometro tecnologicamente all'avanguardia, definibile come "cycle medical personal trainer", avente lo scopo di realizzare una metodologia di allenamento personalizzata basata sulla HRV.

Il proposito innovativo e tecnologicamente all'avanguardia del presente progetto consiste nel passaggio, per pazienti con CHF, dal classico esercizio al ciclo-ergometro programmato in base alla frequenza cardiaca (basato su indicazioni generali stabilite a priori) ad un esercizio completamente automatizzato e personalizzato eseguito sulla base della HRV e delle sue modificazioni, all'interno di ogni singola sessione di allenamento e con il progredire dell'allenamento stesso. L'aspetto innovativo è la realizzazione del "cycle medical personal trainer" ed il conseguente

perfezionamento di un nuovo, tecnologicamente avanzato, protocollo riabilitativo di allenamento fisico personalizzato 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.

Il progetto prevede:

- la validazione del metodo del "cycle medical personal trainer", basato sulla rilevazione, e conseguente analisi spettrale della variabilità della Frequenza Cardiaca (FC), sul segnale di FC acquisito mediante cardiografo con il metodo standard basato sul segnale di FC (QRS) acquisito direttamente mediante una derivazione elettrocardiografica.
- la validazione della soglia anaerobica ventilatoria valutata con il metodo impiegato dal sistema "cycle medical personal trainer" mediante concomitante misurazioni delle concentrazioni di lattato ematico e degli scambi gassosi durante esercizi al cicloergometro .
- il confronto degli effetti del metodo di allenamento basato sul "cycle medical personal trainer" con metodi standard basati sulla FC sui principali "outcomes" di malattia in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica in fase di stabilità clinica.

Si intende verificare se i risultati ottenuti da programmi di training fisico basati sulle modificazioni della HRV valutata durante le sessioni di allenamento siano superiori o parimenti efficaci nel migliorare parametri che rappresentano indicatori di "outcomes" (positivi/negativi) in pazienti affetti da insufficienza cardiaca in fase di stabilità clinica.

Lo spin-off potrebbe risultare nella brevettazione del metodo del "cycle medical personal trainer" nell'ambito della riabilitazione cardiologica e di altre patologie croniche che beneficiano di un'attività fisica regolare, nonché nell'ambito più vasto della prevenzione primaria delle patologie cardiovascolari e del fitness.

Sono stati perfezionati algoritmi specifici per l'analisi on-line durante esercizio della HRV che sono stati testati in soggetti sani, secondo quanto previsto nel protocollo, durante test al cicloergometro con confronto del "cycle medical personal trainer", che utilizza un programma di valutazione on-line della HRV basato sui dati di frequenza cardiaca ottenuti mediante cardiografo con quelli ottenuti dalla contemporanea misurazione del segnale ECG ottenuto tramite derivazione elettrocardiografica diretta.

Sono iniziati e sono in corso gli esperimenti di validazione del "cycle medical personal trainer" con gli altri metodi di "assessment" della soglia anaerobica ventilatoria.

In riferimento al metodo del "cycle medical personal trainer" è stata inoltrata la domanda di brevetto italiano n. 102016000083609 (9 agosto 2016) per invenzione industriale presso il Ministero dello sviluppo Economico, in collaborazione con il Dipartimento di Ingegneria Elettronica dell'Università di Roma Tor Vergata . Il 4 agosto 2017 si è deciso di procedere con il deposito di una domanda internazionale per chiedere l'estensione della registrazione del brevetto italiano . (Application 2017/00165).

## AREA DI RICERCA BIOTECNOLOGIE AVANZATE

### *Biomarker discovery e implementazione di modelli di rischio per la definizione di protocolli di medicina predittiva*

Il progetto prevede l'esecuzione di studi di biomarker discovery e l'implementazione di modelli di rischio per la definizione di protocolli di medicina predittiva in pazienti con patologie cronicodegenerative. La scoperta di nuovi biomarcatori (biomarker discovery) è, infatti, essenziale nel disegno di modelli decisionali clinici in grado di predire in maniera personalizzata il rischio di insorgenza di una specifica patologia e/o delle sue complicanze, per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici – farmacologici e/o riabilitativi – nonché la mancata risposta ad un trattamento o la possibile insorgenza di effetti indesiderati.

Obiettivi generali di questo progetto di ricerca sono:

- Esecuzione di studi di Biomarker Discovery finalizzati ad individuare nuovi biomarcatori che possano favorire la promozione di programmi di medicina individualizzati in pazienti con malattie cronicodegenerative.
- Realizzazione di approcci innovativi per abilitare processi di analisi dei dati al fine di mettere a punto modelli predittivi per la stima del rischio individuale di sviluppare una certa malattia o per predire in maniera personalizzata la risposta ad un trattamento.
- Creazione di una rete di conoscenze utili alla diagnosi, prognosi e trattamento delle patologie di interesse e delle comorbidità associate al fine di realizzare nuovi strumenti decisionali per la pianificazione del management clinico di pazienti con malattie cronicodegenerative.

I campioni biologici di pazienti con fattori di rischio o patologie croniche disabilitanti sono adeguatamente preservati nella BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM). Le procedure di processazione e stoccaggio dei campioni biologici sono state strutturate in base a protocolli standard di riferimento e sono diversificate a seconda dei campioni che vengono trattati. In particolare, la BioBanca dell'Istituto prevede la conservazione dei seguenti tipi di campioni biologici tra cui: campioni ematologici, campioni urinari umani, altri liquidi biologici (es. liquidi ascitici, pleurici, saliva, ecc.), altri campioni biologici (espettorato, feci, ecc.), campioni tissutali umani, prodotti di estrazione (proteine, lipidi, acidi nucleici, ecc.) e linee cellulari umane.

Ad ogni campione biologico sono associati i dati del donatore che comprendono: la cartella clinica, la storia familiare, ed altri eventuali dati ritenuti di rilievo per studi specifici. La BioBIM è organizzata in modo da assicurare: la conservazione del campione per 20 anni, la qualità del campione biologico conservato, il corretto utilizzo dei campioni biologici depositati e la tutela della privacy del soggetto donatore. Gli aspetti metodologici includono l'uso di varie metodiche per l'analisi proteica e la biodistribuzione dei prodotti identificati. Sono inoltre condotte indagini di diagnostica molecolare per l'individuazione di varianti di sequenza utilizzabili come marcatori di diagnosi, progressione, prognosi e risposta alla terapia. Le informazioni ottenute sono integrate ed analizzate tramite avanzate tecnologie bioinformatiche che permettono la consultazione di banche dati on-line, l'estrazione delle informazioni di interesse dai "Big Data" mediante data mining e tecniche algoritmiche, senza perdere di vista alcuni aspetti regolatori in tema di privacy e consenso informato.

Per quanto riguarda l'analisi e la validazione di nuovi biomarcatori (biomarker discovery) in pazienti con patologie cronicodegenerative, il laboratorio BioDAT, in collaborazione con gruppi di ricerca interni (Centro per le cefalee) ed esterni (Università di Roma Tor Vergata, University of Miami, FL, USA) all'IRCCS ha condotto una serie di studi finalizzati all'analisi del rischio di ictus (o lesioni ischemiche silenti) in alcune categorie di pazienti. In particolare, è stato dimostrato che l'emicrania cronica è associata ad un aumentato rischio trombotico, conseguenza di una disfunzione endoteliale dovuta al susseguirsi dei numerosi episodi. Altri studi hanno riguardato l'analisi di alcune varianti geniche e/o del fenotipo infiammatorio ad esse correlato sul rischio cerebrovascolare di pazienti emicranici. La rielaborazione preliminare dei dati suggerisce il coinvolgimento di uno specifico aplotipo nella formazione di lesioni gliotiche e la sua associazione con biomarcatori di

infiammazione ed ictus ischemico. È in corso l'ampliamento della casistica per una validazione del dato e per la stesura finale del manoscritto. Sulla base dei risultati fin qui descritti e a supporto di alcune delle evidenze sperimentali ottenute, sono state inoltre effettuate due revisioni della letteratura al fine di analizzare l'interazione tra fattori ambientali, ormonali e genetici nelle differenze di genere osservabili per le malattie cerebrovascolari ed il coinvolgimento dello stress ossidativo nella patogenesi dell'emigrania e dei fenomeni protrombotici ad essa associati.

Per quanto riguarda, invece, la realizzazione di modelli predittivi per la stima del rischio individuale di sviluppare una certa malattia o per predire in maniera personalizzata la risposta ad un trattamento, i risultati conseguiti hanno portato alla validazione di un'applicazione software per la realizzazione di un modello decisionale clinico la cui architettura può essere adattata a vari contesti sanitari previo adattamento agli specifici dataset, addestramento del sistema e customizzazione dell'interfaccia. Inoltre, è stato messo a punto un indice di fragilità (Italian Frailty Index - IFI) da utilizzare come marcatore di deficit di salute e di decadimento di benessere per la predizione del rischio di disabilità in individui con età superiore ai 65 anni.

Grazie alla possibilità di ampliamento della casistica, offerta dalla Banca Biologica Interistituzionale Multidisciplinare (Progetto BioBIM) dell'IRCCS San Raffaele Pisana, e alle numerose collaborazioni Nazionali ed Internazionali già attive, si prevede di ampliare gli studi di biomarker discovery a nuove casistiche di pazienti affetti da patologie cronico-degenerative allo scopo di individuare e validare l'applicabilità clinica di nuovi parametri biologici e dell'algoritmo predittivo in protocolli di medicina personalizzata.

Parallelamente alla ricerca di nuovi biomarcatori, si prevede la customizzazione del modello algoritmico sopra descritto in ulteriori categorie di pazienti allo scopo di verificarne l'applicabilità quale strumento decisionale clinico in nuovi percorsi diagnostico-terapeutici assistenziali e/o nell'applicazione di programmi terapeutici individuali.

### Laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare

*Ruolo dell'antagonismo combinato glucocorticoide/mineralcorticoide sulle funzioni cognitive e metaboliche in un modello di obesità indotta da dieta*

I glucocorticoidi hanno un ruolo fondamentale nella biologia del tessuto adiposo regolando i primi stadi del differenziamento adipocitario, controllando la lipolisi, e la disponibilità del glucosio. Gli effetti dei glucocorticoidi nel tessuto adiposo non sono mediati esclusivamente dal recettore dei glucocorticoidi (GR), ma anche dal recettore mineralcorticoide (MR). Recentemente, si è trovato che MR è espresso dagli adipociti ed ha un ruolo chiave nella adipogenesi indotta da corticosteroidi. I glucocorticoidi rappresentano il principale ligando per il MR negli adipociti perché hanno una affinità 10 volte più elevata rispetto a quella per il GR, e il blocco di MR in adipociti in coltura inibisce il differenziamento indotto da corticosteroidi.

In contrasto con queste osservazioni, dati recenti dimostrano che il GR ha un ruolo più importante rispetto al MR nella promozione dei primi passi dell'adipogenesi in preadipociti umani. Tuttavia è chiaro che entrambi i recettori svolgono un ruolo importante, e la loro interazione reciproca è cruciale per la differenziazione degli adipociti.

Gli effetti benefici degli antagonisti del recettore MR sono stati dimostrati in diversi modelli animali di obesità genetica e indotta dalla dieta.

I ricercatori del Laboratorio hanno recentemente dimostrato che l'antagonismo farmacologico di MR con lo spironolattone è in grado di contrastare le disfunzioni metaboliche in un modello di obesità indotto da dieta grassa.

Fino ad oggi è ancora controverso il ruolo esatto del GR rispetto ad MR; non è chiara la loro interazione e relativa importanza nell'adipogenesi e nell'espansione del tessuto adiposo durante una dieta ad alto contenuto di grassi. Per queste ragioni, è stato studiato l'effetto di un nuovo antagonista combinato (CORT118335), che blocca sia GR che MR, al fine di valutarne le potenziali applicazioni in modelli sperimentali di obesità indotta da dieta.

Lo studio è stato condotto per 9 settimane su 3 gruppi di topi: nel primo gruppo i topi (n=10) erano alimentati con la dieta grassa senza nessun farmaco; negli altri due gruppi i topi erano alimentati sempre con dieta grassa ma quotidianamente gli veniva somministrato ad un gruppo (n=10) un farmaco che blocca solo il GR, il mifepristone e all'altro (n=10) il farmaco che blocca sia GR che MR (CORT118335).

L'antagonismo combinato GR/MR ha mostrato nei topi esposti a dieta grassa una potente inibizione dell'espansione del tessuto adiposo associata a benefici effetti metabolici sulla tolleranza al glucosio, sulla concentrazione di adipochine nel siero e sulla steatosi epatica. Diversamente, il mifepristone non ha avuto alcun effetto sul peso corporeo e sulla deposizione di grasso pur determinando effetti metabolici favorevoli.

I dati ottenuti confermano risultati precedenti dimostrando che, in un modello di obesità indotta da una dieta grassa, l'antagonismo farmacologico di GR (mifepristone) migliora la sensibilità all'insulina, ma non influenza il peso corporeo e la massa grassa. Inoltre, il gruppo ha recentemente dimostrato che l'antagonismo farmacologico di MR (spironolattone e drospinenone) neutralizza l'aumento di peso, così come l'aumento della massa grassa e l'alterata tolleranza al glucosio, indotta da una dieta ad alto contenuto di grassi.

È interessante notare che l'antagonismo combinato di GR e MR mostra potenti proprietà anti-obesità, in termini di riduzione del peso corporeo totale e dei depositi di grasso, in misura maggiore di quelli osservati con il solo antagonismo farmacologico nei confronti di MR. Infatti, topi a cui è stato somministrato CORT118335 hanno mostrato una marcata differenza nel peso corporeo totale, rispetto al controllo, dopo solo 2 settimane di trattamento e non hanno mostrato alcun aumento significativo del peso corporeo per tutto lo studio. Tali effetti non erano dovuti alla minore assunzione di cibo da parte del gruppo trattato ma ad un marcato aumento del dispendio energetico.

I risultati suggeriscono che l'antagonismo combinato GR/MR migliora l'attività metabolica dei topi e ha un profondo impatto sulla adiposità, sulla tolleranza al glucosio, e sulla resistenza alla dieta grassa. Inoltre, i topi trattati mostravano un significativo aumento dell'attività locomotoria rispetto ai controlli. Non è stato possibile analizzare la funzione cognitiva dei topi trattati.

La riduzione della massa grassa in topi trattati con CORT118335 è associata ad un significativo miglioramento della tolleranza al glucosio, a livelli più elevati di adiponectina plasmatica e ad una riduzione delle concentrazioni di leptina.

Nel grasso inguinale dei topi trattati con CORT118335 i ricercatori hanno osservato un forte aumento di espressione della proteina PGC-1 $\alpha$  che è il principale regolatore trascrizionale della biogenesi mitocondriale. Recenti dati suggeriscono che nel tessuto adiposo PGC-1 $\alpha$  svolge un ruolo importante nella omeostasi del glucosio e nell'ossidazione degli acidi grassi, e che l'organo adiposo in diversi modelli murini di obesità mostra una ridotta funzione mitocondriale. Si ipotizza quindi che il marcato aumento di espressione di PGC-1 $\alpha$  rappresenta uno dei meccanismi principali che spiegano i marcati effetti anti-obesità del composto in studio.

## **Laboratorio di Patofisiologia della cachessia e metabolismo del muscolo scheletrico**

### *Modulare metabolismo al fine di ridurre l'atrofia muscolare e la cachessia indotte dallo scompenso cardiaco: uno studio preclinico*

La cachessia è la riduzione di peso superiore al 5% in un anno che si osserva nel corso di una malattia cronica come il cancro e lo scompenso cardiaco (CHF). Quando lo scompenso cardiaco è associato alla cachessia, l'efficacia dei trattamenti per lo scompenso si riduce notevolmente e i pazienti hanno una prognosi devastante, indipendentemente dalla frazione di eiezione sinistra. L'eziologia e la patofisiologia della cachessia non sono note e non ci sono trattamenti adeguati per evitare la perdita di peso.

Visto l'effetto simil-esercizio fisico che è stato individuato per il modulatore metabolico trimetazidina (TMZ) e visto che l'esercizio fisico è una delle poche terapie che ha un certo effetto nel limitare la cachessia cardiaca, l'obiettivo di questo studio è analizzare, in collaborazione con l'Università Magna Graecia, (CZ), il ruolo della TMZ in un modello murino di cachessia cardiaca. E' stato messo a punto un modello chirurgico di cachessia cardiaca che è definito TAC (costrizione aortica trasversa).

Durante il primo anno di progetto è stato affinato il metodo TAC su topo. E' stato usato topi BALBc. Si è trattato di un lavoro molto articolato in quanto un'alta possibilità di fallimento caratterizza questa metodologia. La TAC induce ipertrofia cardiaca che, a sua volta, determina scompenso cardiaco e poi cachessia.

Durante il secondo anno si è provato ad analizzare la funzionalità muscolare, le criosezioni e i lisati dei muscoli degli animali con cachessia cardiaca (TAC) trattati o meno con modulatori del metabolismo, tuttavia non si è riusciti ad avere un numero adeguato di animali modello. I ricercatori si sono concentrati quindi maggiormente sul modello di cachessia tumorale C26 producendo un ulteriore lavoro.

### *Espressione, modulazione e attività del proteasoma in diversi modelli di atrofia muscolare*

L'atrofia muscolare è tipica di molte patologie del muscolo scheletrico, tra cui cachessia (nello scompenso cardiaco, nel cancro ecc...), sarcopenia nell'invecchiamento, miopenia nell'obesità e distrofie muscolari su base genetica. La riduzione della massa muscolare in queste patologie è spesso associata ad un aumento della degradazione proteica.

Il Sistema Ubiquitina Proteasoma (UPS) è, insieme all'autofagia, il principale pathway di degradazione proteolitica intracellulare. Le proteine substrato vengono marcate in maniera covalente con una catena di molecole di ubiquitina (proteine poli-ubiquitinate) che funge da segnale molecolare per il loro riconoscimento e degradazione da parte di un complesso macromolecolare,

denominato proteasoma, responsabile dell'azione proteolitica. Alterazioni dell'UPS sono alla base di numerose alterazioni patologiche delle cellule e dei tessuti di cui fanno parte.

Quel che appare evidente è che la formazione di complessi di proteasoma alternativi al 20S, 26S e 30S, sia un processo di adattamento metabolico delle cellule alle diverse condizioni di crescita nelle quali esse si trovano. Ad esempio, in condizioni di stress ossidativo, la formazione di particelle (20S senza 19S e 20S in associazione con IDE) a più alta affinità nei confronti di substrati quali le proteine denaturate o ossidate, sembra esser favorita rispetto alle altre (26S e 30S) che degradano preferenzialmente le proteine poli-ubiquitinate.

L'obiettivo scientifico di questo progetto è la caratterizzazione dell'attività e della composizione delle particelle di proteasoma espresse all'interno del tessuto muscolare di modelli murini caratterizzati da diversi tipi di atrofia muscolare: cachessia tumorale, aging, atrofia muscolare associata all'obesità e SLA. Inoltre, i ricercatori intendono valutare l'effetto di modulatori metabolici in questi modelli nel contesto dello studio del proteasoma.

Il fine di questo progetto è valutare la modulazione e l'apporto dell'attività del proteasoma nelle diverse patologie muscolari e l'effetto dei modulatori metabolici per una più specifica progettazione terapeutica.

Questo progetto viene realizzato in collaborazione l'Università degli Studi di Roma "Tor Vergata".

L'analisi in questione prevede la produzione di modelli murini di cachessia tumorale (Modello C26), la produzione di modelli murini di cachessia da scompenso cardiaco (modello chirurgico TAC) e la somministrazione di dieta grassa. I vari modelli verranno trattati con TMZ e paragonati con i modelli non trattati.

Per l'analisi del proteasoma vengono utilizzati differenti approcci: (i) una valutazione complessiva della quantità di subunità facenti parte del complesso del proteasoma, e di tutte le macromolecole ad esso associate di interesse nel progetto in questione, in condizioni denaturanti e riducenti utilizzando metodiche di lisi cellulare in presenza di detergenti; (ii) una valutazione complessiva dell'attività proteolitica del proteasoma (potenziale degradativo), nei confronti di substrati fluorogenici specifici, in estratti citosolici delle fibre muscolari; (iii) una valutazione della composizione e dell'attività di ciascuna delle particelle mature di proteasoma espresse all'interno del citosol delle cellule muscolari in questione.

Per ottemperare ai punti (ii) e (iii), si rende necessaria una lisi del tessuto muscolare in assenza di detergenti ed inibitori di proteasi al fine di garantire la stabilità e l'attività proteolitica delle particelle di proteasoma. Metodologie specifiche (proteasome assay, native-gel, overall assay, purificazione in gradiente di glicerolo) vengono adottate a seconda dell'obiettivo prefissato.

I ricercatori si aspettano di definire con precisione il ruolo del proteasoma, delle subunità coinvolte e della loro modulazione nelle diverse patologie caratterizzate da atrofia muscolare. Questo contribuirà a ideare terapie più specifiche per ogni patologia al fine di contrastare la riduzione di massa muscolare.

Sono state identificate delle specificità di espressione delle subunità del proteasoma in un modello di cachessia tumorale (C26) e propongono di approfondire le basi molecolari di queste specificità.

### *Influenza della modulazione del metabolismo sulla polarizzazione macrofagica e conseguente potenziamento del processo rigenerativo nella fragilità sarcopenica*

I macrofagi (MF) svolgono un ruolo centrale nel contesto dell'omeostasi dei tessuti, compresa la rigenerazione del muscolo scheletrico. I MF esercitano effetti benefici o deleteri durante la rigenerazione dei tessuti, in maniera dipendente dal loro stato di attivazione/polarizzazione. Sulla base delle diverse combinazioni di citochine e fattori di crescita secreti, i MF pro-infiammatori (M1) inibiscono la fusione dei precursori miogenici (myogenic precursor cell, MPC), mentre i MF anti-infiammatori (M2) stimolano il differenziamento delle cellule satelliti in miotubi maturi. È stato dimostrato in vivo – anche nell'uomo – che i MF orchestrano in sequenza la miogenesi nell'adulto durante la rigenerazione del muscolo scheletrico danneggiato, dove le MPC miogenine positive in differenziamento si accoppiano ai MF anti-infiammatori.

E' interessante notare che l'attivazione e la polarizzazione dei macrofagi è associata ad una riprogrammazione metabolica ben definita, ed esiste una forte associazione tra lo stato metabolico e il fenotipo dei macrofagi. In particolare, gli M1 ottengono l'energia principalmente dalla glicolisi mentre gli M2 dipendono principalmente sul metabolismo ossidativo come meccanismo di produzione di energia. Queste premesse suggeriscono la possibilità di indirizzare la polarizzazione dei macrofagi e di utilizzare il loro effetto benefico sulla rigenerazione del muscolo scheletrico attraverso la modulazione del loro metabolismo. Vari farmaci, definiti modulatori del metabolismo, sono stati studiati approfonditamente in campo cardiologico ed è stata dimostrata la loro capacità di riprogrammare il metabolismo del miocardio e di ottimizzare la produzione di energia.

Con il presente progetto ci si propone di studiare la risposta dei macrofagi ai modulatori del metabolismo e il conseguente effetto sulle capacità rigenerative del muscolo scheletrico che sono fortemente influenzate dalle popolazioni macrofagiche.

Scopo del progetto è valutare se agendo sul metabolismo si possa indirizzare la polarizzazione dei macrofagi verso un fenotipo che stimoli la rigenerazione muscolare. I macrofagi possono assumere diversi fenotipi e funzioni; gli M2 hanno un fenotipo protolerogenico e hanno un effetto benefico sulla rigenerazione muscolare. Ci si propone di verificare se i modulatori del metabolismo siano in grado di alterare la polarizzazione dei macrofagi. Si intende verificare se i macrofagi trattati con modulatori del metabolismo siano in grado di stimolare la rigenerazione muscolare in vivo. In particolare, si è interessati a verificare l'ipotetico miglioramento del potenziale rigenerativo nell'anziano, dove una ridotta capacità miogenica è una causa maggiore di sarcopenia. La sarcopenia è una delle modifiche più rilevanti durante l'invecchiamento ed è un fattore limitante per la qualità della vita della persona anziana. I risultati ottenuti da questo studio possono essere rapidamente trasferiti alla pratica clinica, poiché alcuni modulatori del metabolismo sono già utilizzati nell'uomo.

Questo progetto viene realizzato in collaborazione con il Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) di Roma.

Materiali e metodi:

Effetto della riprogrammazione metabolica indotta da farmaci sulla polarizzazione dei macrofagi, e loro influenza sui progenitori muscolari in vitro.

- i) Valutazione del ruolo dei modulatori del metabolismo (MM) sulla polarizzazione dei MF.
- ii) Analisi dell'influenza dei MF trattati con MM sul differenziamento e la sopravvivenza dei precursori muscolari e sui progenitori fibro/adipogenici (fibro/adipogenic progenitors FAPs) residenti.
- iii) Analisi dei pathway metabolici indotti dai modulatori metabolici nei macrofagi.

Effetto della modulazione metabolica sulla rigenerazione del muscolo scheletrico mediata dai MF.

- i) Analisi della polarizzazione dei MF nei topi trattati con MM paragonati ai topi non trattati.
- ii) Analisi dell'efficienza di rigenerazione dopo danno da cardiotoxina e sua correlazione con la polarizzazione dei MF in situ.
- iii) Discriminazione tra un effetto diretto dei MM sui progenitori miogenici e un effetto dei MM sui progenitori miogenici mediato dai MF.

Polarizzazione dei MF indotta da modulazione metabolica e sua correlazione con la rigenerazione in modelli murini di invecchiamento.

- i) Analisi della polarizzazione dei MF in modelli murini di invecchiamento trattati con MM
- ii) Effetto del trattamento con MM sulla qualità del muscolo scheletrico, sull'abbondanza dei progenitori miogenici e sulla capacità miogenica.
- iii) Analisi dell'efficienza di rigenerazione in modelli murini di invecchiamento trattati con MM e valutazione della polarizzazione dei MF in situ.

Il completamento di questo progetto fornirà la base per l'utilizzo dei MM per il trattamento della sarcopenia legata all'invecchiamento, possibilmente prevenendo la fragilità e/o migliorando la riabilitazione dopo allettamento o fratture. Ci si aspetta di dimostrare il meccanismo molecolare alla base della capacità dei MM di indirizzare la polarizzazione dei MF verso M2, che, a loro volta, recuperano la capacità delle cellule satelliti di completare il processo di rigenerazione. Il



potenziamento della rigenerazione muscolare sarà il prerequisito per dimostrare il miglioramento della qualità e della funzionalità del muscolo dopo trattamento con MM, sia somministrati in maniera sistemica nei pazienti fragili sia applicata localmente per migliorare il recupero muscolare dopo fratture.

Si è riscontrato che il modulatore metabolico trimetazidina promuove il differenziamento dei mioblasti e la miogenesi in topi cachettici C26. Per il 2018 ci si propone di valutare effetto *in vivo* e di capire se anch'esso sia mediato dall'azione dei macrofagi.

#### *Analisi della concentrazione di specifici fattori circolanti nell'ipertensione polmonare*

L'ipertensione polmonare è una malattia grave caratterizzata da un progressivo aumento della pressione delle arterie polmonari che determina scompenso cardiaco e una elevata mortalità. L'ipertensione polmonare è spesso associata a cachessia e a conseguente ulteriore peggioramento delle condizioni di vita del paziente. La valutazione dello stato cachettico del paziente è spesso sottovalutata in quanto considerata un esito finale e irrimediabile della malattia. Tuttavia, studi in modelli animali hanno dimostrato che la protezione del muscolo scheletrico e la riduzione della perdita di massa muscolare aumentano la sopravvivenza e aiutano il paziente a sopportare meglio le terapie atte a fronteggiare la malattia principale che è causa della cachessia.

Gli obiettivi della ricerca, svolta in collaborazione con la Sapienza Università di Roma, consistono nel valutare le concentrazioni di fattori serici associati alla cachessia e le loro fluttuazioni in pazienti con ipertensione polmonare prima e dopo terapia specifica, e l'associazione tra ipotetici marcatori circolanti di cachessia e stato clinico dei pazienti. Questo consentirebbe di individuare dei biomarcatori associati alla cachessia indotta dall'ipertensione polmonare. La definizione di questi biomarcatori potrebbe aiutare a prevedere il decorso della malattia e potrebbe mettere in evidenza la necessità di proteggere il muscolo scheletrico in questo tipo di patologia.

Numerosi analiti circolanti nel sangue di pazienti cachettici e relativi controlli sani vengono dosati mediante saggi immunoenzimatici classici e mediante tecnologia LUMINEX che consente di analizzare numerosi analiti contemporaneamente in uno stesso campione, usando volumi ridotti di siero (circa 150 µl). Inoltre, le condizioni cliniche dei pazienti vengono valutate contemporaneamente alla valutazione della massa magra e della funzionalità muscolare tramite grip test e 6MWT.

Uno studio sul sangue di pazienti con ipertensione polmonare, effettuato in collaborazione con la Sapienza Università di Roma, ha mostrato, ad una analisi preliminare, che alcuni analiti circolanti facenti parte della famiglia del TGF-beta mostrano delle differenti concentrazioni tra pazienti e controlli (Tabella 1) e si ritiene pertanto che potrebbero essere dei buoni candidati come biomarcatori di cachessia, argomento che approfondiremo con il presente progetto.

	<b>Controlli Media ± DS</b>	<b>IAP Media ± DS</b>	<b>p</b>
<b>cTnT (pg/ml)</b>	0,001 ± 0,002	50,8 ± 135,8	0,000000
<b>NT proBNP (pg/ml)</b>	6,8 ± 21,5	387,7 ± 582,5	0,044390
<b>Endotelina-1 (pg/ml)</b>	2,7 ± 7,7	12,6 ± 9,7	0,003618
<b>TNFα (pg/ml)</b>	0,0 ± 0,0	3,4 ± 3,6	0,003936
<b>IL 17a (pg/ml)</b>	5,2 ± 1,8	11,1 ± 2,9	0,000000
<b>IL-6 (pg/ml)</b>	0,0 ± 0,0	3,5 ± 3,7	0,004307
<b>Tenascina C (ng/ml)</b>	9,5 ± 1,6	9,9 ± 2,3	0,62
<b>VEGF (pg/ml)</b>	29,2 ± 25,7	37,8 ± 46,1	0,570692
<b>Activina A (pg/ml)</b>	146,9 ± 38,3	413,7 ± 332,4	0,014464
<b>GDF-8 (pg/ml)</b>	803,0 ± 231,2	2025 ± 2098	0,03
<b>GDF-15 (ng/ml)</b>	0,6 ± 0,2	1,9 ± 1,6	0,009980

Si prevede di valutare l'esistenza o meno di una associazione tra vari potenziali marcatori di atrofia muscolare e diversa stadiazione di ipertensione polmonare.

## *Ruolo della proteina apoptotica Apaf1 nel differenziamento muscolare*

Apaf1 è una proteina chiave nel processo apoptotico. Recentemente è stato suggerito un ruolo aggiuntivo per Apaf1; infatti, è stato dimostrato che Apaf1 media il corretto funzionamento del centrosoma che è l'organizzatore del citoscheletro nella polarizzazione neuronale e nella specificazione assonale. Il gruppo di ricerca ha dimostrato che Apaf1 svolge un ruolo nella neurogenesi.

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

Nello specifico vengono usate: linee cellulari muscolari C2C12; cellule satelliti primarie prelevate da topi Apaf1-KO e da topi normali di controllo (WT); embrioni Apaf1-KO e WT di cui verranno isolati gli arti per ottenerne lisati da analizzare in WB, Q-RT-PCR e per ottenere criosezioni su cui effettuare immunofluorescenze da analizzare al microscopio confocale.

Analisi di Q-RT-PCR e di WB su lisati di arti provenienti da embrioni Apaf1-KO e WT hanno mostrato che i geni miogenici sono meno espressi negli embrioni KO rispetto ai WT e questo indica un rallentamento del differenziamento muscolare in assenza di Apaf1.

Il progetto richiede un altro anno per essere completato, durante il quale verranno analizzate le criosezioni in OCT degli arti provenienti da embrioni Apaf1-KO e WT per valutare il livello di sviluppo del muscolo scheletrico. Inoltre si otterranno cellule satelliti da entrambi i tipi di embrioni (KO e WT) e si studierà il loro tasso di differenziamento. Ci si aspetta, in entrambi i casi, di osservare un rallentamento negli embrioni Apaf1-KO.

## *Caratterizzazione dei sensori metabolici attivati dalla trimetazidina (TMZ) nel muscolo scheletrico; ruolo delle sirtuine*

La trimetazidina (TMZ) è un modulatore del metabolismo che ha un ruolo citoprotettivo nel miocardio e che è stato approvato per l'uso nell'umano come farmaco anti-anginoso. Il gruppo di ricerca ha studiato per la prima volta il ruolo nel muscolo scheletrico.

Tramite questo studio, ci si è proposti di approfondire lo studio delle vie metaboliche e di trasduzione del segnale indotte dalla TMZ nel muscolo scheletrico. Si è già osservato che la TMZ induce una forte espressione di PGC-1 $\alpha$ . In particolare, visto che PGC-1 $\alpha$  può essere attivato da Adenosine Monophosphate activated Protein Kinase (AMPK) e dalle sirtuine, si studia il possibile coinvolgimento di queste molecole in collaborazione con la Sapienza Università di Roma. Vengono usati miotubi ottenuti da mioblasti murini C2C12 trattati con TMZ. Inoltre sono stati studiati, mediante WB, i lisati muscolari di topi C26 come modello di cachessia tumorale. I topi sono stati trattati con TMZ (5mg/kg) per 12 giorni e sono stati paragonati con topi non trattati.

Si è osservato che, in seguito al trattamento con TMZ, in topi C26, si ha un aumento della SIRT1 e della SIRT3 (osservate mediante WB) e delle loro attività. Inoltre, i miotubi C2C12 maturati per 96h e poi trattati con TMZ per 4h mostrano, tramite WB, un aumento sia della SIRT1 che della SIRT3 e delle loro attività misurate con saggi opportuni. Inoltre, il livello di acetilazione dell'istone acetilato si riduce.

## **Laboratorio di Patologia Molecolare, Cellulare e Ultrastrutturale**

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

Le sirtuine mitocondriali SIRT3, SIRT4 e SIRT5 deacilano diverse proteine mitocondriali controllando numerose funzioni come fosforilazione ossidativa, metabolismo della glutammina, ciclo di Krebs, ecc. A loro volta i mitocondri hanno un ruolo fondamentale nel regolare lo stato

energetico cellulare mantenendo la vitalità cellulare. Questo è particolarmente importante in cellule post-mitotiche come neuroni e cardiomiociti in cui l'assenza di replicazione richiede il prolungato mantenimento dell'integrità strutturale e funzionale della cellula. Disfunzioni mitocondriali sono presenti nell'invecchiamento, malattie neurodegenerative e tumori.

Lo studio si prefigge di indagare il ruolo delle sirtuine mitocondriali nella regolazione del metabolismo cellulare e il ruolo delle sirtuine mitocondriali nel mantenere l'integrità, funzionalità e vitalità cellulare.

#### Linee cellulari e trattamenti:

Sono state usate linee cellulari MDA-MB-231 e C2C12. Queste sono state trasfettate o silenziate per le varie sirtuine mitocondriali tramite vettori plasmidici. Le linee parentali o trasfettate sono state sottoposte a trattamento con apoptogeni.

#### Misurazione dei livelli delle sirtuine mitocondriali e della loro attività

I livelli delle sirtuine mitocondriali (SIRT3 e SIRT5) sono stati misurati tramite i western blot nelle frazioni mitocondriali. Sempre nelle frazioni mitocondriali è stata misurata l'attività deacetilasica delle sirtuine tramite l'utilizzo di un substrato fluorescente e misurazione della fluorescenza emessa in un fluorimetro.

#### Misurazione del processo autofagico

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

#### Misurazione dei parametri cellulari e metabolici

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

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

Un altro aspetto che i ricercatori hanno studiato è il controllo da parte delle sirtuine del metabolismo della glutammina. In questo caso essi hanno dimostrato che SIRT5 desuccinila e inibisce l'enzima chiave e cioè la glutaminasi con conseguente diminuzione del metabolismo, della produzione di ammoniaca e dell'autofagia.

Ci si propone di studiare: (a) il coinvolgimento delle sirtuine nucleari e in particolare SIRT1 e SIRT6 nel regolare l'espressione di quelle mitocondriali al fine di dimostrare la presenza di una risposta coordinata dei vari membri di questa famiglia genica allo stress; (b) il ruolo delle sirtuine mitocondriali nella regolazione di altri pathways metabolici.

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

Le sirtuine sono una classe di deacilasi coinvolte nella risposta a diversi tipi di stress e associate all'allungamento della vita. Il ruolo delle sirtuine nella sopravvivenza cellulare dei tessuti neuronali e muscolari è ormai assodato, ma è necessario approfondire lo studio dei meccanismi che regolano la funzione delle sirtuine nella risposta allo stress nel tessuto neuronale e muscolare. Nei mammiferi

esistono sette sirtuine che regolano molti aspetti del metabolismo energetico e modulano la trascrivibilità della cromatina.

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

Obiettivi dello studio sono:

- indagare il ruolo dell'interazione tra sirtuine e delle CRP nei meccanismi di morte e di riparo cellulare.
- Studiare l'impatto sulla morte cellulare e sul riparo molecolare nei miociti e nei cardiomiociti delle CRP valutando la risposta al danno della cellula indotto da infarto (MI). In particolare, valutare se l'infarto miocardico regola l'espressione delle CRP e le sirtuine e la loro interazione.
- Studiare il ruolo delle sirtuine nel mediare gli effetti benefici dell'esercizio fisico. In particolare, studiare l'espressione e la regolazione delle sirtuine in tessuti neuronali, muscolari e cardiaci in topi sottoposti ad esercizio fisico.

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

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

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

L'attività motoria regola l'espressione delle sirtuine. Ci si aspetta che l'attività fisica sia caratterizzata da aumentati livelli delle sirtuine e/o CRP. Inoltre, ci si aspetta che l'attività fisica attivi un'interazione tra CRP e sirtuine. I precedenti studi preliminari hanno già dimostrato che l'esercizio fisico altera l'espressione dei messaggeri di diverse sirtuine. Ci si aspetta che anche le CRP siano alterate. A tal fine saranno utilizzati modelli murini e cellulari in assenza di gravità e modelli umani sottoposti ad esercizio fisico.

## **Laboratorio di Patologie cronico-degenerative**

## *Identificazione di marcatori molecolari come predittori di andamento clinico e di prognosi in pazienti affetti da broncopneumatica cronica ostruttiva (BPCO)*

Nonostante la semplicità nel formulare una diagnosi di BPCO, basata sulla valutazione spirometrica della limitazione del flusso aereo e sulla presenza di sintomi quali mancanza di respiro e tosse cronica, si tratta di una malattia eterogenea che include diversi "fenotipi clinici", risultanti dalla combinazione di parametri con significato clinico quali sintomi, riacutizzazioni, risposta ai trattamenti, tasso di progressione della malattia e morte.

E' fondamentale quindi poter raggruppare i pazienti in fenotipi, perché lo stesso sottogruppo/fenotipo dovrebbe mostrare una simile progressione della malattia e una paragonabile risposta ai trattamenti. Inoltre, le esacerbazioni sono eventi importanti nella storia clinica del paziente BPCO, contribuendo al declino della funzionalità respiratoria e dello stato di salute generale, ed essendo responsabili delle ospedalizzazioni e quindi dei costi sanitari principali associati alla malattia.

Al momento, non si conoscono biomarcatori che possano predire l'andamento clinico, la prognosi o le riacutizzazioni, essendo anch'esse degli eventi eterogenei.

Partendo da ciò, esiste l'esigenza di individuare biomarcatori diagnostici e prognostici in grado di classificare meglio i pazienti BPCO in sottogruppi che abbiano un valore predittivo in termini di severità e di prognosi, in modo da poter determinare più facilmente la terapia appropriata e ottenere migliori risultati da un punto di vista clinico-assistenziale.

In particolare, l'ipotesi principale dello studio è che i processi biologici coinvolti nella patogenesi della BPCO, quali l'infiammazione e lo stress ossidativo/nitrosativo, possano indurre il rilascio di allarmine redox-sensibili in fluidi biologici che potrebbero essere utili biomarcatori della patologia. Obiettivo preliminare della ricerca è la caratterizzazione di pathways infiammatori modulati dallo stato redox in un modello di infiammazione *in vitro*.

Obiettivo principale dello studio è l'identificazione di potenziali biomarcatori redox-sensibili nella BPCO da correlare con parametri spirometrici, clinici e biochimici che indicano lo stato della patologia.

Cellule epiteliali polmonari NCI H1299 e macrofagiche RAW 264, coltivate in terreno RPMI-1640 al 10% di siero, sono state stimulate con lipopolisaccaride (LPS) alla concentrazione di 100 ng/mL. I trattamenti con un derivato del glutatione (GSH-C4) e N-acetil-cisteina (NAC) sono stati eseguiti alla concentrazione di 10 mM e con BSO 120 µM.

Il glutatione intracellulare è stato misurato mediante saggio colorimetrico. I livelli di specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono stati misurati utilizzando un analogo della diclorofluoresceina mediante analisi spettrofluorimetrica.

Lisati e sovranatanti cellulari sono stati analizzati in assenza o in presenza di Riduzione con ditionotreitolo (DTT) e NEM (N-ethylmaleimide) tramite elettroforesi su gel di poliaccrilammide in presenza di sodio dodecil solfato (SDS-PAGE), trasferiti su membrana di nitrocellulosa, incubata con anticorpi specifici. Le proteine di interesse sono state visualizzate mediante tecniche di chemiluminescenza.

Dopo estrazione dell'RNA dalle cellule, è stata eseguita una *Real Time PCR*, reazione a catena della polimerasi, utilizzando opportuni primer disegnati sulla sequenza dei geni di interesse. Per la Real Time PCR è stato utilizzato il metodo del colorante Fluorescente SYBER Green (IQTM SYBR Green Supermix-Biorad).

Le citochine sono state analizzate nei sovranatanti cellulari tramite BioPlex (Biorad).

Pazienti affetti da BPCO sono in corso di arruolamento presso l'IRCSS San Raffaele Pisana. Tutti i partecipanti forniscono consenso informato scritto.

I pazienti sono divisi in gruppi diversi in base alla gravità della malattia: stadio GOLD 1 (lieve), stadio GOLD 2 (moderata), stadio GOLD 3 (grave) o stadio GOLD 4 (molto grave). Inoltre, sono suddivisi in gruppi con malattia stabile o presentante riacutizzazione, e separando i fumatori dai non fumatori. Informazioni generali sui pazienti (come età, sesso, indice di massa corporea, dieta, farmaci) vengono raccolte e il loro stato di salute (basato su dati antropometrici, analisi biochimico-

cliniche, parametri cardiovascolari) è annotato al momento del ricovero in ospedale. E' inoltre reclutato un gruppo di donatori di controllo non affetti da BPCO o da altre malattie polmonari. Da tutti i partecipanti vengono prelevati campioni di sangue al momento del ricovero, dopo 1,5 settimane di degenza e alla fine della terapia riabilitativa di tre settimane, consistente nell'assunzione di broncodilatatori e nell'esercizio fisico atto a rinvigorire i muscoli del respiro. I campioni di sangue sono centrifugati per ottenere il plasma e sono utilizzati per le successive analisi.

L'analisi dei dati è effettuata utilizzando il software SPSS. La distribuzione dei valori dei dati viene valutata mediante i test di normalità Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. Per i valori con distribuzione non normale, un tentativo di normalizzazione è effettuato usando dati trasformati in funzione logaritmica. Per variabili continue, sono calcolati mediane e interquartili; il test di Kruskal Wallis verrà utilizzato per il confronto tra i diversi gruppi; il test di Mann-Whitney U invece per i confronti tra due gruppi; la correzione di Bonferroni viene effettuata per confronti multipli; il test di Wilcoxon è applicato per confrontare valori appaiati. Il coefficiente di Spearman è utilizzato per correlare variabili continue. Le curve ROC sono generate per decretare il cut-off da utilizzare per i biomarcatori selezionati e che possono predire le caratteristiche associate alla malattia. In generale, valori di P minori o uguali a 0,05 sono considerati significativi.

Il 2017 è stato dedicato alla caratterizzazione dei pathways infiammatori modulati dallo stato redox in modelli *in vitro* rappresentati da cellule epiteliali polmonari (NCI H1299) e cellule macrofagiche RAW 264 stimolate con LPS. Inizialmente è stata verificata l'attivazione della risposta infiammatoria a seguito della stimolazione con LPS in entrambe le linee cellulari, in termini di attivazione del pathway di NF- $\kappa$ B, successiva produzione e secrezione di citochine infiammatorie e secrezione di allarmine. Inoltre, per analizzare il ruolo dello stato redox sui pathways infiammatori, sono stati seguiti due diversi approcci: il primo ha previsto l'utilizzo di molecole antiossidanti; il secondo, la deplezione di glutatione, principale antiossidante endogeno. Il trattamento con due diverse molecole antiossidanti (un derivato idrofobico del glutatione, GSH-C4 e il suo precursore n-acetilcisteina (NAC) è stato in grado di revertire la risposta infiammatoria indotta da LPS sia nelle cellule epiteliali sia in quelle macrofagiche, con una maggiore efficacia dimostrata per la molecola GSH-C4. La deplezione del glutatione endogeno sorprendentemente, non esacerbava invece la risposta infiammatoria, ma influenzava due diversi gruppi di geni: aumentava l'espressione di geni coinvolti nella risposta allo stress ossidativo e diminuiva quella di geni coinvolti nella risposta antivirale; in conseguenza di quest'ultimo effetto, la deplezione di GSH favoriva l'infezione da virus influenzale, mettendo in luce l'importante ruolo svolto da questa molecola nella difesa contro le infezioni virali.

Nel proseguimento del progetto, i ricercatori estenderanno lo studio ad un modello di cellule epiteliali bronchiali primarie di pazienti affetti da BPCO e quindi, si andrà ad analizzare dei markers infiammatori e di stress ossidativo nel plasma di pazienti affetti da BPCO. I ricercatori si aspettano di poter rilevare proteine redox-sensibili in fluidi biologici provenienti dai pazienti arruolati. L'idea è di poter stabilire una correlazione tra i livelli di una o più di queste molecole e diversi parametri che indicano lo stato della patologia. In particolare, l'analisi dei campioni BPCO verrà effettuata anche prima, durante e alla fine della riabilitazione in modo tale da poter ottenere informazioni correlabili con la risposta dei pazienti alla terapia riabilitativa. Quindi, in generale, si ritiene che questo studio possa portare all'identificazione di nuovi biomarcatori con un elevato valore predittivo della severità e della progressione della patologia, nonché del numero e della severità delle riacutizzazioni, anche al fine di valutare l'efficacia di trattamenti farmaceutici e riabilitativi.

## **Laboratorio di Farmacologia Cellulare e Molecolare**

### *Il ruolo della S-nitrosilazione nella risposta al dolore spontaneo*

Il dolore è una sofferenza globale che colpisce persone di ogni età, sesso ed etnia. Significative evidenze collegano il superossido (SO), l'ossido nitrico (NO) e il perossinitrito (PN) al dolore di

diverse eziologie. Recenti studi, infatti, hanno dimostrato come le strategie terapeutiche dirette contro SO, NO e PN siano in grado di prevenire e revertire patologie associate alle diverse tipologie di dolore (Muscoli C. et al, 2004, 2007; Doyle T. et al 2010 ).

L'ossido nitrico è in grado di modulare la trasduzione del segnale a determinati stimoli mediante meccanismi che portano alla modificazione transitoria delle proteine. La principale reazione chimica alla base di questi meccanismi è la S-nitrosilazione dei residui di cisteina che consiste nella covalente aggiunta di NO ai residui sulfidrilici reattivi, portando alla formazione di derivati S-nitrosotiolici (SNO). Il livello steady-state degli S-nitrosotiooli dipende dal fine equilibrio tra la produzione di NO e la riduzione SNO. Quest'ultima reazione è catalizzata da enzimi denitrosilanti, il più importante dei quali è l'S-nitrosoglutatione (GSNO) reduttasi (GSNOR) NADH-dipendente. Il GSNOR è un enzima conservato dal punto di vista evolutivo ed ampiamente espresso che, riducendo il nitrosotioolo a basso peso molecolare GSNO, diminuisce indirettamente la concentrazione di proteine SNOs (PSNOs) (Di Giacomo G. et al. , 2012). È ormai noto come le modificazioni redox reversibili di proteine costituiscano un importante meccanismo di regolazione post-traduzionale che può contribuire all'adattamento delle vie di segnalazione del dolore. Infatti, in condizioni normali, le modificazioni redox di specifici residui di cisteina sono reversibili e importanti per gli adattamenti redox di funzioni proteiche (Tegeger I. et al. , 2011) ma nonostante il ben noto effetto dell'ossido nitrico nella fisiopatologia, rimane ancora da identificare il ruolo specifico dei S -nitrosotiooli (SNO) durante la risposta al dolore.

Recenti studi hanno identificato il coinvolgimento dei canali TRP (Transient Receptor Potential) nei meccanismi nocicettivi. Il TRPA1, una sottofamiglia dei canali TRP, detto anche recettore dell'anchirina, è un canale cationico non-selettivo permeabile al Calcio, espresso da una sottopopolazione di fibre nervose afferenti, e coinvolto anche nei meccanismi di nocicezione. Il recettore TRPA1 viene attivato non solo da irritanti esogeni come il cisplatino o l'arcoleina, ma anche da una serie di sottoprodotti dello stress ossidativo come il prerossido di idrogeno o il 4-idrossi-trans-2-nonenale (4-HNE).

Inoltre, è stato osservato negli ultimi anni che l'attivazione di questi canali è strettamente correlato a meccanismi nitrossidativi; infatti, il TRPA1, è sensibile ai prodotti reattivi dello stress ossidativo e nitrossidativo in modelli animali di dolore di diversa eziologia, come il dolore infiammatorio, neuropatico e durante il mal di testa.

La prima parte del progetto prevede di studiare il coinvolgimento del sistema GSNOR nella sensibilità nocicettiva e il ruolo protettivo degli antiossidanti nei topi GSNOR-KO.

Poiché il TRPA1 può essere attivato in seguito a modificazioni post-traduzionali, come la S-nitrosilazione, l'obiettivo di questa seconda parte del progetto è quella di studiare il coinvolgimento di TRPA1 nell'iperalgia e nel dolore infiammatorio acuto.

Al fine di determinare il ruolo potenziale della S-nitrosilazione nel pathway del dolore, sono stati utilizzati topi GSNOR-Knock out (GSNOR-KO), poiché mantengono la capacità di produrre ossido nitrico, ma non sono in grado di ridurre SNOs. Per la valutazione del coinvolgimento dei recettori TRPA1 nel dolore infiammatorio, indotto dalla somministrazione intraplantare di carraggenina, sono stati utilizzati ratti Wistar maschi.

Le soglie nocicettive sono state valutate attraverso specifici test di iperalgia termica e allodinia meccanica. Per l'iperalgia termica, il tempo di latenza del ritiro della zampa a uno stimolo termico è stato eseguito tramite l'apparato di Hargreaves (Planta test) mentre la soglia del ritiro della zampa a stimoli tattili è stato eseguito utilizzando filamenti di Von Frey.

Inoltre, sono stati somministrati ad animali, suddivisi in gruppi sperimentali, diversi antiossidanti per valutare l'effetto protettivo di queste sostanze nei topi GSNOR-KO e nei ratti Wistar; e per identificare nuove classi di farmaci in grado di prevenire e revertire l'iperalgia e/o l'allodinia causata dal dolore neuropatico e infiammatorio.

Al fine di valutare il coinvolgimento della S-nitrosilazione nel dolore, sono stati analizzati, nel tratto L4-L5 del midollo spinale, i livelli di PSNOs dei topi GSNOR-KO rispetto alla controparte wild-type. Sono stati valutati anche i livelli di espressione di NOS, l'accumulo di nitrotirosine e i livelli di perossidazione lipidica e la quantità di proteine carbonilate.

Al fine di valutare il coinvolgimento del recettore TRPA1 nel dolore, sono stati analizzati, nel tratto L4-L5 del midollo spinale, le modificazioni post-traduzionali del recettore TRPA1 durante lo stato di dolore.

Attraverso analisi comportamentali, abbiamo osservato un aumento dell'iperalgia termica e allodinia meccanica in topi GSNOR-KO, rispetto a topi wild-type della stessa età, e in ratti Wistar.

E' stato osservato come i topi GSNO-KO hanno mostrato un accumulo di proteine nitrosilate e carbonilate rispetto alla controparte wild-type, ma non hanno mostrato un aumento dei livelli di proteine nitrate; ciò suggerisce che anche la S-nitrosilazione delle proteine sia fondamentale nel pathway del dolore e potrebbe rappresentare un'ulteriore (ma reversibile) modificazione post-traduzionale implicata nella sensitizzazione centrale che porta alla massima sensibilità del dolore.

Inoltre, la somministrazione della carragenina intraplantare ha portato alla nitratura delle proteine totali, nel tratto lombare del midollo spinale. In particolare, l'iniezione di carragenina ha indotto la S-nitrosilazione di TRPA1 e la sua attivazione, mentre, il pretrattamento dei ratti con i diversi antiossidanti ha bloccato lo sviluppo di tale modificazione.



## **PUBBLICAZIONI**

### **ESC working group position paper on myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries.**

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

Eur Heart J. 2017 Jan 14;38(3):143-153.

The management of acute myocardial infarction (AMI) has evolved over the past century and particularly in the past 50 years. Important milestones include the development of the electrocardiogram, coronary care units, coronary angiography, reperfusion therapies, and troponin assays. These innovations are the foundation of contemporary AMI management strategies that include a diagnosis centred on elevated troponin values associated with corroborative clinical evidence, early use of coronary angiography, and reperfusion therapies. Pivotal in the evolution of these contemporary strategies were the early AMI coronary angiography studies undertaken by De Wood et al. These pioneering studies demonstrated that, in patients presenting with ST elevation myocardial infarction (STEMI), almost 90% had an occluded coronary artery provided that angiography was undertaken within 4 h of chest pain onset. In contrast, in AMI patients who did not present with ST elevation (non-ST elevation myocardial infarction or NSTEMI), only 26% had an occluded coronary artery when angiography was performed within 24 h of symptom onset. In both of these landmark studies, 90% of the acute MI patients had angiographic evidence of obstructive coronary artery disease (CAD), underscoring the importance of the atherosclerotic process in the pathogenesis of AMI. Although DeWood's studies underscore the importance of obstructive CAD in AMI, it is fascinating that 10% had no significant CAD on coronary angiography. This is confirmed in several large AMI registries where 1–13% of AMI's occurred in the absence of obstructive CAD thereby eliciting an important set of questions - what is the mechanism of the myocardial damage in these patients? Do these patients differ from those with obstructive CAD? Should they be managed with the same clinical strategies? Do patients with non-obstructive atherosclerosis differ in pathophysiology and outcomes from those with angiographically normal coronary arteries? These and other issues have prompted clinical researchers to coin the term myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries (MINOCA). This position paper is the first authoritative international expert opinion regarding this in-triguing condition. We seek to define MINOCA, describe its associated clinical features and mechanisms, detail an assessment pathway for its evaluation, as well as stimulate research into its mechanisms and treatment.

### **Acute changes in neuromuscular activity in vertical jump and flexibility after exposure to whole body vibration.**

Annino G, Iellamo F, Palazzo F, Fusco A, Lombardo M, Campoli F, Padua E.

Medicine (Baltimore). 2017 Aug;96(33):e7629.

This study was aimed to investigate the neuromuscular activity after 10 minutes of exposure to a whole body vibration (WBV) session. Twenty male young adults ( $24.8 \pm 2.5$  year olds) were randomized and divided into 2 groups: the vibration group (VG) was exposed to 10 minutes of WBV at 35 Hz; performed 10 minutes of WBV at 35 Hz (displacement=5 mm; magnitude=5 g); the nonvibrated group (NVG) was the placebo group that maintained the same position on the plate but without exposure to any type of vibration. Subjects were evaluated with counter movement jump (CMJ) and muscular flexibility by means of electromyographic (EMG) analysis recorded on the vastus lateralis (VL), vastus medialis (VM), biceps femoris (BF), and gastrocnemius lateralis (LG). The 10 minutes of WBV showed an increase in muscular flexibility, associated with a decrease of EMG activity in BF ( $P < .01$ ) and jump height. The latter was associated with a reduction of EMGs activity in BF ( $P < .01$ ). The control group did not show any significant difference in all considered parameters. These results support the hypothesis that 10 minutes of WBV had effects on flexibility and explosive strength performance influencing neuromuscular behavior through inhibitor effects on antagonist muscles more than the stretch reflex activity on agonist muscles.

### **Effects of long term stimulation of textured insoles on postural control in health elderly.**

Annino G, Palazzo F, Alwardat M, Manzi V, Lebone P, Tancredi V, Sinibaldi Salimei P, Caronti A, Panzarino M, Padua E.

J Sports Med Phys Fitness. 2016 Sep 15. [Epub ahead of print]

The aim of this study was to confirm the effects of long term (chronic) stimulating surface (textured insole) on body balance of elderly people. Twenty-four healthy elderly individuals were randomly distributed in two groups: control and experimental (67.75±6.04 years, 74.55±12.14 kg, 163.7±8.55 cm, 27.75±3.04 kg/m<sup>2</sup>). Over one month, control group (CG) used smooth insoles and the experimental group (ExG) used textured insoles every day. Velocity net (Vnet), anteroposterior (VA/P), mediolateral (VM/L) and sway path of CoP were assessed in different eye conditions before and after the experimental procedure. A mixed between-within subject ANOVA was conducted to assess the impact of soft and textured insoles and two visual conditions (vision vs. no vision) across two time periods ( $\alpha \leq 0.05$ ). The results showed any statistical difference between groups in each parameter assessed in this study. CoP, Vnet and VM/L in the experimental group showed a statistically significant effect of textured insoles only without vision (CoP:  $P=0.002$ ;  $\eta^2=0.35$ ), Vnet  $P=0.02$ ;  $\eta^2=0.24$ , VM/L  $P=0.04$ ;  $\eta^2=0.177$ ) whereas VA/P showed no statistically significant effect in the same group and condition. There was no significant effect in Vnet, VA/P, VM/L and COP in control group that used smooth insole for both eye conditions. The results confirm that postural stability improved in healthy elderly individuals, increasing somatosensory information's from feet plantar mechanoreceptors. Long term stimulation with textured insoles decreased CoP, Vnet and VM/L with eyes closed.

### **Acute effects of static and dynamic stretching on jump performance after 15 min of reconditioning shooting phase in basketball players.**

Annino G, Ruscello B, Lebone P, Palazzo F, Lombardo M, Padua E, Verdecchia L, Tancredi V, Iellamo F.

J Sports Med Phys Fitness. 2017 Apr;57(4):330-337.

The aim of this study was to assess the effects of static (SS) and dynamic stretching (DS) on vertical jump performance executed before, immediately after and at the end of the shooting phase (i.e., 15 min later), as to simulate the actual conditions preceding a match, in professional basketball players. Ten elite basketball players (age: 29±6.73 years, height: 194.67±7.75 cm, weight: 91±8.17 kg and BMI 23.8±7.91 kg.m<sup>-2</sup>) participated to the study. SS and DS protocols were administered during the first training session of the week, 48 hours after the championship match. Stretching protocols consisted in ~7 minutes of general warm-up phase followed by ~8 minutes of SS and DS, performed with a cross-over design., and ~15 minutes of a specific warm-up shooting phase (SP). Vertical jump tests consisted in counter movement jump (CMJ) and CMJ with arm swings (CMJas) and were performed immediately after the end of each stretching phase (preS, postS, postSP). A significant decrease ( $P=0.05$ ;  $\eta^2_{\text{partial}}=0.29$ ) in jumping tests height occurred in CMJas, when performed after the SS (i.e., PostS). However, no significant differences in jumping performances, occurred after the general warm phase and the specific warm-up shooting phase, between the two stretching protocols. These results would indicate that, overall, stretching routines either dynamic or static, performed before a basketball match are transient and affect only marginally leg muscles performance. Stretching routines, particularly the dynamic ones, may be useful to maintain muscle performance before a competition, provided that this latter begins shortly after.

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

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

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

Myocardial bridging (MB) and a long recurrent wraparound left anterior descending artery (wrap-LAD) are coronary anatomic variants that have been recently suggested to be associated with takotsubo syndrome (TS). Until now, coronary artery tortuosity (CAT) has never been investigated in this setting. Our study sought to evaluate the prevalence of the aforementioned anatomic variants in a large population with TS. In this retrospective angiographic study, 109 patients with TS were compared with 109 age- and gender-

matched subjects without coronary artery disease, valve heart disease, or cardiomyopathy. CAT was identified by  $\geq 3$  consecutive curvatures  $\geq 90^\circ$  (criteria 1) or by  $\geq 2$  consecutive curvatures  $\geq 180^\circ$  (criteria 2). Wrap-LAD was defined if any part of the vessel outreached the apex of the left ventricle and MB as the presence of a milking effect or a step-up and step-down phenomenon. An anatomic variant was found in 79 patients with TS (72%) and in 48 controls (44%) ( $p < 0.001$ ). CAT in at least 1 vessel (criteria 1: 49% vs 20%,  $p < 0.001$ ; criteria 2: 38% vs 13%,  $p < 0.001$ ),  $\geq 2$  vessels (criteria 2: 14% vs 3%,  $p = 0.005$ ), and wrap-LAD (41% vs 27%,  $p = 0.02$ ) were significantly more frequent in patients with TS than in controls. The prevalence of MB (9% vs 5%,  $p = 0.18$ ) did not differ between groups. In conclusion, CAT and wrap-LAD have higher prevalence in patients with TS than in matched controls. These findings could support the hypothesis that anatomic variants might act as potential pathogenic substrates in TS.

**Molecular mechanisms underlying metabolic syndrome: the expanding role of the adipocyte.** Armani A, Berry A, Cirulli F, Caprio M.  
FASEB J. 2017 Oct;31(10):4240-4255.

The metabolic syndrome (MetS) is defined as a cluster of 3 or more metabolic and cardiovascular risk factors and represents a serious problem for public health. Altered function of adipose tissue has a significant impact on whole-body metabolism and represents a key driver for the development of these metabolic derangements, collectively referred as to MetS. In particular, increased visceral and ectopic fat deposition play a major role in the development of insulin resistance and MetS. A large body of evidence demonstrates that aging and MetS share several metabolic alterations. Of importance, molecular pathways that regulate lifespan affect key processes of adipose tissue physiology, and transgenic mouse models with adipose-specific alterations in these pathways show derangements of adipose tissue and other metabolic features of MetS, which highlights a causal link between dysfunctional adipose tissue and deleterious effects on whole-body homeostasis. This review analyzes adipose tissue-specific dysfunctions, including metabolic alterations that are related to aging, that have a significant impact on the development of MetS.

**Exercise individualized by TRIMPi method reduces arterial stiffness in early onset type 2 diabetic patients: A randomized controlled trial with aerobic interval training.**  
Bellia A, Iellamo F, De Carli E, Andreadi A, Padua E, Lombardo M, Annino G, Campoli F, Tartaglione S, D'Ottavio S, Della-Morte D, Lauro D.  
Int J Cardiol. 2017 Dec 1; 248:314-319.

Arterial stiffness (AS) and baroreflex sensitivity (BRS) are subclinical markers of vascular diseases in type 2 diabetes (T2D). We evaluated the effects of aerobic interval training (AIT), with loads prescribed according to individual heart rate and lactate profiling obtained during a baseline treadmill test (TRIMPi method), on AS and BRS in patients with early-onset T2D without cardiovascular complications. Twenty-two sedentary overweight T2D patients (aged  $57 \pm 7$  years) were randomized to 12-weeks open-label of supervised AIT by TRIMPi ( $n=8$ ) or unsupervised physical activity as per usual care (SOC) ( $n=11$ ). Following parameters were evaluated (pre- and post-): anthropometrics; six-minute walking test (6MWT); fasting glucose, insulin, HbA1c; Pulse Wave Velocity (PWV) and Augmentation Index (AIxHR75) using radial approach (SphigmoCor System); BRS using Finapres method. Both interventions significantly improved distance walked during 6MWT (AIT  $52 \pm 21$ m; SOC  $39 \pm 24$ m,  $p < 0.001$  for both). PWV significantly improved with AIT ( $p < 0.001$ ) whereas did not vary with SOC ( $p = 0.47$ ). Similar trend was observed for AIxHR75. Resulting percent changes from baseline were significantly better for AIT vs SOC, in both PWV ( $-15.8 \pm 2.1$  vs  $+1.50 \pm 3.4\%$ ,  $p < 0.001$ ) and AIxHR75 ( $-28.9 \pm 3.2\%$  vs  $+12.7 \pm 2.4\%$ ,  $p < 0.001$ ). BRS similarly improved in both groups ( $p < 0.001$  for both), as well as body weight, HbA1c and blood pressure. In sedentary T2D patients, 12-weeks AIT individualized by TRIMPi method improved AS to a greater extent than usual recommendation on physical activity, whilst exerting comparable effects on exercise capacity, glycemic control and body weight. Further researches are needed to ascertain durability of these effects.

**Home-based telerehabilitation in older patients with chronic obstructive pulmonary disease and heart failure: a randomised controlled trial.**

Bernocchi P, Vitacca M, La Rovere MT, Volterrani M, Galli T, Baratti D, Paneroni M, Campolongo G, Sposato B, Scalvini S.  
Age Ageing. 2017 Aug 30:1-7.

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and chronic heart failure (CHF) frequently coexist in older people, reducing patients' quality of life (QoL) and increasing morbidity and mortality. We studied the feasibility and efficacy of an integrated telerehabilitation home-based programme (Telereab-HBP), 4 months long, in patients with combined COPD and CHF. The primary outcome was exercise tolerance evaluated at the 6-min walk test (6MWT). Secondary outcomes were time-to-event (hospitalisation and death), dyspnoea (MRC), physical activity profile (PASE), disability (Barthel) and QoL (MLHFQ and CAT). The study is a randomised, open, controlled, multicenter trial. The Telereab-HBP included remote monitoring of cardiorespiratory parameters, weekly phone-calls by the nurse, and exercise programme, monitored weekly by the physiotherapist. All outcomes were studied again after 2 months of a no-intervention period. In total, 112 patients were randomised, 56 per group. Their mean (SD) age was 70 (9) years, and 92 (82.1%) were male. After 4 months, the IG were able to walk further than at baseline: mean (95% CI)  $\Delta$ 6MWT was 60 (22.2,97.8) m; the CG showed no significant improvement: -15 (-40.3,9.8) m;  $P = 0.0040$  between groups. In IG, the media time to hospitalisation/death was 113.4 days compared with 104.7 in the CG ( $P = 0.0484$ , log-rank test). Other secondary outcomes: MRC ( $P = 0.0500$ ), PASE ( $P = 0.0015$ ), Barthel ( $P = 0.0006$ ), MLHFQ ( $P = 0.0007$ ) and CAT ( $P = 0.0000$ ) were significantly improved in the IG compared with the CG at 4 months. IG maintained the benefits acquired at 6 months for outcomes. This 4-month Telereab-HBP was feasible and effective in older patients with combined COPD and CHF.

Bianchi M, Renzini A, Adamo S, Moresi V.

**Coordinated actions of MicroRNAs with other epigenetic factors regulate skeletal muscle development and adaptation.**

Int J Mol Sci. 2017 Apr 15;18(4).

Epigenetics plays a pivotal role in regulating gene expression in development, in response to cellular stress or in disease states, in virtually all cell types. MicroRNAs (miRNAs) are short, non-coding RNA molecules that mediate RNA silencing and regulate gene expression. miRNAs were discovered in 1993 and have been extensively studied ever since. They can be expressed in a tissue-specific manner and play a crucial role in tissue development and many biological processes. miRNAs are responsible for changes in the cell epigenome because of their ability to modulate gene expression post-transcriptionally. Recently, numerous studies have shown that miRNAs and other epigenetic factors can regulate each other or cooperate in regulating several biological processes. On the one hand, the expression of some miRNAs is silenced by DNA methylation, and histone modifications have been demonstrated to modulate miRNA expression in many cell types or disease states. On the other hand, miRNAs can directly target epigenetic factors, such as DNA methyltransferases or histone deacetylases, thus regulating chromatin structure. Moreover, several studies have reported coordinated actions between miRNAs and other epigenetic mechanisms to reinforce the regulation of gene expression. This paper reviews multiple interactions between miRNAs and epigenetic factors in skeletal muscle development and in response to stimuli or disease.

**Cachexia therapies - the need to take a broader look.**

Coats AJS.

Expert Opin Biol Ther. 2017 Oct 6:1-2.

**Foreword.**

Coats AJ, Rosano G.

Card Fail Rev. 2017 Apr;3(1):5-6.

**Heart rate control in non-paroxysmal atrial fibrillation. A new indication for ivabradine?**

Caminiti G, Cacciapuoti F, Fossati C, Battaglia D, Punzo N, Volterrani M.

Journal of Cardiology and Therapy. 2017;4(3):671-675.

Atrial fibrillation (AF) is the most common cardiac arrhythmia and is associated with poor quality of life and high rate of hospitalization in elderly frail patients. In patients with non-paroxysmal AF, optimizing heart rate is often the main goal but available drugs fail to reach heart rate control in about 30% of cases and this often happens because their doses can not be implemented due to side effects. Ivabradine is a pure heart rate lowering agent acting through the inhibition of If current in the sinus atrial cells, and it is widely used for patients with stable angina and chronic heart failure in sinus rhythm. According to very preliminary data, ivabradine shows heart rate lowering proprieties in non-paroxysmal AF when used alone or in association to other heart rate lowering drugs. Interestingly, studies suggest that this seems to translate into clinical benefits such as improvement of exercise tolerance and ejection fraction. However, new trials are needed to confirm the effectiveness and safety of ivabradine in non-paroxysmal AF.

### **Gender related differences in treatment and response to statins in primary and secondary cardiovascular prevention: the never-ending debate.**

Cangemi R, Romiti GF, Campolongo G, Ruscio E, Sciomer S, Gianfrilli D, Raparelli V.  
Pharmacol Res. 2017 Dec 21;117:148-155.

Statins are a main curbstone in the prevention of cardiovascular disease (CVD), pandemic in 21st century. CVD displays evident sex and gender differences, not only in clinical manifestation and outcomes but also in pharmacological treatment. Whether statin therapy should be differentially prescribed according to sex is a matter of debate. Aside a different pharmacological action, statins are not proven to be less effective in one gender comparing to the other, nor to be less safe. Nevertheless, up to date evidence shows that statins have not been adequately tested in women, especially in primary prevention trials. Since data-lacking, making a treatment decision on women is potentially harmful, although female individuals represent the majority of the population and they have a greater lifetime CVD risk. Therefore, adequately powered randomized control trials with longer follow-up are warranted to establish if a benefit on CV events and mortality prevention exists in both sexes. The aim of the present review is to summarize the sex and gender differences in statin use: it raises concerns and updates perspectives towards an evidence-based and sex-tailored prevention of CVD management.

### **Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Patients with Cardiovascular Diseases.**

Cazzola M, Calzetta L, Rinaldi B, Page C, Rosano G, Rogliani P, Matera MG.  
Drugs. 2017 May;77(7):721-732.

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and cardiovascular diseases often coexist. The mechanistic links between these two diseases are complex, multifactorial and not entirely understood, but they can influence the therapeutic approach. Therapy can be primarily directed towards treating the respiratory symptoms and reducing lung inflammation. Smoking cessation, bronchodilators and inhaled corticosteroids are central to this therapeutic approach. The underlying pathophysiological mechanisms that are responsible for the increased cardiovascular risk in COPD remain unclear, but might include arterial stiffness, inflammation and endothelial dysfunction as a consequence of systemic exposure to chemicals in cigarette smoke or airborne pollution. Therefore, it is plausible that treatment of cardiovascular co-morbidities might reduce morbidity and mortality in patients with COPD and, consequently, therapy of COPD should be shifted to the treatment of cardiovascular diseases and systemic inflammation. In support of this approach, early data suggest that patients with COPD treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II type 1 receptor blockers, statins, anti-platelet drugs or  $\beta$ -adrenoceptor blockers may have improved survival and reduced hospitalisation from acute exacerbations of COPD. In this review, the potential impact of traditional therapies for COPD that are centred on treating the lungs and newer strategies potentially able to affect and mitigate cardiovascular risks in patients with COPD are discussed.

### **Polypill, hypertension and medication adherence: The solution strategy?**

Cimmaruta D, Lombardi N, Borghi C, Rosano G, Rossi F, Mugelli A.  
Int J Cardiol. 2017 Nov 23. Epub 2017 Nov 23.

Hypertension is an important global health challenge and a leading preventable risk factor for premature death and disability worldwide. In current cardiology practice, the main obstacles in the management of patients affected by hypertension are comorbidities and poor adherence to pharmacological treatments. The World Health Organization has recently highlighted increased adherence as a key development need for reducing cardiovascular disease. Principal observational and clinical trial data regarding adherence, reductions in cardiovascular risk and safety of the polypill approach are summarized and reviewed. The polypill approach has been conclusively shown to increase adherence relative to usual care in all cardiovascular patients, furthermore, concomitant risk factor reductions have also been suggested. To date, the use of polypill could represent a solution strategy in patients affected by hypertension, comorbidities and non-adherence even though further studies, especially in the real-world settings, are needed in order to better understand its role in clinical practice.

### **Beta-blockers for heart failure with reduced, mid-range, and preserved ejection fraction: an individual patient-level analysis of double-blind randomized trials.**

Cleland JGF, Bunting KV, Flather MD, Altman DG, Holmes J, Coats AJS, Manzano L, McMurray JJV, Ruschitzka F, van Veldhuisen DJ, von Lueder TG, Böhm M, Andersson B, Kjekshus J, Packer M, Rigby AS, Rosano G, Wedel H, Hjalmarson Å, Wikstrand J, Kotecha D.  
Eur Heart J. 2017 Oct 10. [Epub ahead of print]

Recent guidelines recommend that patients with heart failure and left ventricular ejection fraction (LVEF) 40-49% should be managed similar to LVEF  $\geq$  50%. We investigated the effect of beta-blockers according to LVEF in double-blind, randomized, placebo-controlled trials. Individual patient data meta-analysis of 11 trials, stratified by baseline LVEF and heart rhythm (Clinicaltrials.gov: [NCT00832444](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00832444); PROSPERO: CRD42014010012). Primary outcomes were all-cause mortality and cardiovascular death over 1.3 years median follow-up, with an intention-to-treat analysis. For 14 262 patients in sinus rhythm, median LVEF was 27% (interquartile range 21-33%), including 575 patients with LVEF 40-49% and 244  $\geq$  50%. Beta-blockers reduced all-cause and cardiovascular mortality compared to placebo in sinus rhythm, an effect that was consistent across LVEF strata, except for those in the small subgroup with LVEF  $\geq$  50%. For LVEF 40-49%, death occurred in 21/292 [7.2%] randomized to beta-blockers compared to 35/283 [12.4%] with placebo; adjusted hazard ratio (HR) 0.59 [95% confidence interval (CI) 0.34-1.03]. Cardiovascular death occurred in 13/292 [4.5%] with beta-blockers and 26/283 [9.2%] with placebo; adjusted HR 0.48 (95% CI 0.24-0.97). Over a median of 1.0 years following randomization (n=4601), LVEF increased with beta-blockers in all groups in sinus rhythm except LVEF  $\geq$  50%. For patients in atrial fibrillation at baseline (n=3050), beta-blockers increased LVEF when  $<$  50% at baseline, but did not improve prognosis. Beta-blockers improve LVEF and prognosis for patients with heart failure in sinus rhythm with a reduced LVEF. The data are most robust for LVEF  $<$  40%, but similar benefit was observed in the subgroup of patients with LVEF 40-49%.

### **New medicinal products for chronic heart failure: advances in clinical trial design and efficacy assessment.**

Cowie MR, Filippatos GS, Alonso Garcia MLA, Anker SD, Baczynska A, Bloomfield DM, Borentain M, Bruins Slot K, Cronin M, Doevendans PA, El-Gazayerly A, Gimpelewicz C, Honarpour N, Janmohamed S, Janssen H, Kim AM, Lautsch D, Laws I, Lefkowitz M, Lopez-Sendon J, Lyon AR, Malik FI, McMurray JJV, Metra M, Figueroa Perez S, Pfeffer MA, Pocock SJ, Ponikowski P, Prasad K, Richard-Lordereau I, Roessig L, **Rosano GMC**, Sherman W, Stough WG, Swedberg K, Tyl B, Zannad F, Boulton C, De Graeff P.  
Eur J Heart Fail. 2017 Jun;19(6):718-727.

Despite the availability of a number of different classes of therapeutic agents with proven efficacy in heart failure, the clinical course of heart failure patients is characterized by a reduction in life expectancy, a progressive decline in health-related quality of life and functional status, as well as a high risk of hospitalization. New approaches are needed to address the unmet medical needs of this patient population. The European Medicines Agency (EMA) is undertaking a revision of its Guideline on Clinical Investigation of Medicinal Products for the Treatment of Chronic Heart Failure. The draft version of the Guideline was released for public consultation in January 2016. The Cardiovascular Round Table of the European Society of Cardiology (ESC), in partnership with the Heart Failure Association of the ESC, convened a dedicated

two-day workshop to discuss three main topic areas of major interest in the field and addressed in this draft EMA guideline: (i) assessment of efficacy (i.e. endpoint selection and statistical analysis); (ii) clinical trial design (i.e. issues pertaining to patient population, optimal medical therapy, run-in period); and (iii) research approaches for testing novel therapeutic principles (i.e. cell therapy). This paper summarizes the key outputs from the workshop, reviews areas of expert consensus, and identifies gaps that require further research or discussion. Collaboration between regulators, industry, clinical trialists, cardiologists, health technology assessment bodies, payers, and patient organizations is critical to address the ongoing challenge of heart failure and to ensure the development and market access of new therapeutics in a scientifically robust, practical and safe way.

### **Circadian blood pressure patterns and blood pressure control in patients with chronic kidney disease.**

Di Daniele N, Fegatelli DA, Rovella V, Castagnola V, Gabriele M, Scuteri A. *Atherosclerosis*. 2017 Oct 26;267:139-145.

Hypertension is a major risk factor for chronic kidney disease (CKD), and CKD progression is associated with suboptimal blood pressure (BP) control. Here we evaluate the impact of CKD on the attainment of BP control and the circadian BP profile in older subjects. In this observational study, we studied 547 patients referred to the hypertension clinic, of whom 224 (40.9%) had CKD. Blood pressure (BP) control and circadian BP patterns were evaluated by 24-hour ambulatory BP monitoring. Circadian BP variability was measured as the within-subject SD of BP, the percentage of measurements exceeding normal values, hypotension, and dipping status. The attainment of adequate BP control was similar in subjects with or without CKD (around 31%). Logistic regression analysis indicated that CKD was not a determinant of adequate BP control (OR 1.004; 95% CI 0.989-1.019;  $p = 0.58$ ). Patients with CKD presented as twice as higher prevalence of reverse dipper (night-time peak) for systolic BP and episodes of hypotension during daytime, independently of BP control. Knowledge of the circadian pattern of BP in hypertensive subjects with CKD could inform better than attainment of BP target about risky condition for CKD progression and cognitive decline and allow a more personalized antihypertensive treatment.

### **Heart and brain interaction in patients with heart failure: overview and proposal for a taxonomy. A position paper from the Study Group on heart and Brain Interaction of the Heart Failure Association.**

Doehner W, Ural D, Haeusler KG, Čelutkienė J, Bestetti R, Cavusoglu Y, Peña-Duque MA, Glavas D, Iacoviello M, Laufs U, Alvear RM, Mbakwem A, Piepoli MF, Rosen SD, Tsvigoulis G, Vitale C, Yilmaz MB, Anker SD, Filippatos G, Seferovic P, Coats AJS, Ruschitzka F. *Eur J Heart Fail*. 2017 Dec 27. [Epub ahead of print]

Heart failure (HF) is a complex clinical syndrome with multiple interactions between the failing myocardium and cerebral (dys-)functions. Bi-directional feedback interactions between the heart and the brain are inherent in the pathophysiology of HF: (i) the impaired cardiac function affects cerebral structure and functional capacity, and (ii) neuronal signals impact on the cardiovascular continuum. These interactions contribute to the symptomatic presentation of HF patients and affect many co-morbidities of HF. Moreover, neuro-cardiac feedback signals significantly promote aggravation and further progression of HF and are causal in the poor prognosis of HF. The diversity and complexity of heart and brain interactions make it difficult to develop a comprehensive overview. In this paper a systematic approach is proposed to develop a comprehensive atlas of related conditions, signals and disease mechanisms of the interactions between the heart and the brain in HF. The proposed taxonomy is based on pathophysiological principles. Impaired perfusion of the brain may represent one major category, with acute (cardio-embolic) or chronic (haemodynamic failure) low perfusion being sub-categories with mostly different consequences (i.e. ischaemic stroke or cognitive impairment, respectively). Further categories include impairment of higher cortical function (mood, cognition), of brain stem function (sympathetic over-activation, neuro-cardiac reflexes). Treatment-related interactions could be categorized as medical, interventional and device-related interactions. Also interactions due to specific diseases are categorized. A methodical approach to categorize the interdependency of heart and brain may help to integrate individual research areas into an overall picture.

### **Inhibition of vascular c-Jun N-Terminal Kinase 2 improves obesity-induced endothelial dysfunction after Roux-en-Y Gastric bypass.**

Doytcheva P, Bächler T, Tarasco E, Marzolla V, Engeli M, Pellegrini G, Stivala S, Rohrer L, Tona F, Camici GG, Vanhoutte PM, Matter CM, Lutz TA, Lüscher TF, Osto E.  
J Am Heart Assoc. 2017 Nov 14;6(11).

Roux-en-Ygastricbypass (RYGB) reduces obesity-associated comorbidities and cardiovascular mortality. RYGB improves endothelial dysfunction, reducing c-JunN-terminalkinase (JNK) vascular phosphorylation. JNK activation links obesity with insulin resistance and endothelial dysfunction. Herein, we examined whether JNK1 or JNK2 mediates obesity-induced endothelial dysfunction and if pharmacological JNK inhibition can mimic RYGB vascular benefits. After 7 weeks of a high-fat high-cholesterol diet, obese rats underwent RYGB or sham surgery; sham-operated ad libitum-fed rats received, for 8 days, either the control peptide D-TAT or the JNK peptide inhibitor D-JNKi-1 (20 mg/kg per day subcutaneous). JNK peptide inhibitor D-JNKi-1 treatment improved endothelial vasorelaxation in response to insulin and glucagon-like peptide-1, as observed after RYGB. Obesity increased aortic phosphorylation of JNK2, but not of JNK1. RYGB and JNK peptide inhibitor D-JNKi-1 treatment blunted aortic JNK2 phosphorylation via activation of glucagon-like peptide-1-mediated signaling. The inhibitory phosphorylation of insulin receptor substrate-1 was reduced, whereas the protein kinase B/endothelial NO synthase pathway was increased and oxidative stress was decreased, resulting in improved vascular NO bioavailability. Decreased aortic JNK2 phosphorylation after RYGB rapidly improves obesity-induced endothelial dysfunction. Pharmacological JNK inhibition mimics the endothelial protective effects of RYGB. These findings highlight the therapeutic potential of novel strategies targeting vascular JNK2 against the severe cardiovascular disease associated with obesity.

### **2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease.**

Falk V, Baumgartner H, Bax JJ, De Bonis M, Hamm C, Holm PJ, Iung B, Lancellotti P, Lansac E, Muñoz DR, Rosenhek R, Sjögren J, Tornos Mas P, Vahanian A, Walther T, Wendler O, Windecker S, Zamorano JL; ESC Scientific Document Group.  
Eur J Cardiothorac Surg. 2017 Oct 1;52(4):616-664.

### **Expert consensus document: A ‘diamond’ approach to personalized treatment of angina.**

Ferrari R, Camici PG, Crea F, Danchin N, Fox K, Maggioni AP, Manolis AJ, Marzilli M, Rosano GMC, Lopez-Sendon JL.  
Nat Rev Cardiol. 2017 Sep 7. [Epub ahead of print] Review.

In clinical guidelines, drugs for symptomatic angina are classified as being first choice ( $\beta$ -blockers, calcium-channel blockers, short-acting nitrates) or second choice (ivabradine, nicorandil, ranolazine, trimetazidine), with the recommendation to reserve second-choice medications for patients who have contraindications to first-choice agents, do not tolerate them, or remain symptomatic. No direct comparisons between first-choice and second-choice treatments have demonstrated the superiority of one group of drugs over the other. Meta-analyses show that all antianginal drugs have similar efficacy in reducing symptoms, but provide no evidence for improvement in survival. The newer, second-choice drugs have more evidence-based clinical data that are more contemporary than is available for traditional first-choice drugs. Considering some drugs, but not others, to be first choice is, therefore, difficult. Moreover, double or triple therapy is often needed to control angina. Patients with angina can have several comorbidities, and symptoms can result from various underlying pathophysiologies. Some agents, in addition to having antianginal effects, have properties that could be useful depending on the comorbidities present and the mechanisms of angina, but the guidelines do not provide recommendations on the optimal combinations of drugs. In this Consensus Statement, we propose an individualized approach to angina treatment, which takes into consideration the patient, their comorbidities, and the underlying mechanism of disease.

### **Independent academic Data Monitoring Committees for clinical trials in cardiovascular and cardiometabolic diseases.**



Filippatos GS, de Graeff P, Bax JJ, Borg JJ, Cleland JG, Dargie HJ, Flather M, Ford I, Friede T, Greenberg B, Henon-Goburdhun C, Holcomb R, Horst B, Lekakis J, Mueller-Velten G, Papavassiliou AG, Prasad K, Rosano GM, Severin T, Sherman W, Stough WG, Swedberg K, Tavazzi L, Tousoulis D, Vardas P, Ruschitzka F, Anker SD.  
Eur J Heart Fail. 2017 Apr;19(4):449-456. Epub 2017 Mar 8.

Data Monitoring Committees (DMCs) play a crucial role in the conducting of clinical trials to ensure the safety of study participants and to maintain a trial's scientific integrity. Generally accepted standards exist for DMC composition and operational conduct. However, some relevant issues are not specifically addressed in current guidance documents, resulting in uncertainties regarding optimal approaches for communication between the DMC, steering committee, and sponsors, release of information, and liability protection for DMC members. The Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC), in collaboration with the Clinical Trials Unit of the European Heart Agency (EHA) of the ESC convened a meeting of international experts in DMCs for cardiovascular and cardiometabolic clinical trials to identify specific issues and develop steps to resolve challenges faced by DMCs. The main recommendations from the meeting relate to methodological consistency, independence, managing conflicts of interest, liability protection, and training of future DMC members. This paper summarizes the key outcomes from this expert meeting, and describes the core set of activities that might be further developed and ultimately implemented by the ESC, HFA, and other interested ESC constituent bodies. The HFA will continue to work with stakeholders in cardiovascular and cardiometabolic clinical research to promote these goals.

Fossati C, Volterrani M, Punzo N, Campolongo G, Cascelli G, Caminiti G.

**Dose-dependent effects of ivabradine on heart rate during maximal efforts in a woman with permanent atrial fibrillation.**

Int J Cardiol. 2017 Nov 15;247:37.

In preliminary studies ivabradine slowed atrioventricular node conduction in experimental models and decreased 24/h heart rate (HR) in some patients with PAF. We read with very interest the first pilot study of Wongcharoen et al. showing a significant decrease of HR during permanent atrial fibrillation (PAF) with ivabradine compared to placebo. In this study authors evaluated HR through 24/h ECG recorders in subjects performing usual daily living activities. However the effects of ivabradine on HR trend during maximal efforts in PAF have not been investigated yet. We present a case of a 74 years old woman with PAF, taking bisoprolol 5 mg/day, with resting HR of 118 bpm. A stepwise ergometric test was prematurely stopped because of exhaustion, with a peak HR of 184 bpm. In a second test, performed 2 weeks after starting ivabradine 5 mg bid, time of exercise increased; resting and peak HR decreased to 89 bpm and 136 bpm respectively. Ivabradine dose was increased to 7.5 mg/bid and a third test was performed after 2 weeks: we observed further improvements of time of exercise (from 396 s to 502 s), resting and peak HR. Because no other drugs were added and no other causes of dyspnea were identified, we concluded that exercise intolerance and dyspnea were both only due to the uncontrolled HR. We suggest a dose/dependent effect of ivabradine on HR trend and exercise tolerance during maximal efforts in PAF. We think this case report deserves to be validated by further investigations on this topic.

**Human cells involved in atherosclerosis have a sex.**

Franconi F, Rosano G, Basili S, Montella A, Campesi I.

Int J Cardiol. 2017 Feb 1;228:983-1001.

The influence of sex has been largely described in cardiovascular diseases. Atherosclerosis is a complex process that involves many cell types such as vessel cells, immune cells and endothelial progenitor cells; however, many, if not all, studies do not report the sex of the cells. This review focuses on sex differences in human cells involved in the atherosclerotic process, emphasizing the role of sex hormones. Furthermore, we report sex differences and issues related to the processes that determine the fate of the cells such as apoptotic and autophagic mechanisms. The analysis of the data reveals that there are still many gaps in our knowledge regarding sex influences in atherosclerosis, largely for the cell types that have not been well studied, stressing the urgent need for a clear definition of experimental conditions and the inclusion of both sexes in preclinical studies.

**Modulating the metabolism by trimetazidine enhances myoblast differentiation and promotes myogenesis in cachectic tumor-bearing C26 mice.**

Gatta L, Vitiello L, Gorini S, Chiandotto S, Costelli P, Giammarioli AM, Malorni W, Rosano R and Ferraro E.

Oncotarget. 2017 Dec 8;8(69):113938-113956.

Trimetazidine (TMZ) is a metabolic reprogramming agent able to partially inhibit mitochondrial free fatty acid  $\beta$ -oxidation while enhancing glucose oxidation. Here we have found that the metabolic shift driven by TMZ enhances the myogenic potential of skeletal muscle progenitor cells leading to MyoD, Myogenin, Desmin and the slow isoforms of troponin C and I over-expression. Moreover, similarly to exercise, TMZ stimulates the phosphorylation of the AMP-activated protein kinase (AMPK) and up-regulates the peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1- $\alpha$  (PGC1 $\alpha$ ), both of which are known to enhance the mitochondrial biogenesis necessary for myoblast differentiation. TMZ also induces autophagy which is required during myoblast differentiation and promotes myoblast alignment which allows cell fusion and myofiber formation. Finally, we found that intraperitoneally administered TMZ (5mg/kg) is able to stimulate myogenesis in vivo both in a mice model of cancer cachexia (C26 mice) and upon cardiotoxin damage. Collectively, our work demonstrates that TMZ enhances myoblast differentiation and promotes myogenesis, which might contribute recovering stem cell blunted regenerative capacity and counteracting muscle wasting, thanks to the formation of new myofibers; TMZ is already in use in humans as an anti-anginal drug and its repositioning might impact significantly on aging and regeneration-impaired disorders, including cancer cachexia, as well as have implications in regenerative medicine.

**Angiotensin receptor-neprilysin inhibitor (ARNi): Clinical studies on a new class of drugs.**

Gori M, Volterrani M, Piepoli M, Senni M.

Int J Cardiol. 2017 Jan 1;226:136-140.

Sacubitril+valsartan (Entresto, Novartis, still commonly referred to as LCZ696) is a combination drug described as a new class of dual-acting angiotensin receptor-neprilysin inhibitor (ARNi). This combination drug has been successfully studied in patients with heart failure with both preserved (HFpEF) and reduced ejection fraction (HFrEF). In this review, the evidences in patients with HFpEF and HFrEF are summarized, including the results of more recent studies.

**Letter by Iellamo and Volterrani Regarding Article, “High-Intensity Interval Training in Patients With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction”.**

Iellamo F, Volterrani M.

Circulation. 2017 Aug 8;136(6):605-606.

Iellamo F, Werdan K, Narkiewicz K, Rosano G, Volterrani M.

**Practical applications for single pill combinations in the cardiovascular continuum.**

Card Fail Rev. 2017 Apr;3(1):40-45.

Despite the availability of new drugs and devices, the treatment of cardiovascular disease remains suboptimal. Single-pill combination therapy offers a number of potential advantages. It can combine different classes of drugs to increase efficacy while mitigating the risks of treatment-related adverse events, reduce pill burden, lower medical cost, and improve patient adherence. Furthermore, in hypertension, single pill combinations include standard to lower doses of each drug than would be necessary to achieve goals with monotherapy, which may explain their better tolerability compared with higher dose monotherapy. Combination therapy is now established in the treatment of hypertension. In ischaemic heart disease, the concept of a preventative polypill has been studied, but its benefits have not been established conclusively. However, the combination of ivabradine and beta-blockers has proven efficacy in patients with stable angina pectoris. This combination has also demonstrated benefits in patients with chronic heart failure.

**Impact of adrenal steroids on regulation of adipose tissue.**

Infante M, Armani A, Mammi C, Fabbri A, Caprio M.

Compr Physiol. 2017 Sep 12;7(4):1425-1447.

Corticosteroids are secreted by the adrenal glands and control the functions of adipose tissue via the activation of mineralocorticoid receptor (MR) and glucocorticoid receptor (GR). In turn, adipocytes release a large variety of adipokines into the bloodstream, regulating the function of several organs and tissues, including the adrenal glands, hereby controlling corticosteroid production. In adipose tissue, the activation of the MR by glucocorticoids (GC) and aldosterone affects important processes such as adipocyte differentiation, oxidative stress, autophagic flux, adipokine expression as well as local production of GC through upregulation of the enzyme 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 $\beta$ -HSD1). Notably, the proinflammatory responses induced by the MR are counteracted by activation of the GR, whose activity inhibits the expression of inflammatory adipokines. Both GR and MR are deeply involved in adipogenesis and adipose expansion; hence pharmacological blockade of these two receptors has proven effective against adipose tissue dysfunction in experimental models of obesity and metabolic syndrome (MetS), suggesting a potential use for MR and GR antagonists in these clinical settings. Importantly, obesity and Cushing's syndrome (CS) share metabolic similarities and are characterized by high levels of circulating corticosteroids, which in turn are able to deeply affect adipose tissue. In addition, pharmacological approaches aimed at reducing aldosterone and GC levels, by means of the inhibition of CYP11B2 (aldosterone synthase) or 11 $\beta$ -HSD1, represent alternative strategies to counter the detrimental effects of excessive levels of corticosteroids, which are often observed in obesity and, more general, in MetS.

### **Observational versus randomized: sliding toward nonevidence-based medicine.**

Kotecha D, Altman DG, Rosano G, Flather MD.  
JACC Heart Fail. 2017 May;5(5):395-396.

### **Heart rate and rhythm and the benefit of beta-blockers in patients with heart failure.**

Kotecha D, Flather MD, Altman DG, Holmes J, Rosano G, Wikstrand J, Packer M, Coats AJS, Manzano L, Böhm M, van Veldhuisen DJ, Andersson B, Wedel H, von Lueder TG, Rigby AS, Hjalmarson Å, Kjekshus J, Cleland JGF; Beta-Blockers in Heart Failure Collaborative Group.  
J Am Coll Cardiol. 2017 Jun 20;69(24):2885-2896.

The relationship between mortality and heart rate remains unclear for patients with heart failure with reduced ejection fraction in either sinus rhythm or atrial fibrillation (AF).

This analysis explored the prognostic importance of heart rate in patients with heart failure with reduced ejection fraction in randomized controlled trials comparing beta-blockers and placebo.

The Beta-Blockers in Heart Failure Collaborative Group performed a meta-analysis of harmonized individual patient data from 11 double-blind randomized controlled trials. The primary outcome was all-cause mortality, analyzed with Cox proportional hazard ratios (HR) modeling heart rate measured at baseline and approximately 6 months post-randomization.

A higher heart rate at baseline was associated with greater all-cause mortality for patients in sinus rhythm (n = 14,166; adjusted HR: 1.11 per 10 beats/min; 95% confidence interval [CI]: 1.07 to 1.15; p < 0.0001) but not in AF (n = 3,034; HR: 1.03 per 10 beats/min; 95% CI: 0.97 to 1.08; p = 0.38). Beta-blockers reduced ventricular rate by 12 beats/min in both sinus rhythm and AF. Mortality was lower for patients in sinus rhythm randomized to beta-blockers (HR: 0.73 vs. placebo; 95% CI: 0.67 to 0.79; p < 0.001), regardless of baseline heart rate (interaction p = 0.35). Beta-blockers had no effect on mortality in patients with AF (HR: 0.96, 95% CI: 0.81 to 1.12; p = 0.58) at any heart rate (interaction p = 0.48). A lower achieved resting heart rate, irrespective of treatment, was associated with better prognosis only for patients in sinus rhythm (HR: 1.16 per 10 beats/min increase, 95% CI: 1.11 to 1.22; p < 0.0001).

Regardless of pre-treatment heart rate, beta-blockers reduce mortality in patients with heart failure with reduced ejection fraction in sinus rhythm. Achieving a lower heart rate is associated with better prognosis, but only for those in sinus rhythm.

### **Ideal reduction of calories for greatest reduction of body fat and maintenance of lean body mass.**

Lombardo M, Magarotto R, Marinelli F, Padua E, Caprio M, Annino G, Bellia A, Iellamo F.  
J Aging Res Clin Practice. 2017(6):62-67.

This retrospective clinical study was intended to assess the ideal number of calories in the Mediterranean-style diet (MD) required for maximum weight reduction through a greater decrease in fat mass (FM) and maintenance of fat-free mass (FFM). We analysed the data of 90 non-smoking subjects (56 females, age =  $32.5 \pm 9.6$  years, BMI =  $28.3 \pm 5.4$  kg/m<sup>2</sup>, data as mean  $\pm$  SD). The participants underwent two-month individualised MDs with similar macronutrient composition (55% carbohydrate, 30% fat, 15% protein and fibre > 30 g) but different amounts of energy, which varied daily from 374 kcal to 1305 kcal compared with the total energy expenditure measured by metabolic Holter. The sample was divided into nine groups of 10 subjects in order to establish the amount of energy restriction that was most effective in terms of achieving fat loss and maintaining muscle mass. All subject groups had significant improvements in body composition parameters (weight loss =  $2.7 \pm 1.8$  kg, FM loss =  $2.2 \pm 1.2$  kg and FFM loss =  $0.5 \pm 1.3$  kg). Differences between the nine groups were not significant but higher FM loss was observed in groups one, three, six and eight. Groups one and four had the highest FFM increase and groups two, three and eight had the highest FFM loss. These data suggest that increasing the amount of energy restriction in a low-calorie MD might be useless in terms of obtaining a higher FM loss but a lower restriction could be more effective for maintaining FFM.

### **Treatment of patients in the vulnerable phase (at discharge or early after discharge).**

Lopatin Y, Rosano GMC.

International Cardiovascular Forum Journal. 2017;10:37-40.

The clinical course of heart failure includes a period in which the patient is at increased risk of death or rehospitalisation for HF. This period is termed the “vulnerable phase” and occurs during the peri-acute HF phase, due to microenvironmental changes in the cardiovascular system. Typically, the vulnerability phase starts from the onset of an acute HF event leading to admission, continues through a peri-discharge period and lasts up to 6 months after discharge. These poor post-discharge outcomes also represent a significant socioeconomic burden. This article reviews treatments that are beneficial in this important phase.

### **Lymphocyte opioid receptors as innovative biomarkers of osteoarthritic pain, for the assessment and risk management of opioid tailored therapy, before hip surgery, to prevent chronic pain and opioid tolerance/addiction development: OpMarkArt (Opioids-Markers-Arthroprosthesis) study protocol for a randomized controlled trial.**

Malafoglia V, Celi M, Muscoli C, Ilari S, Lauro F, Giancotti LA, Morabito C, Feola M, Tarantino U, Raffaelli W.

Trials. 2017 Dec 19;18(1):605.

The incidence of post-surgical chronic pain ranges between 20% and 40% in Europe. Osteoarthritis pain after prosthesis implantation is one of the most severe secondary syndromes, depending not only on surgery but also on organic changes before and after joints replacement. No data are available about risk factors. An excessive inflammatory response plays a central role but a best therapy is not defined yet. It is not clear whether opioid administration could influence post-surgical pain and lead to tolerance or addiction. Interestingly, the immune system, together with the nervous and peptidergic ones, is involved in hypersensitivity. The connection across the three biological systems lies in the presence of opioid receptors on immune cells surface. Here, we show a method to analyze whether opioids could modulate lymphocytes, by proposing opioid receptors as biological markers to prevent chronic pain and opioid tolerance or addiction after hip surgery. After institutional independent ethics committee approval, 60 patients, in pain and undergoing hip surgery, will be enrolled in a single-blind, randomized, phase IV, pilot study. Pain treatment will be selected inside a class of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) or paracetamol or a class of opioids, into three medication arms: 25 mg tapentadol twice daily; 75 mg tapentadol twice daily; NSAIDs or paracetamol in accordance with surgeon's custom. For each group, we will collect blood samples before, during and after surgery, to apply molecular analysis. We will perform lymphocyte opioid receptors genes and proteins expression and functional analysis. Data will be statistically analyzed. This project has the potential to obtain a personalized diagnostic kit, by considering lymphocyte opioid receptors as biological markers. Starting from a simple blood sample, it will be possible to decide the best therapy for a single patient. Using a noninvasive approach, we expect to fix a daily standard dose and timing, before and after surgery, to bypass hip chronic pain and the insurgence of tolerance or addiction. The analysis of opioid receptors sensitivity will help to identify the best drug administration in each specific case (tailored therapy).

### **Comparison of low-dose statin versus low-dose statin + srmlolipid plus in high-Intensity statin-intolerant patients with a previous coronary event and percutaneous coronary intervention (ADHERENCE Trial).**

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

Am J Cardiol. 2017 Sep 15;120(6):893-897.

Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) reduction is associated with a significant decrease in mortality, and statins represent the most effective drugs to achieve this. However, side effects of statins are very common and may lead to treatment discontinuation. Nutraceuticals are a combination of natural components that have shown efficacy in lowering LDL-C concentration when used alone or in association with other agents in patients who are intolerant to high-dose statins. Our aim was to compare the efficacy and tolerability of low-dose statin (LDS) therapy versus combined therapy of LDS plus a nutraceutical combination containing red yeast rice, policosanol, berberine, folic acid, coenzyme Q10 and astaxanthin (Armolipid Plus) in high-risk patients. We performed a randomized (1:1), prospective, parallel group, single-blind trial in which participants had coronary artery disease (n=100), had undergone percutaneous coronary intervention in the preceding 12 months, were high-dose statin intolerant, and did not achieve  $\geq 50\%$  reduction in LDL-C with LDS treatment alone. After 3 months, patients in the LDS + Armolipid Plus (n=50) group presented with a significantly greater reduction of LDL-C and total cholesterol ( $p < 0.0001$ ), and 70% of patients in this group achieved the therapeutic target (LDL-C  $< 70$  mg/dl), whereas patients in the LDS group did not. Six patients (3 from each group) dropped out due to myalgia. In conclusion, in patients with coronary artery disease and high-dose statin intolerance, the combination of LDS and nutraceuticals represents a valuable therapeutic option.

### **Essential role of ICAM-1 in aldosterone-induced atherosclerosis.**

Marzolla V, Armani A, Mammi C, Moss ME, Pagliarini V, Pontecorvo L, Antelmi A, Fabbri A, Rosano G, Jaffe IZ, Caprio M.

Int J Cardiol. 2017 Apr 1;232:233-242.

Elevated aldosterone is associated with increased risk of atherosclerosis complications, whereas treatment with mineralocorticoid receptor (MR) antagonists decreases the rate of cardiovascular events. Here we test the hypothesis that aldosterone promotes early atherosclerosis by modulating intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and investigate the molecular mechanisms by which aldosterone regulates ICAM-1 expression.

Apolipoprotein-E (ApoE)-/- mice fed an atherogenic diet and treated with aldosterone for 4 weeks showed increased vascular expression of ICAM-1, paralleled by enhanced atherosclerotic plaque size in the aortic root. Moreover, aldosterone treatment resulted in increased plaque lipid and inflammatory cell content, consistent with an unstable plaque phenotype. ApoE/ICAM-1 double knockout (ApoE-/-/ICAM-1-/-) littermates were protected from the aldosterone-induced increase in plaque size, lipid content and macrophage infiltration. Since aldosterone is known to regulate ICAM-1 transcription via MR in human endothelial cells, we explored MR regulation of the ICAM-1 promoter. Luciferase reporter assays performed in HUVECs using deletion constructs of the human ICAM-1 gene promoter showed that a region containing a predicted MR-responsive element (MRE) is required for MR-dependent transcriptional regulation of ICAM-1.

Pro-atherogenic effects of aldosterone are mediated by increased ICAM-1 expression, through transcriptional regulation by endothelial MR. These data enhance our understanding of the molecular mechanism by which MR activation promotes atherosclerosis complications.

### **New and old roles of the peripheral and brain 161razil-angiotensin-aldosterone system (RAAS): focus on cardiovascular and neurological diseases.**

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

Int J Cardiol. 2017 Jan 15;227:734-742.

It is commonly accepted that the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) is a cardiovascular circulating hormonal system that plays also an important role in the modulation of several patterns in the brain. The pathway of the RAAS can be divided into two classes: the traditional pathway of RAAS, also named classic RAAS, and the non-classic RAAS. Both pathways play a role in both cardiovascular and neurological diseases through a peripheral or central control. In this regard, renewed interest is growing in the last years for the consideration that the brain RAAS could represent a new important therapeutic target to regulate not only the blood pressure via central nervous control, but also neurological diseases. However, the development of compounds able to cross the blood-brain barrier and to act on the brain RAAS is challenging, especially if the metabolic stability and the half-life are taken into consideration. To date, two drug classes (aminopeptidase type A inhibitors and angiotensin IV analogues) acting on the brain RAAS are in development in pre-clinical or clinical stages. In this article, we will present an overview of the biological functions played by peripheral and brain classic and non-classic pathways of the RAAS in several clinical conditions, focusing on the brain RAAS and on the new pharmacological targets of the RAAS.

### **Clinical benefits of treating angina directly at the cardiac cell level with trimetazidine.**

Milinković I, Coats AJ, Rosano G, Lopatin Y, Seferović PM.  
Heart Metab. 2017;72:25-31.

Patients presenting with symptoms of angina and/or signs of ischemia may have no visible coronary stenosis on coronary angiography. Myocardial ischemia as a multifactorial process implies that antianginal management should not solely focus on large coronary vessels, but also on the microvessels and cardiac cells. Trimetazidine is an effective and well-tolerated anti-ischemic agent that provides symptom relief and functional improvement, and that offers cytoprotection during ischemia. It has antiischemic and antianginal effects directly on cardiac cells. The drug is suitable for use as a monotherapy and also as an adjunctive therapy when symptoms are inadequately controlled by nitrates,  $\beta$ -blockers, or calcium antagonists. Trimetazidine does not affect hemodynamic variables; it may improve left ventricular function in patients with chronic coronary artery disease or ischemic cardiomyopathy and in ischemia during percutaneous coronary intervention or coronary artery bypass grafting. According to the 2013 European Society of Cardiology (ESC) guidelines for the management of stable coronary artery disease, trimetazidine is indicated as a second-line treatment for angina/ischemia relief. In the 2016 ESC guidelines on diagnosis and treatment of heart failure, trimetazidine is considered for the treatment of stable angina pectoris with symptomatic heart failure with reduced ejection fraction.

### **The mitochondrial metabolic reprogramming agent trimetazidine as an 'exercise mimetic' in cachectic C26-bearing mice.**

Molinari F, Pin F, Gorini S, Chiandotto S, Pontecorvo L, Penna F, Rizzuto E, Pisu S, Musarò A, Costelli P, Rosano G, Ferraro E.  
J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2017 Dec;8(6):954-973.

Cancer cachexia is characterized by muscle depletion and exercise intolerance caused by an imbalance between protein synthesis and degradation and by impaired myogenesis. Myofibre metabolic efficiency is crucial so as to assure optimal muscle function. Some drugs are able to reprogram cell metabolism and, in some cases, to enhance metabolic efficiency. Based on these premises, we chose to investigate the ability of the metabolic modulator trimetazidine (TMZ) to counteract skeletal muscle dysfunctions and wasting occurring in cancer cachexia. For this purpose, we used mice bearing the C26 colon carcinoma as a model of cancer cachexia. Mice received 5 mg/kg TMZ (i.p.) once a day for 12 consecutive days. A forelimb grip strength test was performed and tibialis anterior, and gastrocnemius muscles were excised for analysis. Ex vivo measurement of skeletal muscle contractile properties was also performed. Our data showed that TMZ induces some effects typically achieved through exercise, among which is grip strength increase, an enhanced fast-to slow myofibre phenotype shift, reduced glycaemia, PGC1 $\alpha$  up-regulation, oxidative metabolism, and mitochondrial biogenesis. TMZ also partially restores the myofibre cross-sectional area in C26-bearing mice, while modulation of autophagy and apoptosis were excluded as mediators of TMZ effects. In conclusion, our data show that TMZ acts like an 'exercise mimetic' and is able to enhance some mechanisms of adaptation to stress in cancer cachexia. This makes the modulation of the metabolism, and in particular TMZ, a suitable candidate for a therapeutic rehabilitative protocol design, particularly considering that TMZ has already been approved for clinical use.

### **Aspirin wears smart.**

Mollace V, Rosano G, Malara N, Di Fabrizio E, Vitale C, Coluccio M, Maiuolo J, Ali Wasti A, Muscoli C, Gliozzi M, Mollace R, Musolino V, Carresi C, Fini M, Silvestrini B.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2017 Oct 1;3(4):185-188.

Low-dose aspirin is used worldwide for preventing thromboembolic disorders. Its use, however, is often associated with gastrointestinal bleeding, mostly due to direct irritation of the gastric mucosa. Here we provide evidence for a novel sublingual formulation of aspirin micronized and co-grinded with collagen proven to be as effective as oral standard formulation in inhibiting platelet aggregation but with attenuated gastric irritation. This represents a new option for better aspirin treatment in the prevention of myocardial infarction and stroke. Orally given low-dose aspirin has been used for decades due to its anti-inflammatory and antithrombotic properties.<sup>1</sup> Although standard oral formulation of aspirin allows rapid and complete absorption from the GI tract, new formulations have been developed and marketed, (e.g. dry granules, effervescent solution, and chewable tablets)<sup>2,3</sup> with the aim to achieve faster dissolution and faster absorption<sup>4,5</sup> as well as to reduce direct aspirin-induced gastric lesions. However, the occurrence of gastrointestinal bleeding still remains a significant problem of chronic aspirin administration and, sometimes, limits the use of aspirin in primary prevention.<sup>6,7</sup> On the other hand, co-administration of proton pump inhibitors is currently used to counteract aspirin-induced gastric lesions,<sup>8,9</sup> thereby representing a pharmacoeconomic issue in the area of health care sustainability. Recently, we developed and patented (N. 102015000079955) a new formulation of aspirin which leads to faster absorption and activity but devoid of direct gastrointestinal lesioning effect. In addition, this formulation allows sublingual administration of the drug which, by passing the liver metabolism, leads to faster serum peak concentration with more prominent and rapid inhibition of cyclooxygenase (COX), the major target of antiplatelet and anti-inflammatory action of aspirin.

### **Lipid-lowering effect of bergamot polyphenolic fraction: role of pancreatic cholesterol ester hydrolase.**

Musolino V, Gliozzi M, Carresi C, Maiuolo J, Mollace R, Bosco F, Scarano F, Scicchitano M, Mareta A, Palma E, Iannone M, Morittu VM, Gratteri S, Muscoli C, Fini M, Mollace V.

J Biol Regul Homeost Agents. 2017 Oct-Dec;31(4):1087-1093.

Bergamotpolyphenolicfraction (BPF) has been shown to positively modulate several mechanisms involved in metabolic syndrome, suggesting its use in therapy. In particular, it is able to induce a significant amelioration of serum lipid profile in hyperlipemic patients at different levels. The purpose of our study was to investigate the effect of BPF on cholesterol absorption physiologically mediated by pancreaticcholesterolesterhydrolase (pCEH). An in vitro activity assay was performed to study the effect of BPF on pCEH, whereas the rate of cholesterol absorption was evaluated through in vivo studies. In particular, male, Sprague-Dawley rats (200–225 g) were fed either normal chow or chow supplemented with 0.5% cholic acid, 5.5% peanut oil, and varying amounts of cholesterol (0 to 1.5%). BPF (10 mg/Kg) was daily administrated by means of a gastric gavage to animals fed with lipid supplemented diet for 4 weeks and, at the end of the study, plasma lipids and liver cholesteryl esters were measured in all experimental groups. Our results show that BPF was able to inhibit pCEH activity and this effect was confirmed, in vivo, via detection of lymphatic cholesteryl ester in rats fed with a cholesterol-rich diet. This evidence clarifies a further mechanism responsible for the hypolipemic properties of BPF previously observed in humans, confirming its beneficial effect in the therapy of hypercholesterolemia and in the treatment of metabolic syndrome.

### **Non-insulin antidiabetic pharmacotherapy in patients with established cardiovascular disease: a position paper of the European Society of Cardiology Working Group on cardiovascular pharmacotherapy.**

Niessner A, Tamargo J, Koller L, Saely CH, Schmidt TA, Savarese G, Wassmann S, **Rosano G**, Ceconi C, Torp-Pedersen C, Kaski JC, Kjeldsen KP, Agewall S, Walther T, Drexel H, Lewis BS.

Eur Heart J. 2017 Nov 8.

### **Water versus land-based exercises as physical training programs in elderly.**

Padua E, Campoli F, Manzi V, Panzarino M, Lombardo M, Melchiorri G, Tancredi V, Lebone P, Palazzo F, Annino G.

J Sports Med Phys Fitness. 2017 May 9 [Epub ahead of print].

The study aims to analyze and quantify the improvements of some physical skills in a group of subjects over 65 years old who practice regular activities in the gym and in a microgravity environment.

132 subjects ( $68.9 \pm 5.5$  yrs,  $72.7 \pm 14.4$  kg,  $155.3 \pm 9.2$ ,  $30.6 \pm 5$  kg/m<sup>2</sup>) who perform regular physical activity adapted and controlled for the elderly twice a week (50' per session) for a period of 8 months. The tests evaluate flexibility, abdominal and leg strength and balance. The groups, in baseline, are homogeneous between them to anthropometric parameters and the initial performance of motor skills analyzed. A mixed between-within subject ANOVA was conducted to assess the impact of the training regimens. Data from this study showed an increase in muscular strength (leg and abdominal muscles), body balance and muscular flexibility after 8 months of both training methods.

Both experimental groups had significant improvements in motor skills considered and interesting results were observed in water activity, overall, in balance (+66%,  $P < 0,001$ ) and abdominal muscular strength (+16%,  $P < 0,001$ ) where the water group showed a significant within and between improvement.

current results indicate that the water and land programs improved motor skills in the elderly. Furthermore, when the effectiveness of the training programs was compared, it was verified that the water group has recorded major changes, overall on abdominal strength and balance test statistically significant versus the land group.

### **Randomised, double-blind, placebo-controlled, assessment of the efficacy and safety of dietary supplements in prehypertension.**

Pelliccia F, Pasceri V, **Marazzi G**, Arrivi A, Cacciotti L, Pannarale G, Speciale G, Greco C, Gaudio C.

J Hum Hypertens. 2017 Oct;31(10):647-653.

We aimed to evaluate efficacy and tolerability of a protocol including lifestyle modifications and a novel combination of dietary supplements in prehypertension. A prospective, double-blind, randomised, placebo-controlled trial was conducted in 176 subjects (103 men, aged  $52 \pm 10$  years), with blood pressure (BP) of 130-139 mm Hg systolic and/or 85-89 mm Hg diastolic entered. After a single-blind run-in period, participants were randomised to twice daily placebo ( $n=88$ ) or a commercially available combination pill ( $n=88$ ). Primary endpoints were the differences in clinic BP between the two groups at the end of the trial. Secondary endpoints included intragroup differences in clinic BP during the study period and response rates (that is, BP  $< 130/85$  mm Hg or a BP reduction  $> 5$  mm Hg on week 12). Baseline characteristics were similar among the treatment groups. At 12 weeks, the supplement group had lower systolic BP ( $124 \pm 9$  versus  $132 \pm 7$  mm Hg,  $P < 0.0001$ ) and similar diastolic BP ( $81 \pm 8$  versus  $82 \pm 7$  mm Hg,  $P = 0.382$ ) compared to the placebo group. With respect to baseline measures, changes in BP with supplements were statistically significant for systolic ( $-9.3 \pm 4.2$  mm Hg,  $P < 0.0001$ ) and diastolic values ( $-4.2 \pm 3.6$  mm Hg,  $P < 0.0001$ ). Changes versus baseline in systolic and diastolic BP, conversely, were not different on placebo. The overall response rate at week 12 was significantly greater with supplements than placebo (58% (51 of 88) and 25% (22 of 88), respectively,  $P < 0.0001$ ). This randomised trial shows that combination of supplements with BP-lowering effect is an effective additional treatment to conventional lifestyle modifications for a better control of systolic BP in prehypertension.

### **Adverse cardiovascular outcomes in atrial fibrillation: validation of the new 2MACE risk score.**

Polovina M, Đikić D, Vlajković A, Vilotijević M, Milinković I, Ašanin M, Ostojić M, Coats AJS, Seferović PM.

Int J Cardiol. 2017 Dec 15;249:191-197.

In addition to thromboembolism, atrial fibrillation (AF) may also predispose to major adverse cardiovascular events (MACE) attributable to coronary artery disease (CAD), including myocardial infarction (MI). The 2MACE score (2 points - Metabolic syndrome and Age  $\geq 75$  years, 1 point - MI/revascularization, Congestive heart failure/ejection-fraction  $< 40\%$ , and thrombo-Embolism) was recently proposed to help identify AF patients at risk of MACE. We assessed the predictive validity of the 2MACE score for MACE occurrence in



AF patients free of CAD at baseline. Non-valvular AF patients (n=794) without CAD (mean-age, 62.5±12.1years, metabolic syndrome, 34.0%; heart failure/ejection-fraction <40%, 25.7%; thromboembolism, 9.7%) were prospectively followed for 5years, or until MACE (composite of non-fatal/fatal MI, revascularization and cardiovascular death). At inclusion, CAD was excluded by medical history, exercise-stress testing and/or coronary angiography. Also, the 2MACE score was determined. At follow-up, 112 patients experienced MACE (2.8%/year). The 2MACE score demonstrated adequate discrimination (C-statistic, 0.699; 95% confidence interval [CI], 0.648-0.750; P<0.001) and calibration (Hosmer-Lemeshow P=0.79) for MACE. The score was significantly associated with MACE, with the adjusted Hazard Ratio (aHR) of 1.56 (95%CI, 1.35-1.73; P<0.001). As for individual outcomes, the score predicted MI (n=46; aHR, 1.49; 95%CI 1.23-1.80), revascularization (n=32; aHR, 1.41; 95%CI, 1.11-1.80) and cardiovascular death (n=34; aHR, 1.43; 95%CI, 1.14-1.81), all P<0.001. The 2MACE score successfully predicts future MACE, including incident MI, coronary revascularization and cardiovascular death in AF patients free of CAD at baseline. It may have a role in risk-stratification and primary prevention of MACE in AF patients.

### **HFA Congress 2017: The Congress of the Heart Failure Association of the ESC: a continuous success story, the result of a long-term vision.**

Rosano GMC.

Eur Heart J. 2017 Nov 1;38(41):3042-3043.

### **Medical treatment of heart failure with reduced ejection fraction – prognostic indication.**

Rosano GMC.

International Cardiovascular Forum journal 2017;10:16-21.

An up-to-date review on guideline directed medical therapies that aim to improve prognosis in HFrEF patients. Research on medical interventions that may improve prognosis in patients with chronic heart failure has had great success in the past decades. Therefore, there are well-established classes of drugs – ACEi, beta-blockers, MRAs – that should be used as first line treatment in all patients with heart failure. In the past few years newer therapeutic approaches have been shown to improve prognosis in patients with heart failure but, since the evidence generated by these newer classes of drugs is less than that of the first three classes of drugs these therapies should be implemented only after an initial treatment with the first line drugs has been implemented. This article reviews the advances that have achieved in the treatment of heart failure in terms of a prognostic benefit.

### **Medical treatment of heart failure with reduced ejection fraction – aimed at reducing rehospitalisations.**

Rosano GMC.

International Cardiovascular Forum Journal. 2017;10:29-33.

The reduction in re-hospitalisation for heart failure is an important therapeutic goal in patients with heart failure, because of the effect of hospitalisations on well-being and prognosis. LCZ696 and ivabradine have been shown not only to reduce events in patients with HFrEF but also to reduce heart failure hospitalisations occurring both as first events, and as recurrent hospitalisations with a similar degree of efficacy. Given the neutral effect of ivabradine on blood pressure, this drug should be always considered in patients in sinus rhythm. LCZ696 has some blood pressure lowering effect that may limit its implementation in some patients. Therefore, in order to fully benefit from the prognostic benefits of these two drugs patients who are still symptomatic after the administration of an ACEi a beta-blocker and a MRA should be switched to these therapies and controlling heart rate with the combination of beta-blockers and ivabradine. Treatments should be implemented with appropriate disease management programs and fluid retention should be monitored with devices like the CardioMEMS that have been proven to effectively reduce events.

### **Valvular heart disease in heart failure.**

Rosano GMC.

International Cardiovascular Forum Journal 2017;10:70-72.

Structural valvular heart disease may be the cause of heart failure or may worsen the clinical status of patients with heart failure. Heart failure may also develop in patients treated with valve surgery. Patients with heart failure with valvular heart disease are at increased risk of events including sudden cardiac death. Before considering intervention (surgical or percutaneous) all patients should receive appropriate medical and device therapy taking into account that vasodilators must be used with caution in patients with severe aortic stenosis. Numerous percutaneous and/or hybrid procedures have been introduced in the past few years and they are changing the management of valvular heart disease. In patients with heart failure and valvular heart disease, either primary or functional, the whole process of decision-making should be staged through a comprehensive evaluation of the risk– benefit ratio of different treatment strategies and should be made by a multidisciplinary ‘heart team’ with a particular expertise in valvular heart disease. The heart team should include heart failure cardiologists, cardiac surgeons/structural valve interventionists, imaging specialists, anaesthetists, geriatricians and intensive care specialists. This article will review recent developments and distill practical guidance in the management of this important heart failure co-morbidity.

### **Reply to the letter from He et al. Is NPY causing myocardial ischemia in patients with microvascular angina associated with its abnormal constrictor response at the microcirculation level?**

Rosano GMC, Kaski JC.

Int J Cardiol. 2017 Nov 15;247:53.

Factors potentially associated with coronary microvascular dysfunction in our study did not differ among groups, i.e. in the patients group 1 subject had diabetes and documented coronary artery disease and similarly 1 control subject had been diagnosed with diabetes mellitus. [1 LDL-cholesterol concentrations and use of statins were not different between groups. Inflammatory biomarkers were not tested specifically as their role in microvascular angina is far from being established. [2 The assessment of this mechanism was beyond the remit of our study.

Estrogens have a significant effect on coronary reactivity in post-menopausal women. [3 The number of women in the microvascular angina group was not statistically different compared to the other two groups. The use of sex hormone replacement and mean age were not different between groups. Therefore, the effect of NPY on microvascular dysfunction in our study does not appear to be related to differences in age or gender.

We agree with He et al. that sensitive detector cardiac MRI as well as other modalities would had been be useful for the assessment of microvascular coronary blood flow, these tools were not available to us at the time of the study. However, the need to use sensitive detector cardiac MRI to evaluate CMF is an overstatement.

Our study was a proof of concept trial and we had highlighted the small patient population as a limitation of the study. Intracoronary NPY may have a profound effect on the coronary microcirculation and caution is required with the use of this neuropeptide in clinical research.

### **Renin inhibition in heart failure and diabetes: the real story.**

Rosano GMC, Seferovic P, Farmakis D, Filippatos G.

Eur J Heart Fail. 2017 Dec 22. [Epub ahead of print]

### **New advances in atrial fibrillation management: the role of Apixaban.**

Rosano GM, Spoletini I, Gianni W, Vitale C.

Curr Drug Targets. 2017 Oct 12. [Epub ahead of print]

Prevention of stroke is a pivotal intervention in the management of patients with atrial fibrillation (AF) at increased risk of systemic embolism. Because of the difficulties of safely implementing Vitamin K Antagonists in all patients, there has been a growing interest in improving the pharmacological management of AF, with newer antithrombotic agents. The new oral anticoagulants (NOACs) have been developed to overcome the limitations and improve the efficacy of the conventional oral anticoagulant drugs. Among the NOACs, apixaban - a very specific antagonist of activated factor Xa - has pharmacokinetic and pharmacodynamic properties that allow significant efficacy in AF management. However, clinical application of apixaban in subgroups of patients with AF is still under investigation and some contraindications should be taken into account. Despite these limitations, apixaban is an effective alternative

to warfarin and aspirin for stroke prevention in AF, with encouraging evidence also in terms of adherence to treatment.

### **Heart failure in patients with diabetes mellitus.**

Rosano GM, Vitale C, Seferovic P.

Card Fail Rev. 2017 Apr;3(1):52-55.

Diabetes and heart failure are closely related: patients with diabetes have an increased risk of developing heart failure and those with heart failure are at higher risk of developing diabetes. Furthermore, antidiabetic medications increase the risk of mortality and hospitalisation for heart failure in patients with and without pre-existing heart failure. When the two diseases are considered individually, heart failure has a much poorer prognosis than diabetes mellitus; therefore heart failure has to be a priority for treatment in patients presenting with the two conditions, and the diabetic patient with heart failure should be managed by the heart failure team. No specific randomised clinical trials have been conducted to test the effect of cardiovascular drugs in diabetic patients with heart failure, but a wealth of evidence suggests that all interventions effective at improving prognosis in patients with heart failure are equally beneficial in patients with and without diabetes. The negative effect of glucose-lowering agents in patients with heart failure or at increased risk of heart failure has become evident after the withdrawal of rosiglitazone, a thiazolidinedione, from the EU market due to evidence of increased risk of cardiovascular events and hospitalisations for heart failure. An important issue that remains unresolved is the optimal target level of glycated haemoglobin, as recent studies have demonstrated significant reductions in total mortality, morbidity and risk of heart failure despite achieving HbA1c levels similar to those observed in the UKPDS study conducted some decades ago. Meta-analyses showed that intensive glucose lowering is not associated with any significant reduction in cardiovascular risk but conversely results in a significant increase in heart failure risk. Different medications have different risk: benefit ratios in diabetic patients with heart failure; therefore, the heart failure team must judge the required intensity of glycaemic control, the type and dose of glucose lowering agents and any change in glucose-lowering therapy, according to the clinical conditions present.

### **Letter to the Editor: “Effects of testosterone replacement on electrocardiographic parameters in men: findings from two randomized trials”.**

Schwartz JB, Rosano G, Channer KS.

J Clin Endocrinol Metab. 2017 May 1;102(5):1787.

### **The Heart Failure Association Congress confirms itself as the largest European Society of Cardiology sub-speciality congress.**

Rosano GM.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2017 Jan;3(1):5-6.

### **HFA Congress 2017: the Congress of the Heart Failure Association of the ESC: a continuous success story, the result of a long-term vision.**

Rosano GMC.

Eur Heart J. 2017 Nov 1;38(41):3042-3043.

### **Cardiovascular disease in women, is it different to men? The role of sex hormones.**

Rosano GM, Spoletini I, Vitale C.

Climacteric. 2017 Apr;20(2):125-128.

Cardiovascular disease in women differs in clinical presentation, pathophysiology and prognosis from that in men. The role of estrogens and androgens may help explain such sex dimorphisms, being involved in cardiac function, endothelial function and vascular tone. In particular, the cardioprotective effect of estrogen replacement therapy is observed in postmenopausal women in a time-dependent manner, i.e. when it is initiated at their first menopausal symptoms. Postmenopausal women, beyond aged men, may also benefit from testosterone supplementation therapy. Testosterone has been found to be an effective and safe therapy for elderly women with chronic heart failure. However, further studies are needed to clarify doses and routes of administration of androgens in postmenopausal women.

### **Effects of neuropeptide Y on coronary artery vasomotion in patients with microvascular angina.**

Rosano GMC, Tousoulis D, McFadden E, Clarke J, Davies GJ, Kaski JC.  
Int J Cardiol. 2017 Jul 1;238:123-127.

Patients with microvascular angina (exertional angina, positive exercise tests and normal coronary arteriograms) usually have a reduced coronary blood flow reserve. Neuropeptide Y (NPY) is a potent endogenous vasoconstrictor involved in modulation of coronary vasomotor tone and may play a role in microvascular angina. We compared the effects of NPY (0.2-1.0 pmol/kg, intracoronary) on the vasomotor response of proximal and distal segments of the coronary arteries in 7 patients with microvascular angina, 9 with chronic stable angina, and 9 control individuals. The coronary response to the administration of ergonovine was also assessed in 9 other patients with microvascular angina. Computerized coronary artery diameter measurements were carried out before (baseline) and after the administration of the vasoactive agents. Mean baseline coronary lumen diameters were similar in control, microvascular angina, and coronary artery disease patients. NPY constricted proximal coronary segments by  $8\pm 2\%$ ,  $5\pm 2\%$  and  $6\pm 3\%$  and distal segments by  $14\pm 2\%$ ,  $11\pm 2\%$  and  $10\pm 2\%$  in control, microvascular angina, and coronary artery disease patients, respectively ( $p=NS$  between groups). In patients with microvascular angina, ergonovine constricted proximal coronary segments by  $7\pm 1.5\%$  and distal segments by  $12.5\pm 3\%$  ( $p=NS$  vs. NPY). During NPY administration four microvascular angina patients developed chest pain, ST segment depression, and a marked lengthening of the contrast medium run off, in the absence of epicardial coronary artery spasm. Control individuals and coronary artery disease patients did not experience chest pain, ST segment shifts, or lengthening of the run off during NPY administration. Ergonovine administration caused chest pain and lengthening of the contrast run-off, in the absence of epicardial coronary artery spasm, in one microvascular angina patient. Exogenous NPY causes mild epicardial coronary artery constriction which is similar in patients with non-cardiac chest pain, microvascular angina and coronary artery disease. Myocardial ischemia and marked lengthening of the contrast run off in response to NPY occurred in microvascular angina patients but not in control or coronary artery disease patients. An abnormal constrictor response to NPY at the microcirculation level could be the mechanism underlying the ischemic manifestations observed in patients with microvascular angina.

### **Incretin-based therapy for type 2 diabetes: a real class effect?**

Savarese G, Lund LH, Rosano GM.  
Int J Cardiol. 2017 Jan 15;227:141-142.

### **Approach to hyponatremia according to the clinical setting: Consensus statement from the Italian Society of Endocrinology (SIE), Italian Society of Nephrology (SIN), and Italian Association of Medical Oncology (AIOM).**

Sbardella E, Isidori AM, Arnaldi G, Arosio M, Barone C, Benso A, Berardi R, Capasso G, Caprio M, Ceccato F, Corona G, Della Casa S, De Nicola L, Faustini-Fustini M, Fiaccadori E, Gesualdo L, Gori S, Lania A, Mantovani G, Menè P, Parenti G, Pinto C, Pivonello R, Razzore P, Regolisti G, Scaroni C, Trepiccione F, Lenzi A, Peri A; the: Fluid and Electrolyte Disorders Club of the Italian Society of Endocrinology; Italian Society of Nephrology; and Italian Association of Medical Oncology.

J Endocrinol Invest. 2017 Nov 20. [Epub ahead of print]

### **Relationship between heart failure, concurrent chronic obstructive pulmonary disease and beta-blocker use: a Danish nationwide cohort study.**

Sessa M, Mascolo A, Mortensen RN, Andersen MP, Rosano GMC, Capuano A, Rossi F, Gislason G, Enghusen-Poulsen H, Torp-Pedersen C.

Eur J Heart Fail. 2017 Nov 20. [Epub ahead of print]

To compare the hazard of all-cause, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and heart failure (HF) hospitalization in carvedilol vs. metoprolol/bisoprolol/nebivolol users with COPD and concurrent HF from

2009 to 2012, and to evaluate the use and persistence in treatment of these  $\beta$ -blockers, their impact on the risk of COPD-related hospitalization, and the factors important for their selection.

Cox and logistic regression were used for both unadjusted and adjusted analyses. Carvedilol users had a higher hazard of being hospitalized for HF compared with metoprolol/bisoprolol/nebivolol users in both the unadjusted [hazard ratio (HR) 1.74; 95% confidence interval (CI) 1.65-1.83] and adjusted (HR 1.61; 95% CI 1.52-1.70) analyses. No significant differences were found for all-cause and COPD hospitalization between the two groups. Carvedilol users had a significant lower restricted mean persistence time than metoprolol/bisoprolol/nebivolol users. Patients exposed to carvedilol had an odds ratio (OR) of 1.38 (95% CI 1.23-1.56) for being hospitalized due to COPD within 60 days after redeeming the first carvedilol prescription, which was similar to that observed in metoprolol/bisoprolol/nebivolol users (OR 1.37; 95% CI 1.27-1.48). Patients with concurrent chronic kidney disease had a higher probability of receiving carvedilol (OR 1.16; 95% CI 1.04-1.29).

Carvedilol prescription carried an increased hazard of HF hospitalization and lower restricted mean persistence time among patients with COPD and concurrent HF. Additionally, we found a widespread phenomenon of carvedilol prescription at variance with the European Society of Cardiology guidelines and potential for improving the proportion of patients treated with  $\beta$ -blockers.

### **Gender differences in the effects of cardiovascular drugs.**

Tamargo J, Rosano G, Walther T, Duarte J, Niessner A, Kaski JC, Ceconi C, Drexel H, Kjeldsen K, Savarese G, Torp-Pedersen C, Atar D, Lewis BS, Agewall S.  
*Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother.* 2017 Jul 1;3(3):163-182.

Although sex-specific differences in cardiovascular medicine are well known, the exact influences of sex on the effect of cardiovascular drugs remain unclear. Women and men differ in body composition and physiology (hormonal influences during the menstrual cycle, menopause, and pregnancy) and they present differences in drug pharmacokinetics (absorption, distribution, metabolism, and excretion) and pharmacodynamics, so that is not rare that they may respond differently to cardiovascular drugs. Furthermore, women are also less often treated with evidence-based drugs thereby preventing optimization of therapeutics for women of all ages, experience more relevant adverse drug reactions than men, and remain underrepresented in most clinical trials. Thus, current guidelines for prevention, diagnosis, and medical treatment for cardiovascular diseases are based on trials conducted predominantly in middle-aged men. A better understanding of these sex-related differences is fundamental to improve the safety and efficacy of cardiovascular drugs and for developing proper individualized cardiovascular therapeutic strategies both in men and women. This review briefly summarizes gender differences in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of cardiovascular drugs and provides recommendations to close the gaps in our understanding of sex-specific differences in drug efficacy and safety.

### **How to approach heart failure disease in frail patients.**

Vitale C.  
*Dialogues in Cardiovascular Medicine.* 2017;22(1):34-35.

### **Clinical diagnosis in heart failure.**

Spoletini I, Vitale C.  
*International Cardiovascular Forum journal* 2017;10:12-15.

A contemporary review of the diagnosis of heart failure as part of a special heart failure issue. The 2016 ESC heart failure guidelines have provided updated evidence-based recommendations for the clinical diagnosis of heart failure. This article summarises the diagnostic process in the case of a patient presenting with acute dyspnoea and suspected acute heart failure, and summarises the diagnostic elements that should be assessed in a patient with non-acute onset. The role of clinical and laboratory testing is discussed.

### **Under-representation of elderly and women in clinical trials.**

Vitale C, Fini M, Spoletini I, Lainscak M, Seferovic P, Rosano GM.  
*Int J Cardiol.* 2017Apr 1;232:216-221.

Elderly and women have been often under-represented in randomised clinical trials (RCTs) testing the effect of treatments on cardiovascular diseases (CVDs) even though these diseases highly affect both of them. Taking into account these issues, the aim of this review is to critically analyse the topic of under-representation of elderly and women in cardiovascular RCTs. Compared to their younger counterparts, elderly have a higher incidence of disease-related morbidities, take more medicines and account for more adverse drug related events. Similarly, women present several differences in CVD pathophysiology, clinical manifestations and outcomes in comparison to their male counterparts. For these reasons, the results of RCTs obtained in younger men cannot be simply translated in elderly and women. Unfortunately, although international guidelines have been published to increase the enrolment of elderly and women, their recruitment is still insufficient. Thus, the inclusion of these subgroups in cardiovascular RCTs is a key aspect to acquire evidence-based knowledge in the understanding and management of CVDs in elderly and women.

### **Effect of hormone replacement therapy with the anti-mineralocorticoid progestin drospirenone compared to tibolone on endothelial function and central haemodynamics in post-menopausal women.**

Vitale C, Mammi C, Gambacciani M, Russo N, Spoletini I, Fini M, Volterrani M, Rosano GMC.  
Int J Cardiol 2017 Jan 15;227:217-221.

Drospirenone (DRSP) is an antialdosterone agent with progestogenic and antiandrogenic effects. This compound, has been recently used in combination with 17 $\beta$ -estradiol (E2) as hormonal therapy in postmenopausal women and has been shown to exert a significant antihypertensive effect in hypertensive post-menopausal women. Aim of the present study was to compare the effect of DRSP/E2 with those of Tibolone (T) on endothelial function, arterial stiffness, and lipid profile of early postmenopausal women naïve on post-menopausal hormonal therapy. Twenty-four women met the inclusion criteria and entered the study. Women were randomized to receive either DRSP/E2 or T for 6 months. Blood pressure and heart rate were similar in both groups at baseline and at the end of the study. Compared to baseline, endothelial function assessed by Reactive Hyperemia (RH) significantly improved in women receiving E2/DRSP, whereas no significant differences between baseline and follow up were detected in women receiving Tibolone. Women receiving E2/DRSP showed a significant decrease in pulse wave velocity and Augmentation Index compared to baseline while no changes were observed in women receiving Tibolone. The capacity of sera to trigger endothelial cells apoptosis in vitro measured by cell death assay was significantly reduced by E/DRSP but not by T (HFA-E 70 $\pm$ 5,6% vs HFD-E 41 $\pm$ 4,5%, p<0,001). In conclusion, the present study shows that the association of Estradiol and Drospirenone as hormonal replacement therapy significantly improves vascular parameters and the composition of sera relevant for vascular protection in early post-menopausal normotensive women. These effects are not shared by Tibolone.

### **Medical treatment of heart failure with reduced ejection fraction – improving clinical status and functional capacity.**

Vitale C, Rosano GMC.

International Cardiovascular Forum Journal 2017;10: 22-28.

Cardiac resynchronization therapy (CRT) is a new therapeutic approach for a selected group of patients with symptomatic heart failure (NYHA functional class III-IV) despite optimal medical therapy, due to dilated cardiomyopathy of any etiology (left ventricular ejection fraction  $\leq$  35% and left ventricular end-diastolic diameter  $\geq$  55 mm), who present with electromechanical dyssynchrony (QRS  $\geq$  130 ms). Safety and effectiveness of CRT have been demonstrated by several clinical trials, with patients achieving significant improvement in both clinical symptoms as well as functional status and exercise capacity. Furthermore, CRT has reduced morbidity of heart failure patients, while its impact in improving survival still remains to be clarified. Whether or not heart failure patients candidate to CRT should receive a defibrillator back-up remains debatable, although growing evidence is pointing to extensive use of a defibrillator in such a population.

### **Ethical guidelines for publishing in the journal of cachexia, sarcopenia and muscle: update 2017.**

von Haehling S, Morley JE, Coats AJS, Anker SD.

J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2017 Dec;8(6):1081-1083.

This article details an updated version of the principles of ethical authorship and publishing in the Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle (JCSM). At the time of submission to JCSM, the corresponding author, on behalf of all co-authors, needs to certify adherence to these principles. The principles are as follows: All authors listed on a manuscript considered for publication have approved its submission and (if accepted) publication as provided to JCSM. No person who has a right to be recognized as author has been omitted from the list of authors on the submitted manuscript. Each author has made a material and independent contribution to the work submitted for publication. The submitted work is original and is neither under consideration elsewhere nor that it has been published previously in whole or in part other than in abstract form. All authors certify that the work is original and does not contain excessive overlap with prior or contemporaneous publication elsewhere, and where the publication reports on cohorts, trials, or data that have been reported on before these other publications must be referenced. All original research work has been approved by the relevant bodies such as institutional review boards or ethics committees. All conflicts of interest, financial or otherwise, that may affect the authors' ability to present data objectively, and relevant sources of funding have been duly declared in the manuscript. The manuscript in its published form will be maintained on the servers of JCSM as a valid publication only as long as all statements in the guidelines on ethical publishing remain true. If any of the aforementioned statements ceases to be true, the authors have a duty to notify the Editors of JCSM as soon as possible so that the available information regarding the published article can be updated and/or the manuscript can be withdrawn.

### **Comprehensive efforts to increase adherence to statin therapy.**

Vonbank A, Agewall S, Kjeldsen KP, Lewis BS, Torp-Pedersen C, Ceconi C, Funck-Brentano C, Kaski JC, Niessner A, Tamargo J, Walther T, Wassmann S, Rosano G, Schmidt H, Saely CH, Drexel H.

Eur Heart J. 2017 Aug 21;38(32):2473-2479.

Previous work from the European Society of Cardiology (ESC), the European Atherosclerosis Society (EAS) and from other groups has addressed the benefits of statin treatment in different patient populations. Unfortunately, adherence to guideline-recommended statin therapy is suboptimal: Statins are underused and LDL cholesterol targets are not met in up to 80% of high-risk patients. Excellent reviews have recently been published on the issue of statin intolerance and some lay media as well strongly emphasize this issue. True and verified statin intolerance, however, is uncommon and is not the main reason for poor adherence to statin treatment. Because poor adherence to statin treatment in turn is extremely common, it appears necessary to discuss the problem of statin adherence in a broader context and to develop strategies to overcome it.

This clinically important task has not yet been the focus of a review or practice recommendation and therefore is the aim of the present position paper from the ESC working group on Cardiovascular Pharmacotherapy. This work takes the position that statin therapy is underutilized because of non-adherence not solely related to statin side effects and proposes steps to be taken in cardiovascular practice to improve statin adherence and thus cardiovascular outcomes. Our article aims to highlight the scientific background that helps to (i) overcome statin nonadherence by definition and description of true adverse statin effects, (ii) increase statin adherence by changing reservation against lipid lowering in media and the public, and (iii) guide efforts in the scientific community to close the gap between knowledge and practice of lipid management.

### **Evidence-Based TAM classic herbal formula: from myth to science.**

Xiong X, Che CT, Borrelli F, Moudgil KD, Caminiti G.

Evid Based Complement Alternat Med. 2017;2017:9493076. Epub 2017 Jan 26.

### **Acinetobacter baumannii virulence traits: a comparative study of a novel sequence type with other italian endemic international clones.**

Ambrosi C, Scribano D, Aleandri M, Zagaglia C, Di Francesco L, Putignani L, Palamara AT.

Front Microbiol. 2017 Oct 12;8:1977.eCollection 2017.

Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAb) have emerged in recent decades as major causes of nosocomial infections. Resistance is mainly due to overexpression of intrinsic and/or acquired

carbapenemases, especially oxacillinases (OXA). In Italy, although the sequencetype (ST) 2 and the ST78 are the most frequently detected, we recently reported ST632, a single locus variant of ST2. Therefore, this study was aimed at unraveling common bacterial surface virulence factors involved in pathogenesis and antibiotic resistance in representative CRAb of these ST genotypes. Outer membrane protein (OMP) composition together with motility, biofilm formation, *in vitro* adherence to, invasion of, and survival within pneumocytes were analyzed. Differently from the carbapenem-susceptible reference strain ATCC 17978, either overexpressed OXA-51 or both OXA-23 and OXA-51 co-purified with OMPs in CRAb. This tight association ensures their maximal concentration on the inner surface of the outer membrane to provide the best protection against carbapenems. These findings led us to propose for the first time a common behavior of OXA enzymes in CRAb. Despite the presence of both OmpA and phosphorylcholine-porinD and the ability of all the strains to adhere to cells, invasion, and survival within pneumocytes was shown only by ST2 and ST78 isolates, sharing the highest number of identified OMPs. Conversely, notwithstanding genetic and OMPs similarities with ST2, ST632 was unable to invade and survive within epithelial cells. Overall, our study shows that different STs share a specific OMP composition, also shaped by overexpressed OXA, that is needed for invasiveness and survival of CRAb.

### **Regioselective IBX-mediated synthesis of Coumarin derivatives with antioxidant and anti-influenza activities.**

Bizzarri BM, Botta L, Capecchi E, **Celestino I**, Checconi P, **Palamara AT**, Nencioni L, Saladino R.

J Nat Prod. 2017 Dec 13. [Epub ahead of print]

Different catechol and pyrogallol derivatives have been synthesized by oxidation of coumarins with 2-iodoxybenzoic acid (IBX) in DMSO at 25 °C. A high regioselectivity was observed in accordance with the stability order of the incipient carbocation or radical benzylic-like intermediate. The oxidation was also effective in water under heterogeneous conditions by using IBX supported on polystyrene. The new derivatives showed improved antioxidant effects in the DPPH test and inhibitory activity against the influenza A/PR8/H1N1 virus. These data represent a new entry for highly oxidized coumarins showing an antiviral activity possibly based on the control of the intracellular redox value.

### **Human cardiac progenitor cells with regenerative potential can be isolated and characterized from 3D-electro-anatomic guided endomyocardial biopsies.**

D'Amario D, Leone AM, Narducci ML, Smaldone C, Lecis D, Inzani F, Luciani M, Siracusano A, La Neve F, Manchi M, Pelargonio G, Perna F, Bruno P, Massetti M, Pitocco D, Cappetta D, Esposito G, Urbanek K, De Angelis A, Rossi F, Piacentini R, Angelini G, Li Puma DD, **Grassi C**, De Paolis E, Capoluongo E, Silvestri V, Merlino B, Marano R, Crea F.

Int J Cardiol. 2017 Aug 15;241:330-343. Epub 2017 Mar 1.

In the present study, we aimed to develop a percutaneous approach and a reproducible methodology for the isolation and expansion of Cardiac Progenitor Cells (CPCs) from EndoMyocardial Biopsies (EMB) *in vivo*. Moreover, in an animal model of non-ischemic heart failure (HF), we would like to test whether CPCs obtained by this methodology may engraft the myocardium and differentiate.

EMB were obtained using a preformed sheath and a disposable biptome, advanced via right femoral vein in 12 healthy mini pigs, to the right ventricle. EMB were enzymatically dissociated, cells were expanded and sorted for c-kit. We used 3D-Electro-Anatomic Mapping (3D-EAM) to obtain CPCs from 32 patients affected by non-ischemic cardiomyopathy. The *in vivo* regenerative potential of CPCs was tested in a rodent model of drug-induced non-ischemic cardiomyopathy. c-kit positive CPCs replicative capacity was assessed in 30 patients. Telomere length averaged 7.4±0.4kbp and telomerase activity was present in all preparations (1.7×10<sup>5</sup> copies). The *in situ* hybridization experiments showed that injected human CPCs may acquire a neonatal myocyte phenotype given the expression of the alpha-sarcomeric actin together with the presence of the Alu probe, suggesting a beneficial impact on LV performance.

The success in obtaining CPCs characterized by high regenerative potential, *in vitro* and *in vivo*, from EMB indicates that harvesting without thoracotomy in patients affected by either ischemic or non-ischemic cardiomyopathy is feasible. These initial results may potentially expand the future application of CPCs to all patients affected by HF not undergoing surgical procedures.



### **Glutathione fine-tunes the Innate Immune Response toward antiviral pathways in a macrophage cell line independently of its antioxidant properties.**

Diotalle M, Checconi P, Palamara AT, Celestino I, Coppo L, Holmgren A, Abbas K, Peyrot F, Mengozzi M, Ghezzi P.

Front Immunol. 2017 Sep 29;8:1239. eCollection 2017.

Glutathione (GSH), a major cellular antioxidant, is considered an inhibitor of the inflammatory response involving reactive oxygen species (ROS). However, evidence is largely based on experiments with exogenously added antioxidants/reducing agents or pro-oxidants. We show that depleting macrophages of 99% of GSH does not exacerbate the inflammatory gene expression profile in the RAW264 macrophage cell line or increase expression of inflammatory cytokines in response to the toll-like receptor 4 (TLR4) agonist lipopolysaccharide (LPS); only two small patterns of LPS-induced genes were sensitive to GSH depletion. One group, mapping to innate immunity and antiviral responses (Oas2, Oas3, Mx2, Irf7, Irf9, STAT1, il1b), required GSH for optimal induction. Consequently, GSH depletion prevented the LPS-induced activation of antiviral response and its inhibition of influenza virus infection. LPS induction of a second group of genes (Prdx1, Srxn1, Hmox1, GSH synthase, cysteine transporters), mapping to nrf2 and the oxidative stress response, was increased by GSH depletion. We conclude that the main function of endogenous GSH is not to limit inflammation but to fine-tune the innate immune response to infection.

### **A novel method to titrate herpes simplex virus-1 (HSV-1) using laser-based scanning of near-infrared fluorophores conjugated antibodies.**

Fabiani M, Limongi D, Palamara AT, De Chiara G, Marcocci ME.

Front Microbiol. 2017 Jun 14;8:1085. eCollection 2017.

Among several strategies used for Herpes simplex virus (HSV) detection in biological specimens, standard plaque assay (SPA) remains the most reliable method to evaluate virus infectivity and quantify viral replication. However, it is a manual procedure, thereby affected by operator subjectivity, and it may be particularly laborious for multiple sample analysis. Here we describe an innovative method to perform the titration of HSV type 1 (HSV-1) in different samples, using the "In-Cell Western™" Assay (ICW) from LI-COR, a quantitative immunofluorescence assay that exploits laser-based scanning of near infrared (NIR). In particular, we employed NIR-immunodetection of viral proteins to monitor foci of HSV-1 infection in cell monolayers, and exploited an automated detection of their fluorescence intensity to evaluate virus titre. This innovative method produced similar and superimposable values compared to SPA, but it is faster and can be performed in 96 well plate, thus allowing to easily and quickly analyze and quantify many samples in parallel. These features make our method particularly suitable for the screening and characterization of antiviral compounds, as we demonstrated by testing acyclovir (ACV), the main anti-HSV-1 drug. Moreover, we developed a new data analysis system that allowed to overcome potential bias due to unspecific fluorescence signals, thus improving data reproducibility. Overall, our method may represent a useful tool for both clinical and research purposes.

### **Thymosin $\alpha$ 1 interacts with hyaluronic acid electrostatically by its terminal sequence LKEKK.**

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

Molecules. 2017 Oct 27;22(11).

Thymosin  $\alpha$ 1 (T $\alpha$ 1), is a peptidic hormone, whose immune regulatory properties have been demonstrated both in vitro and in vivo and approved in different countries for treatment of several viral infections and cancers. T $\alpha$ 1 assumes a conformation in negative membranes upon insertion into the phosphatidylserine exposure as found in several pathologies and in apoptosis. These findings are in agreement with the pleiotropy of T $\alpha$ 1, which targets both normal and tumor cells, interacting with multiple cellular components, and have generated renewed interest in the topic. Hyaluronan (HA) occurs ubiquitously in the extracellular matrix and on cell surfaces and has been related to a variety of diseases, and developmental and physiological processes. Proteins binding HA, among them CD44 and the Receptor for HA-mediated motility (RHAMM) receptors, mediate its biological effects. NMR spectroscopy indicated preliminarily that

an interaction of T $\alpha$ 1 with HA occurs specifically around lysine residues of the sequenceLKEKK of T $\alpha$ 1 and is suggestive of a possible interference of T $\alpha$ 1 in the binding of HA with CD44 and RHAMM. Further studies are needed to deepen these observations because T $\alpha$ 1 is known to potentiate the T-cell immunity and anti-tumor effect. The binding inhibitory activity of T $\alpha$ 1 on HA-CD44 or HA-RHAMM interactions can suppress both T-cell reactivity and tumor progression.

### **Thymosin alpha 1 and HIV-1: recent advances and future perspectives.**

Matteucci C, Grelli S, Balestrieri E, Minutolo A, Argaw-Denboba A, Macchi B, Sinibaldi-Vallebona P, Perno CF, Mastino A, Garaci E.  
Future Microbiol. 2017 Feb;12:141-155.

In spite of the consistent benefits for HIV-1 infected patients undergoing antiretroviral therapy, a complete immune reconstitution is usually not achieved. Actually, antiretroviral therapy may be frequently accompanied by immunological unresponsiveness, persistent inflammatory conditions and inefficient cytotoxic T-cell response. Thymosinalpha1 is a thymic peptide that demonstrates a peculiar ability to restore immune system homeostasis in different physiological and pathological conditions (i.e., infections, cancer, immunodeficiency, vaccination and aging) acting as multitasking protein depending on the host state of inflammation or immune dysfunction. This review reports the present knowledge on the in vitro and in vivo studies concerning the use of thymosinalpha1 in HIV-1 infection. Recent findings and futureperspectives of therapeutic intervention are discussed.

### **Herpes simplex virus type 1(hsv-1)infection as a risk factor for ad: possible role of neuroinflammation and oxidative stress.**

Palamara AT, Fabiani M, Marcocci ME, Piacentini R, Paccagnini D, Pilenzi L, Napoletani G, Grassi C, De Chiara G.  
J Neurol Sci. 2017 10/15;381, Supplement:93-94.

Several evidence suggest HSV-1 as a potential risk factors for Alzheimer's disease (AD).

Herein we design in vitro and in vivo study to evaluate whether HSV-1 primary infection, in glia/neuron cultures, and repeated HSV-1 reactivations, in mice, may concur to accumulation of the main AD hallmarks, as b-amyloid peptides (A $\beta$ s) and neurofibrillary tangles, mainly composed by hyperphosphorylated tau. We also evaluated the potential role of HSV-1 in inducing oxidative stress and neuroinflammation, in terms of cytokines production and gliosis.

HSV-1 infected BALB/c mice were subjected to multiple virus reactivations. Virus replication in the brain was analyzed through PCR and RT-PCR. AD and oxidative stress hallmarks were analyzed by multiplex, immunofluorescence, western blotting and fluorimetry

We found that HSV-1, 4h after infection, induces in glial/neuronal cells a significant increase in the level of ROS and HNE, a marker of lipid peroxidation. This timing is consistent with our previous data showing the activation of redox-regulated pathway inducing A $\beta$ s production.

Following HSV-1 multiple reactivations, we found in mouse brains: 1) viral TK and ICP4 genes in cortex and hippocampal tissues, indicating that HSV-1 is able to reach and replicate in those brain regions mostly affected during AD; 2) increased levels of HNE, protein nitrosylation (3-NT), and carbonylation; 3) enhanced levels of IL-6, IL-1b cytokines and gliosis; 4) accumulation of A $\beta$ s and altered tau phosphorylation.

Altogether these data support the hypothesis that repeated HSV-1 infections may contribute to the neurodegeneration typical of AD and suggest a potential pathogenic role for virus-induced oxidative stress and neuroinflammation.

### **Efficient propagation of archetype JC polyomavirus in COS-7 cells: evaluation of rearrangements within the NCCR structural organization after transfection.**

Prezioso C, Scribano D, Bellizzi A, Anzivino E, Rodio DM, Trancassini M, Palamara AT, Pietropaolo V.  
Arch Virol. 2017 Dec;162(12):3745-3752.

John Cunningham virus (JCPyV) is an ubiquitous human pathogen that causes disease in immunocompromised patients. The JCPyV genome is composed of an early region and a late region, which

are physically separated by the non-coding control region (NCCR). The DNA sequence of the NCCR distinguishes two forms of JCPyV, the designated archetype and the prototype, which resulted from a rearrangement of the archetype sequence. To date, the cell culture systems for propagating JCPyV archetype have been very limited in their availability and robustness. Prior to this study, it was demonstrated that JCPyV archetype DNA replicates in COS-7 simian kidney cells expressing SV40 TAg and COS-7 cells expressing HIV-1 Tat. Based on these observations, the present study was conducted to reproduce an in vitro model in COS-7 cells transfected with the JCPyV archetype strain in order to study JCPyV DNA replication and analyze NCCR rearrangements during the viral life cycle. The efficiency of JCPyV replication was evaluated by quantitative PCR (Q-PCR) and by hemagglutination (HA) assay after transfection. In parallel, sequence analysis of JCPyV NCCR was performed. JCPyV efficiently replicated in kidney-derived COS-7 cells, as demonstrated by a progressive increase in viral load and virion particle production after transfection. The archetypal structure of NCCR was maintained during the viral cycle, but two characteristic point mutations were detected 28 days after transfection. This model is a useful tool for analyzing NCCR rearrangements during in vitro replication in cells that are sites of viral persistence, such as tubular epithelial cells of the kidney.

### **Thymosin $\alpha$ 1 represents a potential potent single-molecule-based therapy for cystic fibrosis.**

Romani L, Oikonomou V, Moretti S, Iannitti RG, D'Adamo MC, Villella VR, Pariano M, Sforna L, Borghi M, Bellet MM, Fallarino F, Pallotta MT, Servillo G, Ferrari E, Puccetti P, Kroemer G, Pessia M, Maiuri L, Goldstein AL, Garaci E.  
Nat Med. 2017 May;23(5):590-600.

Cystic fibrosis (CF) is caused by mutations in the gene encoding the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) that compromise its chloride channel activity. The most common mutation, p.Phe508del, results in the production of a misfolded CFTR protein, which has residual channel activity but is prematurely degraded. Because of the inherent complexity of the pathogenetic mechanisms involved in CF, which include impaired chloride permeability and persistent lung inflammation, a multidrug approach is required for efficacious CF therapy. To date, no individual drug with pleiotropic beneficial effects is available for CF. Here we report on the ability of thymosin alpha 1 (T $\alpha$ 1)-a naturally occurring polypeptide with an excellent safety profile in the clinic when used as an adjuvant or an immunotherapeutic agent-to rectify the multiple tissue defects in mice with CF as well as in cells from subjects with the p.Phe508del mutation. T $\alpha$ 1 displayed two combined properties that favorably opposed CF symptomatology: it reduced inflammation and increased CFTR maturation, stability and activity. By virtue of this two-pronged action, T $\alpha$ 1 has strong potential to be an efficacious single-molecule-based therapeutic agent for CF.

### **Genetic diversity, phylogroup distribution and virulence gene profile of pks positive Escherichia coli colonizing human intestinal polyps.**

Sarshar M, Scribano D, Marazzato M, Ambrosi C, Aprea MR, Aleandri M, Pronio A, Longhi C, Nicoletti M, Zagaglia C, Palamara AT, Conte MP.  
Microb Pathog. 2017 Oct 5;112:274-278.

Some Escherichiacoli strains of phylogroup B2 harbor a (pks) pathogenicity island that encodes a polyketide-peptide genotoxin called colibactin. It causes DNA double-strand breaks and megalocytosis in eukaryotic cells and it may contribute to cancer development. Study of bacterial community that colonizes the adenomatous polyp lesion, defined as precancerous lesions, could be helpful to assess if such pathogenic bacteria possess a role in the polyp progression to cancer. In this cross-sectional study, a total of 1500 E. coli isolates were obtained from biopsies of patients presenting adenomatous colon polyps, the normal tissues adjacent to the polyp lesion and patients presenting normal mucosa. pks island frequency, phylogenetic grouping, fingerprint genotyping, and virulencegene features of pkspositive (pks<sup>+</sup>) E. coli isolates were performed. We found pks<sup>+</sup>E. coli strongly colonize two patients presenting polypoid lesions and none were identified in patients presenting normal mucosa. Predominant phylogroups among pks<sup>+</sup>E. coli isolates were B2, followed by D. Clustering based on fragment profiles of composite analysis, typed the pks<sup>+</sup> isolates into 5 major clusters (I-V) and 17 sub-clusters, demonstrating a high level of geneticdiversity among them. The most prevalent virulence genes were fimH and fyuA (100%), followed by vat (92%), hra and papA (69%), ibeA (28%), and hlyA (25%). Our results revealed that pks<sup>+</sup>E. coli can colonize the precancerous lesions, with a high distribution in both the polyp lesions and in normal tissues adjacent to the lesion. The high

differences in fingerprinting patterns obtained indicate that pks<sup>+</sup>E. coli strains were genetically diverse, possibly allowing them to more easily adapt to environmental variations.

Spinelli M, Fusco S, Mainardi M, Scala F, Natale F, Lapenta R, Mattera A, Rinaudo M, Li Puma DD, Ripoli C, Grassi A, D'Ascenzo M, Grassi C.

**Brain insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and memory by increasing GluA1 palmitoylation through FoxO3a.**

Nat Commun. 2017 Dec 8;8(1):2009.

High-fat diet (HFD) and metabolic diseases cause detrimental effects on hippocampal synaptic plasticity, learning, and memory through molecular mechanisms still poorly understood. Here, we demonstrate that HFD increases palmitic acid deposition in the hippocampus and induces hippocampal insulin resistance leading to FoxO3a-mediated overexpression of the palmitoyltransferase zDHHC3. The excess of palmitic acid along with higher zDHHC3 levels causes hyper-palmitoylation of AMPA glutamate receptor subunit GluA1, hindering its activity-dependent trafficking to the plasma membrane. Accordingly, AMPAR current amplitudes and, more importantly, their potentiation underlying synaptic plasticity were inhibited, as well as hippocampal-dependent memory. Hippocampus-specific silencing of Zdhhc3 and, interestingly enough, intranasal injection of the palmitoyltransferase inhibitor, 2-bromopalmitate, counteract GluA1 hyper-palmitoylation and restore synaptic plasticity and memory in HFD mice. Our data reveal a key role of FoxO3a/Zdhhc3/GluA1 axis in the HFD-dependent impairment of cognitive function and identify a novel mechanism underlying the cross talk between metabolic and cognitive disorders.

**Genetic diversity, phylogroup distribution and virulence gene profile of pks positive Escherichia coli colonizing human intestinal polyps.**

Sarshar M, Scribano D, Marazzato M, Ambrosi C, Aprea MR, Aleandri M, Pronio A, Longhi C, Nicoletti M, Zagaglia C, Palamara AT, Conte MP.

Microb Pathog. 2017 Oct 5;112:274-278.

Some Escherichia coli strains of phylogroup B2 harbor a (pks) pathogenicity island that encodes a polyketide-peptide genotoxin called colibactin. It causes DNA double-strand breaks and megalocytosis in eukaryotic cells and it may contribute to cancer development. Study of bacterial community that colonizes the adenomatous polyp lesion, defined as precancerous lesions, could be helpful to assess if such pathogenic bacteria possess a role in the polyp progression to cancer. In this cross-sectional study, a total of 1500 E. coli isolates were obtained from biopsies of patients presenting adenomatous colon polyps, the normal tissues adjacent to the polyp lesion and patients presenting normal mucosa. pks island frequency, phylogenetic grouping, fingerprint genotyping, and virulence gene features of pks positive (pks<sup>+</sup>) E. coli isolates were performed. We found pks<sup>+</sup>E. coli strongly colonize two patients presenting polypoid lesions and none were identified in patients presenting normal mucosa. Predominant phylogroups among pks<sup>+</sup>E. coli isolates were B2, followed by D. Clustering based on fragment profiles of composite analysis, typed the pks<sup>+</sup> isolates into 5 major clusters (I-V) and 17 sub-clusters, demonstrating a high level of genetic diversity among them. The most prevalent virulence genes were fimH and fyuA (100%), followed by vat (92%), hra and papA (69%), ibeA (28%), and hlyA (25%). Our results revealed that pks<sup>+</sup>E. coli can colonize the precancerous lesions, with a high distribution in both the polyp lesions and in normal tissues adjacent to the lesion. The high differences in fingerprinting patterns obtained indicate that pks<sup>+</sup>E. coli strains were genetically diverse, possibly allowing them to more easily adapt to environmental variations.

**The DNA damage response promotes polyomavirus JC infection by nucleus to cytoplasm NF-kappaB activation.**

White MK, Bellizzi A, Ibba G, Pietropaolo V, Palamara AT, Wollebo HS.

Virology. 2017 Feb 15;14(1):31.

Infection of glial cells by human neurotropic polyomavirus JC (JCV), the causative agent of the CNS demyelinating disease progressive multifocal leukoencephalopathy (PML), rapidly inflicts damage to cellular DNA. This activates DNA damage response (DDR) signaling including induction of expression of DNA repair factor Rad51. We previously reported that Rad51 co-operates with the transcription factor NF-κB p65 to activate JCV early transcription. Thus Rad51 induction by JCV infection may provide positive feedback

for viral activation early in JCV infection. DDR is also known to stimulate NF- $\kappa$ B activity, a phenomenon known as nucleus to cytoplasm or "inside-out" NF- $\kappa$ B signaling, which is initiated by Ataxia telangiectasia mutated (ATM) protein, a serine/threonine kinase recruited and activated by DNA double-strand breaks. Downstream of ATM, there occurs a series of post-translational modifications of NF- $\kappa$ B essential modulator (NEMO), the  $\gamma$  regulatory subunit of inhibitor of NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B) kinase (IKK), resulting in NF- $\kappa$ B activation. We analyzed the effects of downstream pathways in the DDR by phosphospecific Western blots and analysis of the subcellular distribution of NEMO by cell fractionation and immunocytochemistry. The role of DDR in JCV infection was analyzed using a small molecule inhibitor of ATM (KU-55933). NEMO sumoylation was investigated by Western and association of ATM and NEMO by immunoprecipitation/Western blots. We show that JCV infection caused phosphorylation and activation of ATM while KU-55933 inhibited JCV replication. JCV infection caused a redistribution of NEMO from cytoplasm to nucleus. Co-expression of JCV large T-antigen and FLAG-tagged NEMO showed the occurrence of sumoylation of NEMO, while co-expression of ATM and FLAG-NEMO demonstrated physical association between ATM and NEMO. We propose a model where JCV infection induces both overexpression of Rad51 protein and activation of the nucleus to cytoplasm NF- $\kappa$ B signaling pathway, which then act together to enhance JCV gene expression.

### **SIRT1-SIRT3 axis regulates cellular response to oxidative stress and etoposide.**

Carnevale I, Pellegrini L, D'Aquila P, Saladini S, Lococo E, Polletta L, Vernucci E, Foglio E, Coppola S, Sansone L, Passarino G, Bellizzi D, Russo MA, Fini M, Tafani M.  
J Cell Physiol. 2017 Jul;232(7):1835-1844.

Sirtuins are conserved NAD<sup>+</sup>-dependent deacylases. SIRT1 is a nuclear and cytoplasmic sirtuin involved in the control of histones a transcription factors function. SIRT3 is a mitochondrial protein, which regulates mitochondrial function. Although, both SIRT1 and SIRT3 have been implicated in resistance to cellular stress, the link between these two sirtuins has not been studied so far. Here we aimed to unravel: i) the role of SIRT1-SIRT3 axis for cellular response to oxidative stress and DNA damage; ii) how mammalian cells modulate such SIRT1-SIRT3 axis and which mechanisms are involved. Therefore, we analyzed the response to different stress stimuli in WT or SIRT1-silenced cell lines. Our results demonstrate that SIRT1-silenced cells are more resistant to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and etoposide treatment showing decreased ROS accumulation,  $\gamma$ -H2AX phosphorylation, caspase-3 activation and PARP cleavage. Interestingly, we observed that SIRT1-silenced cells show an increased SIRT3 expression. To explore such a connection, we carried out luciferase assays on SIRT3 promoter demonstrating that SIRT1-silencing increases SIRT3 promoter activity and that such an effect depends on the presence of SP1 and ZF5 recognition sequences on SIRT3 promoter. Afterwards, we performed co-immunoprecipitation assays demonstrating that SIRT1 binds and deacetylates the transcription inhibitor ZF5 and that there is a decreased interaction between SP1 and ZF5 in SIRT1-silenced cells. Therefore, we speculate that acetylated ZF5 cannot bind and sequester SP1 that is free, then, to increase SIRT3 transcription. In conclusion, we demonstrate that cells with low SIRT1 levels can maintain their resistance and survival by increasing SIRT3 expression.

### **Immune profile of obese people and in vitro effects of red grape polyphenols on peripheral blood mononuclear cells.**

Magrone T, Jirillo E, Spagnoletta A, Magrone M, Russo MA, Fontana S, Laforgia F, Donvito I, Campanella A, Silvestris F, De Pergola G.  
Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:9210862. Epub 2017 Jan 24.

The in vitro ability of polyphenols, extracted from red grape, to modulate peripheral blood mononuclear cell responses has been evaluated in 20 obese (Ob) people. With regard to cytokine release in response to phorbol myristate acetate (PMA), levels of interleukin-2 (IL-2), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), IL-4, IL-10, and IL-17 were higher in the Ob than in healthy (H) subjects. Vice versa, IL-21 concentrations were detected only in H people but they were undetectable in the Ob counterpart. In general terms, levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, and tumor necrosis factor- $\alpha$  were higher in Ob people when compared to H controls. On the other hand, polyphenols did not modify IFN- $\gamma$ , IL-4, and IL-17 levels. However, an increase in IL-2 was observed in H individuals, whereas its levels were decreased in the Ob counterpart. Polyphenols significantly increased IL-10 release from H donors, whereas a trend to increase was observed in Ob people. In addition, polyphenols were able to significantly increase levels of H IL-21, while this was not the case in Ob people. Since IL-21 is

an inducer of Th17 cells, it is likely that polyphenols may suppress the sources of this cytokine via production of IL-10. Accordingly, polyphenols decreased IL-1 $\beta$  and IL-6 release in comparison to H controls.

### **In vitro effects of polyphenols on the peripheral immune responses in nickel-sensitized patients.**

Magrone T, Romita P, Verni P, Salvatore R, Spagnoletta A, Magrone M, Russo MA, Jirillo E, Foti C.

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2017 Nov 16;17(4):324-331.

Nickel (Ni) is a metal largely present in the environment and prolonged exposure to it may lead to multiple pathological conditions in human subjects. Among these, the most frequent is allergic contact dermatitis.

Peripheral blood mononuclear cells isolated from 25 patients with Ni-dependent contact dermatitis were evaluated in terms of cytokine release and nitric oxide (NO) production in the presence or absence of two doses (3 and 5  $\mu$ g, respectively) of polyphenols.

Polyphenols were able to reduce the increased release of interferon- $\gamma$  and interleukin (IL)-4, while maintaining the equilibrium between IL-10 and IL-17. At the same time, exaggerated release of NO was reduced by polyphenol supplementation.

In view of their anti-inflammatory activities, polyphenols may represent a potential therapeutic tool to treat Ni-sensitized patients.

### **Cocoa and dark chocolate polyphenols: from biology to clinical applications.**

Magrone T, Russo MA, Jirillo E.

Frontiers in Immunology. 2017;8:677.

It is well known that cocoa and dark chocolate possess polyphenols as major constituents whose dietary consumption has been associated to beneficial effects. In fact, cocoa and dark chocolate polyphenols exert antioxidant and anti-inflammatory activities switching on some important signaling pathways such as toll-like receptor 4/nuclear factor  $\kappa$ B/signal transducer and activator of transcription. In particular, cocoa polyphenols induce release of nitric oxide (NO) through activation of endothelial NO synthase which, in turn, accounts for vasodilation and cardioprotective effects. In the light of the above described properties, a number of clinical trials based on the consumption of cocoa and dark chocolate have been conducted in healthy subjects as well as in different categories of patients, such as those affected by cardiovascular, neurological, intestinal, and metabolic pathologies. Even if data are not always concordant, modifications of biomarkers of disease are frequently associated to improvement of clinical manifestations. Quite interestingly, following cocoa and dark chocolate ingestion, cocoa polyphenols also modulate intestinal microbiota, thus leading to the growth of bacteria that trigger a tolerogenic anti-inflammatory pathway in the host. Finally, many evidences encourage the consumption of cocoa and dark chocolate by aged people for the recovery of the neurovascular unit.

### **In vitro effects of nickel on healthy nNon-allergic peripheral blood mononuclear cells. The role of red grape polyphenols.**

Magrone T, Salvatore R, Spagnoletta A, Magrone M, Russo MA, Jirillo E.

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2017;17(2):166-173.

Nickel (Ni) is widely distributed in the environment and continuous exposure to this metal may lead to pathological manifestations, such as the human allergic contact dermatitis.

The in vitro effects of Ni on human healthy non allergic peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in the absence or presence of red grape polyphenols have been evaluated. In the culture supernatants, levels of cytokines have been determined by ELISA, while nitric oxide (NO) concentration has been evaluated by a colorimetric procedure.

Ni per se did not affect release of interferon- $\gamma$ , interleukin (IL)-4 and IL-10. Instead, this metal dramatically reduced production of IL-17 which was restored by the supplementation of polyphenols. Finally, while Ni significantly increased generation of NO, polyphenols reduced production of this compound.

Taken together, all these data may indicate a preventative role of polyphenols against Ni exposure in non allergic to Ni individuals, also confirming the immunomodulating role of these natural products. The interaction Ni/polyphenols/lipopolysaccharides will also be discussed.

### **Olive leaf extracts act as modulators of the human immune response.**

Magrone T, Spagnoletta A, Salvatore R, Magrone M, Dentamaro F, Russo MA, Difonzo G, Summo C, Caponio F, Jirillo E.

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2017 Nov 15. [Epub ahead of print]

Olive tree leaves have been used in the Mediterranean area as traditional medicine in virtue of their healthy effects. Olive leaf extracts (OLEs) contain higher amounts of polyphenols than those detected in the extra virgin olive oil and fruit. Several lines of evidence support the cardioprotective, anti-oxidant and anti-inflammatory activities exerted by OLEs.

Peripheral blood mononuclear cells from twenty-five healthy donors were cultured in the presence of 3 µg of two OLE extracts, extract A (resuspended in water) and extract B (resuspended in 70% ethanol). After harvesting, cell pellets were used for cytofluorimetric phenotyping, while supernatants were assayed for cytokine release by means of ELISA. Furthermore, in the same supernatants nitric oxide (NO) content was determined.

Both extracts, but especially extract A, increased absolute numbers of CD8<sup>+</sup> and natural killer (NK) cells. In addition, an increased production of interferon (IFN)-γ by both extracts as an expression of T helper (h)1 activation was observed. Finally, both extracts enhanced NO release.

OLEs, and mostly extract A, are able to in vitro modify healthy human immune response by increasing IFN-γ production which seems to be associated to the higher absolute numbers of CD8<sup>+</sup> and NK cells and this may suggest a reinforcement of the anti-tumor activity. Furthermore, increased levels of NO may indicate the potential cardioprotective effects exerted by OLEs in virtue of their vasodilation dependent activity. Finally, OLEs are able to maintain the equilibrium between T regulatory cells and Th17 cells as evidenced by unmodified levels of interleukin (IL)-IL-10 and IL-17, respectively. In the light of these results, OLEs are potential therapeutic compounds for the treatment of chronic inflammatory disease, also preventing cardiovascular event outcome.

### **Sirtuins 1-7 expression in human adipose-derived stem cells from subcutaneous and visceral fat depots: influence of obesity and hypoxia.**

Mariani S, Di Rocco G, Toietta G, Russo MA, Petrangeli E, Salvatori L.

Endocrine. 2017 Sep;57(3):455-463.

The sirtuin family comprises seven NAD<sup>+</sup>-dependent deacetylases which control the overall health of organisms through the regulation of pleiotropic metabolic pathways. Sirtuins are important modulators of adipose tissue metabolism and their expression is higher in lean than obese subjects. At present, the role of sirtuins in adipose-derived stem cells has not been investigated yet. Therefore, in this study, we evaluated the expression of the complete panel of sirtuins in adipose-derived stem cells isolated from both subcutaneous and visceral fat of non-obese and obese subjects. We aimed at investigating the influence of obesity on sirtuins' levels, their role in obesity-associated inflammation, and the relationship with the peroxisome proliferator-activated receptor delta, which also plays functions in adipose tissue metabolism. The mRNA levels in the four types of adipose-derived stem cells were evaluated by quantitative polymerase chain reaction, in untreated cells and also after 8 h of hypoxia exposure. Correlations among sirtuins' expression and clinical and molecular parameters were also analyzed. We found that sirtuin1-6 exhibited significant higher mRNA expression in visceral adipose-derived stem cells compared to subcutaneous adipose-derived stem cells of non-obese subjects. Sirtuin1-6 levels were markedly reduced in visceral adipose-derived stem cells of obese patients. Sirtuins' expression in visceral adipose-derived stem cells correlated negatively with body mass index and C-reactive protein and positively with peroxisome proliferator-activated receptor delta. Finally, only in the visceral adipose-derived stem cells of obese patients hypoxia-induced mRNA expression of all of the sirtuins. Our results highlight that sirtuins' levels in adipose-derived stem cells are consistent with protective effects against visceral obesity and inflammation, and suggest a transcriptional mechanism through which acute hypoxia up-regulates sirtuins in the visceral adipose-derived stem cells of obese patients.

### **The Italian version of the “frailty index” based on deficits in health: a validation study.**

Abete P, Basile C, Bulli G, Curcio F, Liguori I, Della-Morte D, Gargiulo G, Langellotto A, Testa G, Galizia G, Bonaduce D, Cacciatore F.

Several measurements were taken for frailty classification in geriatric population. "Frailty index" is based on "deficits in health," but it is still not available in Italian version. Thus, the aim of the present work was to validate a version of "frailty index" for the Italian geriatric community. The validation of Italian frailty index (IFi) is based on a cohort study that enrolled 1077 non-disabled outpatients aged 65 years or older ( $81.3 \pm 6.5$  years) in Naples (Italy). IFi has been expressed as a ratio of deficits present/deficits considered after a comprehensive geriatric assessment. IFi was stratified in light, moderate and severe frailty. Mortality, disability (considering an increase in ADL lost  $\geq 1$  from the baseline) and hospitalization were considered at 3, 6, 12, 18 and 24 months of follow-up. Area under curve (AUC) was evaluated for both Fried's and IFi frailty index. At the end of follow-up, mortality increased from 1.0 to 30.3%, disability from 40.9 to 92.3% and hospitalization from 0.0 to 59.0% ( $p < 0.001$  for trend). Multivariate analysis shows that the relative risk for unit increase in IFi is 1.09 (95% CI = 1.01-1.17,  $p = 0.013$ ) for mortality, 1.04 (95% CI = 1.01-1.06,  $p = 0.024$ ) for disability and 1.03 (95% CI = 1.01-1.07,  $p = 0.041$ ) for hospitalization. AUC is higher in IFi with respect to Fried's frailty index when considering mortality (0.809 vs. 0.658, respectively), disability (0.800 vs. 0.729, respectively) and hospitalization (0.707 vs. 0.646, respectively). IFi is a valid measure of frailty after the comprehensive geriatric assessment in an Italian cohort of non-institutionalized patients.

Acquaviva R, Genovese C, Amodeo A, Tomasello B, Malfa G, Sorrenti V, Tempera G, Addamo AP, Ragusa S, Rosa T, Menichini F, Di Giacomo C.

**Biological activities of *Teucrium flavum* L., *Teucrium fruticans* L., and *Teucrium siculum* Rafin crude extracts.**

Plant Biosystems – An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology. 2017 06/02:1-8.

The genus *Teucrium* (Lamiaceae) includes 300 species widespread all around the world, which are perennial herbs or shrubs commonly, named germanders. In Italy, *Teucrium flavum* L., *Teucrium fruticans* L., and *Teucrium siculum* Rafin are mostly present in Liguria, Sicily, and Sardegna. *Teucrium* species are characterized by mono and sesquiterpene hydrocarbons, flavonoids, fatty acid esters, and essential oils. Many species of this genus show antioxidant, antimicrobial, and antifungal activities, rendering them useful as natural preservative ingredients. In view of the interesting biological properties reported for *Teucrium* spp., in this study we determined the total phenol and flavonoid content of inflorescence extracts of *T. flavum* L., *T. fruticans* L., and *T. siculum* Rafin. In addition, we investigated the in vitro antioxidant and antibacterial activities of inflorescence extracts against pathogenic bacteria. Obtained results demonstrated that extracts had in vitro antioxidant activity and showed antimicrobial ability against Gram-positive and Gram-negative strains albeit with different effectiveness probably due to the different qualitative/quantitative composition of the extract also suggesting that these extracts might be useful in preventing several diseases in which oxidative stress may represent an important pathogenic mechanism.

**Desmoid tumors in familial adenomatous polyposis.**

De Marchis ML, Tonelli F, Quaresmini D, Lovero D, Della-Morte D, Silvestris F, Guadagni F, Palmirotta R.

Anticancer Res. 2017 Jul;37(7):3357-3366.

Familial adenomatous polyposis (FAP) is a cancer syndrome caused by a germline mutation in the adenomatous polyposis coli (APC) gene. It is characterized by the presence of hundreds of colonic polyps, which have a high tendency to undergo malignant transformation. Among associated lesions in FAP, desmoid tumors represent a common possible life-threatening condition that requires special attention. They are rare tumors occurring with a particularly high incidence in FAP, especially after surgery. In agreement with Knudson's 'two-hit' theory, the inactivation of the residual APC gene in FAP is a critical step in the development of both colorectal cancer and desmoids. Several lines of evidence show that germline mutations affect the functional domains of the APC gene that are responsible for interactions of the transcript with  $\beta$ -catenin, whereas somatic second mutations involve the downstream region of the gene. Hence, an understanding of the molecular pathways underlying desmoid progression in FAP could be important for research and a valid resource for the early prevention and tailored treatment of this disease. In this review,



we provide an updated insight into desmoids in FAP syndrome, from molecular pathogenesis to the main issues in management, with special attention given to genetic and molecular features of these tumors.

Dueker ND, Della-Morte D, Rundek T, Sacco RL, Blanton SH.

**Sickle cell trait and renal function in hispanics in the United States: the Northern Manhattan Study.**

Ethn Dis. 2017 Jan 19;27(1):11-14.

Sicklecell anemia (SCA) is a common hematological disorder among individuals of African descent in the United States; the disorder results in the production of abnormal hemoglobin. It is caused by homozygosity for a genetic mutation in HBB; rs334. While the presence of a single mutation (sickle cell trait, SCT) has long been considered a benign trait, recent research suggests that SCT is associated with renal dysfunction, including a decrease in estimated glomerular filtration rate (eGFR) and increased risk of chronic kidney disease (CKD) in African Americans. It is currently unknown whether similar associations are observed in Hispanics. Therefore, our study aimed to determine if SCT is associated with mean eGFR and CKD in a sample of 340 Dominican Hispanics from the Northern Manhattan Study. Using regression analyses, we tested rs334 for association with eGFR and CKD, adjusting for age and sex. eGFR was estimated using the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation and CKD was defined as eGFR < 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. Within our sample, there were 16 individuals with SCT (SCT carriers). We found that SCT carriers had a mean eGFR that was 12.12 mL/min/1.73m<sup>2</sup> lower than non-carriers (P=.002). Additionally, SCT carriers had 2.72 times higher odds of CKD compared with non-carriers (P=.09). Taken together, these novel results show that Hispanics with SCT, as found among African Americans with SCT, may also be at increased risk for kidney disease.

**Editorial: Non-Communicable Diseases: gender differences in therapy.**

Ferroni P.

Curr Med Chem. 2017;24(24):2559-2560.

**Oxidant stress as a major determinant of platelet activation in invasive breast cancer.**

Ferroni P, Santilli F, Cavaliere F, Simeone P, Costarelli L, Liani R, Tripaldi R, Riondino S, Roselli M, Davi G, Guadagni F.

Int J Cancer. 2017 Feb 1;140(3):696-704.

The hypothesis that increased oxidative stress in breast cancer (BC) patients could induce enhanced lipid peroxidation, which, in turn, would contribute to platelet activation and poor clinical outcome is attractive. To address this issue, we investigated pre-surgical urinary 8-iso-prostaglandin (PG)F<sub>2α</sub> (marker of in vivo oxidative stress) and 11-dehydro-thromboxane (TX)B<sub>2</sub> (marker of in vivo platelet activation) levels in patients with primary BC (n=115) compared with control women paired for comorbidities and their association with patients' metabolic profile and clinical prognostic factors. The results obtained showed that presurgical urinary excretion of both biomarkers was enhanced in BC patients compared to controls and was associated with patients' estrogen receptor (ER) expression, but not HER2 status or Ki67 proliferation index. Accordingly, both urinary biomarkers were increased in patients with luminal-like BC molecular subtypes compared with triple negative or HER2-enriched tumors. ER status was an independent predictor of 8-iso-PGF<sub>2α</sub> urinary levels, which, in turn, significantly predicted 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> urinary levels together with disease stage and ER status. The prognostic value of 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> was then evaluated showing a significant correlation with BC pathological response to neoadjuvant treatment. Furthermore, among relapsing patients, those with elevated urinary biomarker levels were more likely to develop distant metastasis rather than local recurrence. In conclusion, we may speculate that enhanced oxidative stress due to estrogen-related mechanisms might cause a condition of persistent platelet activation capable of sustaining BC growth and progression through the release of bioactive stored molecules, ultimately contributing to tumor invasiveness. Further studies specifically addressing this hypothesis are presently needed.

**Validation of a machine learning approach for venous thromboembolism risk prediction in oncology.**

Ferroni P, Zanzotto FM, Scarpato N, Riondino S, Guadagni F, Roselli M.

Dis Markers. 2017;2017:8781379. Epub 2017 Sep 17.

Using kernel machinelearning (ML) and random optimization (RO) techniques, we recently developed a set of venousthromboembolism (VTE) risk predictors, which could be useful to devise a web interface for VTE risk stratification in chemotherapy-treated cancer patients. This study was designed to validate a model incorporating the two best predictors and to compare their combined performance with that of the currently recommended Khorana score (KS). Age, sex, tumor site/stage, hematological attributes, blood lipids, glycemic indexes, liver and kidney function, BMI, performance status, and supportive and anticancer drugs of 608 cancer outpatients were all entered in the model, with numerical attributes analyzed as continuous values. VTE rate was 7.1%. The VTE riskprediction performance of the combined model resulted in 2.30 positive likelihood ratio (+LR), 0.46 negative LR (-LR), and 4.88 HR (95% CI: 2.54-9.37), with a significant improvement over the KS [HR 1.73 (95% CI: 0.47-6.37)]. These results confirm that a ML approach might be of clinical value for VTE risk stratification in chemotherapy-treated cancer outpatients and suggest that the ML-RO model proposed could be useful to design a web service able to provide physicians with a graphical interface helping in the critical phase of decision making.

### **Risk assessment for venous thromboembolism in chemotherapy-treated ambulatory cancer patients: amachine learning approach.**

Ferroni P, Zanzotto FM, Scarpato N, Riondino S, Nanni U, Roselli M, Guadagni F.  
Med Decis Making. 2017 Feb;37(2):234-242.

To design a precision medicine approach aimed at exploiting significant patterns in data, in order to produce venous thromboembolism (VTE) risk predictors for cancer outpatients that might be of advantage over the currently recommended model (Khorana score).

Multiple kernel learning (MKL) based on support vector machines and random optimization (RO) models were used to produce VTE risk predictors (referred to as machine learning [ML]-RO) yielding the best classification performance over a training (3-fold cross-validation) and testing set.

Attributes of the patient data set (n = 1179) were clustered into 9 groups according to clinical significance. Our analysis produced 6 ML-RO models in the training set, which yielded better likelihood ratios (LRs) than baseline models. Of interest, the most significant LR were observed in 2 ML-RO approaches not including the Khorana score (ML-RO-2: positive likelihood ratio [+LR] = 1.68, negative likelihood ratio [-LR] = 0.24; ML-RO-3: +LR = 1.64, -LR = 0.37). The enhanced performance of ML-RO approaches over the Khorana score was further confirmed by the analysis of the areas under the Precision-Recall curve (AUCPR), and the approaches were superior in the ML-RO approaches (best performances: ML-RO-2: AUCPR = 0.212; ML-RO-3-K: AUCPR = 0.146) compared with the Khorana score (AUCPR = 0.096). Of interest, the best-fitting model was ML-RO-2, in which blood lipids and body mass index/performance status retained the strongest weights, with a weaker association with tumor site/stage and drugs.

Although the monocentric validation of the presented predictors might represent a limitation, these results demonstrate that a model based on MKL and RO may represent a novel methodological approach to derive VTE risk classifiers. Moreover, this study highlights the advantages of optimizing the relative importance of groups of clinical attributes in the selection of VTE risk predictors.

### **Biological and predictive role of ERCC1 polymorphisms in cancer.**

Formica V, Doldo E, Antonetti FR, Nardecchia A, Ferroni P, Riondino S, Morelli C, Arkenau HT, Guadagni F, Orlandi A, Roselli M.  
Crit Rev Oncol Hematol. 2017 Mar;111:133-143.

Excision repair cross-complementation group 1 (ERCC1) is a key component in DNA repair mechanisms and may influence the tumor DNA-targeting effect of the chemotherapeutic agent oxaliplatin. Germline ERCC1 polymorphisms may alter the protein expression and published data on their predictive and prognostic value have so far been contradictory. In the present article we review available evidence on the clinical role and utility of ERCC1 polymorphisms and, in the absence of a 'perfect' trial, what we call the 'sliding doors' trial, we present the data of ERCC1 genotyping in our local patient population. We found a useful predictive value for oxaliplatin-induced risk of anemia.

### **Clinical significance of glycemic parameters on venous thromboembolism risk prediction in gastrointestinal cancer.**

Guadagni F, Riondino S, Formica V, Del Monte G, Morelli AM, Lucchetti J, Spila A, D'Alessandro R, Della-Morte D, Ferroni P, Roselli M.  
World J Gastroenterol. 2017 Jul 28;23(28):5187-5195.

To investigate the possible predictive role of routinely used glycemic parameters for a first venous thromboembolism (VTE) episode in gastrointestinal (GI) cancer ambulatory patients - with or without clinically diagnosed type 2 diabetes (T2D) or obesity - treated with chemotherapy. Pre-treatment fasting blood glucose, insulin, glycated hemoglobin (HbA1c) and homeostasis model of risk assessment (HOMA) were retrospectively evaluated in a cohort study of 342 GI cancer patients. Surgery was performed in 142 (42%) patients with primary cancer, 30 (21%) and 112 (79%) of whom received neoadjuvant and adjuvant therapies, respectively. First-line chemotherapy was administered in 200 (58%) patients with metastatic disease. The study outcome was defined as the occurrence of a first symptomatic or asymptomatic VTE episode during active treatment. Impaired glucose tolerance (IGT) or T2D were diagnosed in 30% of GI cancer patients, while overweight/obesity had an incidence of 41%. VTE occurred in 9.4% of patients (7% of non-diabetic non-obese), especially in those with a high ECOG score ( $P = 0.025$ ). No significant association was found between VTE incidence and T2D, obesity, different tumor types, metastatic disease, Khorana class of risk, or different anti-cancer drugs, although VTE rates were substantially higher in patients receiving bevacizumab (17% vs 8%,  $P = 0.044$ ). Conversely, all glucose metabolic indexes were associated with increased VTE risk at ROC analysis. Multivariate Cox proportional analyses confirmed that HOMA index (HR = 4.13, 95%CI: 1.63-10.5) or fasting blood glucose (HR = 3.56, 95%CI: 1.51-8.39) were independent predictors of VTE occurrence during chemotherapy.

The results here reported demonstrate that evaluating glucose metabolic asset may allow for VTE risk stratification in GI cancer, helping to identify chemotherapy-treated patients who might benefit from thromboprophylaxis. Further multicenter prospective studies involving a larger number of patients are presently needed.

### **Interruption of perivascular sympathetic nerves of cerebral arteries offers neuroprotection against ischemia.**

Lee RH, Couto E Silva, Lerner FM, Wilkins C, Valido SE, Klein DD, Wu CY, Neumann JT, Della-Morte D, Koslow SH, Minagar A, Lin HW.  
Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2017 Jan 1;312(1):H182-H188. Epub 2016 Nov 18.

Sympathetic nervous system activity is increased after cardiopulmonary arrest, resulting in vasoconstrictor release from the perivascular sympathetic nerves of cerebral arteries. However, the pathophysiological function of the perivascular sympathetic nerves in the ischemic brain remains unclear. A rat model of global cerebral ischemia (asphyxial cardiac arrest, ACA) was used to investigate perivascular sympathetic nerves of cerebral arteries via bilateral decentralization (preganglionic lesion) of the superior cervical ganglion (SCG). Decentralization of the SCG 5 days before ACA alleviated hypoperfusion and afforded hippocampal neuroprotection and improved functional outcomes. These studies can provide further insights into the functional mechanism(s) of the sympathetic nervous system during ischemia. Interruption of the perivascular sympathetic nerves can alleviate CA-induced hypoperfusion and neuronal cell death in the CA1 region of the hippocampus to enhance functional learning and memory.

### **Sex-genetic interaction in the risk for cerebrovascular disease.**

Pastore D, Pacifici F, Capuani B, Palmirotta R, Dong C, Coppola A, Abete P, Roselli M, Sbraccia P, Guadagni F, Lauro D, Rundek T, Della-Morte D.  
Curr Med Chem. 2017;24(24):2687-2699.

Cerebrovascular disease (CeVD) is one of the major causes of death and a leading cause of disability worldwide. CeVD is a complex and multifactorial disease caused by the interaction of environment and genetic factors. Women have lower CeVD incidence than men until an advanced age, when the incidence of

CeVD rises dramatically in women. Therefore, sex has been validated as an important risk factor in the etiology of CeVD, especially ischemic stroke. Although the importance of sex steroids have been heavily studied in the mechanism of neuronal injury, the experimental and clinical data suggest that hormones do not fully account for male versus female CeVD patterns. Sex-specific genetic processes have been implicated in the different rate of risk for atherosclerosis and CeVD. In this review, we discuss sex-specific CeVD processes, describe the hormonal impact on the risk for CeVD, the results from studies in transgenic animals, and from human genetic studies. Moreover, heritability of ischemic stroke in women and men as well as identification of possible sex-specific biomarkers for CeVD are discussed. Understanding the complex interactions between hormonal and genetic mechanisms in the CeVD risk will allow for new sex-specific approaches in disease treatment and prevention in clinical practice.

### **Gender differences in cancer-associated venous thromboembolism.**

Riondino S, Guadagni F, Formica V, Ferroni P, Roselli M.  
Curr Med Chem. 2017;24(24):2589-2601.

Venous thromboembolism (VTE) is a commonly diagnosed multifactorial condition with significant morbidity and mortality, occurring in up to 20% of cancer patients. Indeed, patients with cancer are in a higher pro-thrombotic state due to alterations in their haemostatic- coagulative system, stasis and blood flow slowdown, endothelial dysfunction, vascular inflammation and platelet activation. Moreover, several cancer-dependent factors can sum up to trigger a first episode of VTE or to cause its recurrence in the course of anticoagulant treatment. Such a pro-thrombotic condition is further worsened by additional favoring risks such as immobilization, infection, surgery, or insertion of a central venous catheter, and anti-cancer therapy. Furthermore, in the secondary prevention setting, the anticoagulant therapy is accompanied by a high incidence of bleeding complications. Given the above, understanding and identifying the factors associated with the incidence and clinical outcome of VTE in cancer patients might be of great value in the prevention and management of VTE attributable complications, including death. Differences associated to gender on cancer-related VTEs are not yet fully defined; many of the studies that addressed the question have been biased by erroneous/non homogeneous inclusion criteria. In the present review, we analyzed the potential differences in VTEs occurrence in cancer patients, by reporting the most significant findings in the recent literature. The identification of a differential clinical approach according to patient sex, might prompt the design of personalized treatment options tailored and optimized according to algorithms for oncological VTE prevention.

### **Anti-angiogenic drugs, vascular toxicity and thromboembolism in solid cancer.**

Riondino S, Monte GD, Fratangeli F, Guadagni F, Roselli M, Ferroni P.  
Cardiovasc Hematol Agents Med Chem. 2017;15(1):3-16.

Neo-angiogenesis, a key step in cancer progression, is a highly regulated process, in which Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) plays a fundamental role, thus representing the most suitable anti-angiogenic target. In the last year, a number of anti-VEGF drugs have been developed and approved for therapeutic use, especially in combination with standard chemotherapy. VEGF, however, is not only crucial for physiological and pathological angiogenesis, but also for the maintenance of vascular homeostasis, at a point that its pharmacological blockade may lead to endothelial dysfunction and adverse vascular effects, such as venous thromboembolism. The picture is further complicated by the understanding that the amount of VEGF production is influenced by genetic factors, with environmental ones accounting only for 20-30% of its variations. This has recently prompted the design of various pharmacogenetic studies to investigate the role of VEGF polymorphisms in determining the pharmacological response and safety profile of various anti-angiogenic drugs, suggesting that the analysis of VEGF genetic variants in cancer patients may further help personalize anti-angiogenic pharmacological strategies. In this review, we initially focused on the biological mechanisms involved in vascular maintenance and angiogenesis. Then, discussed the efficacy and toxicity profile of some of the antiangiogenic drugs most commonly used in the treatment of solid cancer, with a particular focus on the thromboembolic complications of anti-angiogenic treatments in cancer patients. Finally, the impact of VEGF gene polymorphisms on clinical outcome and toxicity was briefly reviewed.

### **Ketogenic diet and other dietary intervention strategies in the treatment of cancer.**

Vergati M, Krasniqi E, Monte GD, Riondino S, Vallone D, Guadagni F, Ferroni P, Roselli M. *Curr Med Chem.* 2017;24(12):1170-1185.

Pre-clinical and clinical studies have investigated the role of a dysregulated metabolism in the sustainability of tumor initiation and progression. One of the most familiar metabolic alterations encountered in several types of cancers is the upregulation of glycolysis, which is also maintained in conditions of normal oxygen tension (aerobic glycolysis, Warburg effect) while oxidative phosphorylation is apparently reduced. As a result, cancer cells convert most incoming glucose to lactate. Although more rapid, adenosine triphosphate (ATP) production by glycolysis is less efficient in terms of ATP generated per unit of glucose consumed than oxidative phosphorylation. The consequence is that tumor cells require an abnormally higher rate of glucose compared to the normal counterpart. New evidence shows that other metabolic substrates such as glutamine may also have an important role in cancer metabolism. Ketogenic diet (KD) replaces all but non-starchy vegetable carbohydrates with low to moderate amounts of proteins and high amounts of monounsaturated and polyunsaturated fats. The rationale of KD is valid both because it lowers carbohydrate uptake possibly leading to cancer cell starvation and apoptosis and, at the same time, increases the levels of ketone bodies available for energy production in normal cells but not in cancer cells which have an allegedly downregulated oxidative phosphorylation. For this reason, several authors speculate on the possibility to evaluate KD as a novel approach in the treatment of cancer. In this review we will assess the data supporting the use of such alimentary regimen and its impact on tumor development and progression.

### **Aree di Ricerca di Epidemiologia Clinica e Molecolare e di Pneumologia Riabilitativa**

**Reply to the letter by Omland et al.: “Visual and auditory cortical evoked potentials in interictal episodic migraine: The predictive value of a proposed diagnostic test should always be corrected for prevalence”.**

Ambrosini A, Kisialiou A, Schoenen J.

*Cephalalgia.* 2017 Jan 1:333102417695796. [Epub ahead of print]

### **Epidemiology of environmental exposure and malignant mesothelioma.**

Liu B, van Gerwen M, Bonassi S, Taioli E; International Association for the Study of Lung Cancer Mesothelioma Task Force.

*J Thorac Oncol.* 2017 Jul;12(7):1031-1045.

Although the association between exposure to asbestos and malignant mesothelioma (particularly malignant pleural mesothelioma) has been well established, the health impact of environmental exposure (EE) to asbestos has been less studied. This review summarizes the most recent studies on the association between malignant mesothelioma and EE with asbestos to identify features associated with EE and quantify the association with malignant mesothelioma. There were 44 studies from 18 countries that met our selection criteria, with a considerable amount of heterogeneity in their study design, measures of exposure, and health outcomes. The male-to-female ratio was close to or less than 1 and generally lower than the ratio reported when both occupational and environmental exposures were considered. Although recent studies have continued to improve our understanding of environmental exposure to asbestos, challenges remain. We have highlighted a few new research directions, such as a need for reliable matrices to identify common and less recognized types of EE, asbestos biomarker studies specifically focusing on EE, and research on populations and geographic areas that have not been previously studied.

### **3-(2-deoxy-β-d-erythro-pentafuranosyl)pyrimido[1,2-a]purin-10(3H)-one deoxyguanosine adducts of workers exposed to asbestos fibers.**

Bonassi S, Cellai F, Munnia A, Ugolini D, Cristaudo A, Neri M, Milić M, Bonotti A, Giese RW, Peluso ME.

*Toxicol Lett.* 2017 Feb 7;270:1-7. [Epub ahead of print]

Asbestos is the commercial name for a group of silicate minerals naturally occurring in the environment and widely used in the industry. Asbestos exposure has been associated with pulmonary fibrosis, mesothelioma, and malignancies, which may appear after a period of latency of 20-40 years. Mechanisms involved in the

carcinogenic effects of asbestos are still not fully elucidated, although the oxidative stress theory suggests that phagocytic cells produce large amounts of reactive oxygen species, due to their inability to digest asbestos fiber. We have conducted a mechanistic study to evaluate the association between 3-(2-deoxy- $\beta$ -D-erythro-pentafuranosyl)pyrimido[1,2- $\alpha$ ]purin-10(3H)-one deoxyguanosine (M1dG) adducts, a biomarker of oxidative stress and lipid peroxidation, and asbestos exposure in the peripheral blood of 327 subjects living in Tuscany and Liguria, Italy, stratified by occupational exposure to asbestos. Adduct frequency was significantly greater in exposed subjects with respect to the controls. M1dG per 108 normal nucleotides were  $4.0 \pm 0.5$  (SE) in 156 asbestos workers, employed in mechanic, naval, petrochemical, building industries, and in pottery and ceramic plants, versus a value of  $2.3 \pm 0.1$  (SE) in 171 controls ( $p < 0.001$ ). After stratification for occupational history, the effects persisted in 54 current asbestos workers, mainly employed in building renovation industry ( $2.9 \pm 0.3$  (SE)), and in 102 former asbestos workers ( $4.5 \pm 0.7$  (SE)), with p-values of 0.033, and  $< 0.001$ , respectively. A significant effect of smoking on heavy smokers was found ( $p = 0.005$ ). Our study gives additional support to the oxidative stress theory, where M1dG may reflect an additional potential mechanism of asbestos-induced toxicity.

### **MUC1, MUC5AC, and MUC6 polymorphisms, Helicobacter pylori infection, and gastric cancer: a systematic review and meta-analysis.**

Giraldi L, Michelazzo MB, Arzani D, Persiani R, Pastorino R, Boccia S.  
Eur J Cancer Prev. 2017 May 1. [Epub ahead of print]

The risk of *Helicobacter pylori* (HP) infection, as well as gastric cancer (GC), in association with genetic polymorphisms of gene encoding for mucins, has been investigated with contradictory results. We carried out this systematic review and meta-analysis to summarize the relationship between MUC1, MUC5AC, and MUC6 polymorphisms and HP infection, as well as GC risk. We searched MEDLINE, ISI Web of Science, Scopus bibliographic databases and the HuGE Navigator database. Odds ratios (ORs) and 95% confidence interval (CI) were calculated to assess the association between the genetic polymorphisms, and HP/GC risk. A random-effect model was used to calculate the pooled ORs, overall and by ethnicity. Twenty-one studies were included, of which five on HP and 18 on GC, of which two were in common. The meta-analysis of 10 studies on the MUC1 rs4072037 polymorphism and GC risk reported an OR of 0.66 (95% CI: 0.57-0.78) for the dominant model (AG/GG vs. AA). When stratifying for ethnicity, an OR of 0.73 (95% CI: 0.62-0.86) was reported for the Asian population and an OR of 0.48 (95% CI: 0.38-0.61) was reported for the White population. Our study confirms the protective effect of MUC1 rs4072037 polymorphism on the risk of GC under the dominant model. Further studies reporting information on HP status in cases and controls would be required to evaluate whether the protective effect of MUC1 protein might be attributable to a protective effect towards the HP infection, or through different mechanisms.

### **Cytotoxicity, genotoxicity and gene expression changes elicited by exposure of human hepatic cells to Ginkgo biloba leaf extract.**

Grollino MG, Raschellà G, Cordelli E, Villani P, Pieraccioli M, Paximadas I, Malandrino S, Bonassi S, Pacchierotti F.  
Food Chem Toxicol. 2017 Sep 22;109(Pt 1):486-496.

The use of *Ginkgo biloba* leaf extract as nutraceutical is becoming increasingly common. As a consequence, the definition of a reliable toxicological profile is a priority for its safe utilization. Recently, contrasting data have been reported on the carcinogenic potential of *Ginkgo biloba* extract in rodent liver. We measured viability, Reactive Oxygen Species (ROS), apoptosis, colony-forming efficiency, genotoxicity by comet assay, and gene expression changes associated with hepato-carcinogenicity in human cells of hepatic origin (HepG2 and THLE-2) treated with different concentrations (0.0005-1.2 mg/mL) of Ginkgoselect®Plus. Our analyses highlighted a decrease of cell viability, not due to apoptosis, after treatment with high doses of the extract, which was likely due to ROS generation by a chemical reaction between extract polyphenols and some components of the culture medium. Comet assay did not detect genotoxic effect at any extract concentration. Finally, the array analysis detected a slight decrease in the expression of only one gene (IGFBP3) in *Ginkgo*-treated THLE-2 cells as opposed to changes in 28 genes in Aflatoxin B1 treated-cells. In conclusion, our results did not detect any significant genotoxic or biologically relevant cytotoxic effects and gross changes in gene expression using the *Ginkgo* extract in the hepatic cells tested.

### **Metabolic disorder in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) Patients: towards a personalized approach using marine drug derivatives.**

Lamonaca P, Prinzi G, Kisiliaou A, Cardaci V, Fini M, Russo P.

Mar Drugs. 2017 Mar 20;15(3).

Metabolic disorder has been frequently observed in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients. However, the exact correlation between obesity, which is a complex metabolic disorder, and COPD remains controversial. The current study summarizes a variety of drugs from marine sources that have anti-obesity effects and proposed potential mechanisms by which lung function can be modulated with the anti-obesity activity. Considering the similar mechanism, such as inflammation, shared between obesity and COPD, the study suggests that marine derivatives that act on the adipose tissues to reduce inflammation may provide beneficial therapeutic effects in COPD subjects with high body mass index (BMI).

### **The influence of thermal comfort on the quality of life of nursing home residents.**

Mendes A, Papoila AL, Carreiro-Martins P, Aguiar L, Bonassi S, Caires I, Palmeiro T, Ribeiro AS, Neves P, Pereira C, Botelho A, Neuparth N, Teixeira JP.

J Toxicol Environ Health A. 2017;80(13-15):729-739.

Thermal comfort (TC) parameters were measured in 130 rooms from nursing homes (NH), following ISO 7730:2005 in order to evaluate the influence of winter season TC indices on quality of life (QoL) in older individuals. Mean radiant temperature (mrT), predicted mean vote (PMV) and predicted percent of dissatisfied people (PPD) indices, and the respective measurement uncertainties were calculated using Monte Carlo Method. The WHOQOL-BREF questionnaire was conducted from September 2012 to April 2013, during the winter season TC sampling campaign. Winter PMV and PPD indices showed significant differences between seasons in median values for comfort. There were also significant differences between seasons for air temperature, air velocity, mrT, and relative humidity. The winter PMV index displayed a "slightly cool" [ $\leq -1$ ] to "cool" [ $\leq -2$ ] in thermal sensation scale [-3 to 3]. PPD index reflected this discomfort as evidenced by a high rate of predicted dissatisfied occupants (64%). The influence of winter season TC on older individual QoL results demonstrated that values of PMV above -0.7 had higher mean score of QoL (coefficient estimate: 11.13 units) compared with values of PMV below -0.7. These findings are of relevance to public health and may be useful for understanding NH indoor environment variables thus implementing preventive policies in terms of standards and guidelines for these susceptible populations.

### **Effect of alcohol dehydrogenase-1B and -7 polymorphisms on blood ethanol and acetaldehyde concentrations in healthy subjects with a history of moderate alcohol consumption.**

Pastorino R, Iuliano L, Vecchioni A, Arzani D, Milic M, Annunziata F, Zerbinati C, Capoluongo E, Bonassi S, McKay JD, Boccia S.

Drug Test Anal. 2017 Jul 21. [Epub ahead of print]

This study aims to evaluate the effect of ADH1B and ADH7 genotypes on blood acetaldehyde and ethanol levels after alcohol ingestion, and to measure the genotoxic effect of smoking and ethanol on the buccal cells, also controlling for ADH variants. We recruited healthy Italian subjects with at least a moderate history of alcohol consumption. All subjects were given an alcoholic drink of 0.4 g ethanol /kg of body weight. Blood venous samples were collected at baseline, and 30, 60, 90, and 120 minutes after ingestion. Buccal cells were collected before ethanol ingestion. Sixty subjects were enrolled in the study. Individuals with the ADH1B GG genotype had median ethanol levels of 5.0mM (IQR 3.4-7.2), and those with the ADH1B GT/TT genotype had 4.7mM (IQR 4.2-4.8). Corresponding acetaldehyde levels were 1.5 $\mu$ M (IQR 0.7-2.6) for ADH1B GG genotype and 1.6 $\mu$ M (IQR 1.5-1.7) for ADH1B CG/GG genotype. Individuals with the ADH7 CC genotype had median ethanol levels of 5.0mM (IQR 3.3-7.2), while 5.0mM (IQR 4.7-5.6) was in those with the ADH7 CG/GG genotype. Corresponding acetaldehyde levels were 1.5  $\mu$ M (IQR 0.7-2.6) for ADH7 CC genotype and 1.5  $\mu$ M (IQR 1.4-1.6) for ADH7 CG/GG genotypes. A non-significant increase in the frequency of karyolytic and pyknotic cells was found in the group of heavy drinkers and current smokers, when compared to the moderate drinkers and the non-smokers. Our study does not support the hypothesis that ADH1B and ADH7 genotypes affect blood ethanol and acetaldehyde concentration.

### **Asthma and gender: The female lung.**

Pignataro FS, Bonini M, Forgione A, Melandri S, Usmani OS.  
Pharmacol Res. 2017 May;119:384-390. Epub 2017 Feb 24.

Asthma is a common chronic disease that affects over 300 million people worldwide, resulting in a considerable socio-economic burden. Literature data suggest that asthma has a higher incidence in females, particularly at certain stages of pubertal development. Moreover, women seem to experience more asthma symptoms than men and to use more rescue medications, resulting in a reduced quality of life. Although several mechanisms have been proposed to explain these differences, there are not yet final data available in the literature on the role of gender in the pathogenesis of asthma and different behavior in females. Some study suggested a more prevalent hyper-responsiveness in women than in men. Nevertheless, in the literature definitive data on a possible different response to drugs used for asthma between males and females are not described. Understanding the mechanisms that underlie these gender differences in clinical history of asthma patients could give inspiration to new areas of research to obtain a more specific diagnostic and therapeutic approach gender-oriented.

### **Action plans and coping strategies in elderly COPD patients influence the result of pulmonary rehabilitation: an observational study.**

Russo P, Prinzi G, Kisialiou A, Cardaci V, Stirpe E, Conti V, Fini M, Bonassi S.  
Eur J Phys Rehabil Med. 2017 Apr 14. [Epub ahead of print]

COPD management needs a comprehensive assessment of clinical features (symptoms severity, comorbidities) together with life-style, behavioural, socio-economic and multi-omics parameters. Among the other issues, psycho-cognitive assessment plays a critical role. Coping strategies are used to manage psychological stress.

The aim of the study is to evaluate the association between coping strategies and outcome of Pulmonary Rehabilitation (PR).

This is an Observational study. Inpatients comprehensive 3 weeks PR programme. Seventy-six patients, 70 years or older affected by COPD GOLD 3-4 were enrolled. Disease-specific status was examined using the Medical Research Council Dyspnea Scale, St. George's Respiratory Questionnaire, Mageri Respiratory Failure, Borg And Barthel Scales. Cognitive And Psychological Clinical Alterations/Disorders Using: Mini-Mental State Examination; Montreal Cognitive Assessment; Center for Epidemiologic Studies Depression Scale; Zung Self-Rating Anxiety Scale. Quality of Life Using Activities of Daily Living; Instrumental Activities of Daily Living; 36-Item Short Form Health Survey General and Mental Health. Functional exercise capacity was measured at baseline and after PR using the Six-Minute Walking Test (6MWT). Coping strategies were measured with the Brief COPE. Internal consistency was determined examining Cronbach's  $\alpha$  values. Concurrent validity was determined by examining Spearman  $r$  correlations between the single-item and multi-items. Brief-COPE scores after PR between patients who had a different response to respiratory outcomes was evaluated using Student's  $t$  and Mann-Whitney  $U$  tests.

The change in distance (Delta6MWD) between final and baseline value in meters was positively associated with Self-distraction, Active Coping, and Planning strategies. Respiratory disease-specific health status outcomes, as well as the presence of use of long-term oxygen therapy, were not associated with coping strategies.

Self-distraction and Planning strategies are associated to the success of rehabilitation.

Self-distraction and Planning strategies may predict response to pulmonary rehabilitation in elderly patients affected by severe COPD.

### **Oxidative stress, genomic features and DNA repair in frail elderly: a systematic review.**

Sánchez-Flores M, Marcos-Pérez D, Costa S, Teixeira JP, Bonassi S, Pásaro E, Laffon B, Valdíglesias V.

Ageing Res Rev. 2017 May 6;37:1-15. [Epub ahead of print]



Frailty is an emerging geriatric syndrome characterized by higher vulnerability to stressors, with an increased risk of adverse health outcomes such as mortality, morbidity, disability, hospitalization, and institutionalization. Although it is generally recognized to have a biological basis, no particular biological trait has been consistently associated to frailty status so far. In this work, epidemiological studies evaluating association of frailty status with alterations at cellular level - namely oxidative stress, genomic instability and DNA damage and repair biomarkers - were revised and compared. A total of 25 studies fulfilled inclusion/exclusion criteria and, consequently, were included in the review. Variations of oxidative stress biomarkers were often associated to frailty status in older people. On the contrary, genomic instability seems not to be linked to frailty. The only study which addressed the possible relationship between DNA repair modulations and frailty status also failed in finding association. Despite the large number of cellular alterations known to be associated with frailty, studies on this issue are still very scarce and limited to some of the possible cellular targets. The established link between DNA repair, genomic instability, and age and age-related disorders, encourage deeper investigations on this line.

### **Inhaled nebulised unfractionated heparin improves lung function in moderate to very severe COPD: a pilot study.**

Shute JK, Calzetta L, Cardaci V, di Toro S, Page CP, Cazzola M.  
Pulm Pharmacol Ther. 2017 Oct 3. [Epub ahead of print]

COPD is an inflammatory airway disease characterised by progressive airflow limitation and air trapping, leading to lung hyperinflation and exercise limitation. Acute worsening of symptoms, including dyspnea, cough and sputum production, occurs during exacerbations which are associated with significantly reduced health related quality of life, and increased morbidity and mortality. Chronic bronchial mucus production and productive cough are risk factors for exacerbations. Medicines targeting bronchoconstriction and airway inflammation are the current mainstays of COPD therapy. However, there is growing concern with an increased risk of pneumonia in patients with COPD receiving regular inhaled corticosteroids and there is therefore a need to find safer alternative treatments. Previous studies have indicated that inhalation of unfractionated heparin (UFH) treats local inflammation, mucus hypersecretion and lung injury, without systemic anticoagulation, and is safe. Therefore, our primary objective was to demonstrate that inhaled UFH significantly improves lung function (FEV1) over 21 days of treatment in patients with COPD receiving pulmonary rehabilitation and that UFH provides a novel, safe and effective way of treating this complex disease.

Forty patients with moderate to very severe COPD admitted to the IRCCS San Raffaele Pisana Hospital for 21 days pulmonary rehabilitation were randomised to receive nebulised inhaled UFH (75,000 or 150,000 IU BID) or placebo for 21 days. All patients also received nebulised salbutamol (1 mg) and beclomethasone dipropionate (400 µg) BID over the same period. Lung function was measured at day 0, 7, 14 and 21 of treatment and at a follow-up visit 7 days post-treatment. Exercise capacity (6MWT) and dyspnoea (Borg score) were measured before and after treatment. In pre-clinical studies, the ability of basic proteins found in COPD sputum to neutralise the anticoagulant activity of heparin was determined using the AMAX heparin assay kit.

At both doses, UFH significantly increased FVC following 7 days of treatment and 150,000 IU BID significantly increased FEV1 (+249 ± 69 ml compared with placebo) at this time, an effect maintained to the 28 day follow-up. Clinically significant improvement in exercise capacity and dyspnoea were seen after 21 days of treatment with both doses of UFH. There were no serious adverse events or effects on systemic coagulation. Pre-clinical studies demonstrated that the basic proteins lactoferrin, platelet factor-4 (PF-4), IL-8 and polyarginine, as a model of the eosinophil cationic protein (ECP), found in COPD sputum neutralise the anticoagulant activity of heparin.

Inhaled nebulised UFH is safe and provides additional clinical benefit for patients with moderate to very severe COPD through effects that are independent of its anticoagulant activity.

### **Adherence to Mediterranean diet and risk of gastric cancer: results of a case-control study in Italy.**

Stojanovic J, Giraldi L, Arzani D, Pastorino R, Biondi A, Persiani R, Boccia S, Leoncini E.  
Eur J Cancer Prev. 2017 Nov;26(6):491-496.

The aim of this study is to evaluate the association between adherence to Mediterranean diet (MD) and gastric cancer (GC). A case-control study was carried out at the Fondazione Policlinico 'A. Gemelli' (Rome, Italy) from 2003 to 2015. A total of 223 incident cases and 223 controls were interviewed. Dietary intake was assessed through a validated food frequency questionnaire that collected information on more than 25 food items. The association between adherence to MD and risk of GC was quantified by calculating Odds Ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI). The analysis reports that a higher adherence to MD is associated with a reduced risk of GC (OR: 0.70; 95% CI: 0.61-0.81). A high consumption of vegetables (OR: 0.34; 95% CI: 0.14-0.85), legumes (OR: 0.13; 95% CI: 0.06-0.29), and fish (OR: 0.33; 95% CI: 0.15-0.68), as well as low consumption of meat (OR: 0.29; 95% CI: 0.10-0.85) and alcohol (OR: 0.46; 95% CI: 0.24-0.90) are consistently related to a lower risk of GC. Our study indicates a protective role of the MD eating pattern and MD individual components against GC. Our results showed a beneficial role of high vegetable, legume, and fish consumption, along with low intake of alcohol and meat in the development of GC.

### **Chronic obstructive pulmonary disease and long-term mortality in elderly subjects with chronic heart failure.**

Testa G, Cacciatore F, Bianco A, Della-Morte D, Mazzella F, Galizia G, Gargiulo G, Curcio F, Liguori I, Sabusco A, Rengo F, Bonaduce D, Abete P.  
Aging Clin Exp Res. 2017 Feb 21. [Epub ahead of print]

Chronic heart failure (CHF) and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) are associated with high rates of mortality in elderly subjects. Concurrent CHF and COPD frequently occur, especially in with advancing age. This study examines long-term mortality in community-dwelling elderly subjects affected by CHF alone, COPD alone, and coexistent CHF and COPD.

The study evaluated 12-years mortality in 1288 subjects stratified for the presence or absence of CHF or COPD alone, and for coexistence of CHF and COPD.

Mortality, at 12 year follow-up, was 46.7% overall, 68.6% in the presence of CHF alone ( $p < 0.001$ ), 56.9% in the presence of COPD alone ( $p < 0.01$ ); mortality was 86.2% where CHF and COPD coexisted ( $p < 0.001$ ) and was significantly higher than in CHF or COPD alone ( $p < 0.05$ ). Multivariate analysis indicates that CHF (Hazard risk = 1.67, 95% confidence interval 1.15-3.27,  $p < 0.031$ ) and COPD (Hazard risk = 1.27, 95% confidence interval = 1.08-1.85,  $p < 0.042$ ) were predictive of long-term mortality. When CHF and COPD simultaneously occurred, the risk dramatically increased up to 3.73 (95% confidence interval = 1.19-6.93,  $p < 0.001$ ).

Long-term follow-up showed higher mortality among elderly subjects affected by CHF or COPD. Simultaneous presence of CHF and COPD significantly increased the risk of death. Therefore, the presence of COPD in CHF patients should be considered a relevant factor in predicting high risk of mortality.

## **LINEA 3**

**Sviluppo di sistemi innovativi per il monitoraggio ed il controllo della risposta al trattamento riabilitativo**

---

## **AREA DI RICERCA DI RIABILITAZIONE NEUROMOTORIA E ROBOTICA RIABILITATIVA - LABORATORIO DI BIOINGEGNERIA DELLA RIABILITAZIONE**

### *Analisi multimodale delle caratteristiche dinamiche, cinematiche ed elettrofisiologiche del cammino*

Il movimento è una funzione organica indispensabile per la crescita e l'evoluzione dell'uomo. Dalla nascita in poi, si manifesta attraverso una serie di atti motori dapprima riflessi e poi progressivamente controllati, intenzionali e automatizzati; atti che si modificano nel tempo, adattandosi a differenti situazioni socio-culturali e ambientali, e vanno a costituire la gestualità dell'uomo, mezzo privilegiato di interrelazione con il mondo.

Il progetto si prefigge di individuare pattern specifici neuro-fisiologici tratti dall'EMG al fine di individuare fattori prognostici rispetto al recupero del cammino.

Sono stati reclutati 20 soggetti sani, 10 con età maggiore di 65 anni e 10 con età minore di 40 anni. I soggetti hanno eseguito 2 task motori: in piedi ad occhi aperti e una serie di 10 passi a velocità confortevole (self-paced). Durante il protocollo sperimentale sono stati acquisiti i dati elettromiografici (EMG) grazie ad un sistema (BTS FREEEMG 300) che utilizza elettrodi attivi di superficie posti, in questo caso, su otto muscoli degli arti inferiori (Gastrocnemius Medialis, Rectus Femoris, Biceps Femoris, Tibialis Anterior di entrambi gli arti), due elettrogoniometri posizionati sull'articolazione del ginocchio e un sensore inerziale (BTS G-SENSOR) connesso via bluetooth ad un computer di acquisizione e sincronizzazione.

Questi risultati consentono la definizione di un paradigma motorio elettrofisiologico specifico che si declina durante la fase di stance e di swing in modo stabile e utilizzabile. Questa ricerca viene quindi proposta come piattaforma di conoscenza per l'osservazione dei processi muscolari valutati mediante elettromiografia di superficie con lo scopo di comprendere i fenomeni patologici alla luce dei paradigmi fisiologici definiti solidamente dall'analisi riportata. L'analisi statistica, infatti, ha mostrato come soggetti sani producano modelli riproducibili simili in giovani e anziani ma, si può ritenere che in condizioni di aumento della domanda muscolare, come durante la camminata veloce o non sicura, l'attivazione delle fibre coinvolte possa essere di diversa rispetto all'età, caratteristiche fisiche e condizione fisica del soggetto. La validità del protocollo utilizzato è dimostrata dalla solidità dei risultati ottenuti dal punto di vista cinematico ed elettrofisiologico, la sua potenzialità risiede nel carattere non invasivo e non operatore dipendente.

### *Studio della Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) attraverso il danno ossidativo al DNA (Comet Assay)*

La BPCO è una malattia progressiva e complessa caratterizzata da un'ostruzione persistente delle vie aeree, non completamente reversibile dopo broncodilatatori e/o cortisonici. La letteratura suggerisce che pazienti con livelli severi di BPCO mostrano un incremento del danno ossidativo al DNA e dell'instabilità genomica, indice di una possibile predisposizione al cancro al polmone. Tali studi sono stati condotti con la metodica del Comet assay, tecnica elettroforetica atta alla misura ed alla visualizzazione dell'integrità del DNA a livello di cellule individuali. Uno studio proof of principle suggerisce che programmi di riabilitazione polmonare (PR) riducono i livelli di stress ossidativo, misurato come riduzione della lunghezza della coda della cometa. In questo contesto risulta pertanto necessario attuare programmi di PR integrata consistenti in un intervento globale e multidisciplinare basato sull'evidenza dei benefici sui pazienti in base a parametri di efficacia ed efficienza, oggettivi e quantificabili. La valutazione integrata dell'efficacia della PR è complessa e richiede un notevole approfondimento iniziale ed una attenta valutazione degli "outcomes" di risposta. Le classiche caratteristiche al baseline non possono predire l'intensità della risposta.

Il presente progetto si prefigge di:

- testare in un gruppo pilota la possibile efficacia di un intervento globale in confronto all'approccio tradizionale;
- studiare e validare i predittori di risposta (inclusi OMICS);
- creare un algoritmo complesso in grado di predire, all'avvio del trattamento, la risposta del paziente.

La disponibilità di tale algoritmo è lo strumento iniziale per l'avvio di terapie personalizzate, tarate sui principali predittori di risposta al trattamento integrato. Sebbene gli scopi del progetto siano molti ed applicabili a vari campi, la capacità di predire la risposta è quella con maggiori implicazioni cliniche e sicuramente prioritaria.

Il test della cometa è una tecnica in grado di valutare il danno al DNA in cellule singole sia in fase riproduttiva che in quiescenza. Richiede piccoli campioni di sospensione cellulare ed i risultati si possono ottenere in pochi giorni. Tale tecnica utilizza una microelettroforesi per visualizzare il danno al DNA in singole cellule. Dai campioni di sangue, sono estratti i linfociti. Sui linfociti conservati in azotoliquido, è stato eseguito uno studio riguardante lo stress ossidativo in termini di danno al DNA, eseguito mediante Comet Test Alcalino (pH 13). Le cellule, imprigionate in uno strato di agarosio e lisate, sono sottoposte ad elettroforesi. Durante l'elettroforesi gli eventuali frammenti di DNA migrano dal nucleo verso l'anodo della camera elettroforetica fornendo al microscopio a fluorescenza, l'immagine di una cometa, da qui poi il nome "Comet Test". Poiché le rotture su singolo filamento e su siti alcali labili, indotte da agenti genotossici, sono più frequenti di quelle evidenziabili su doppio filamento, questa versione ha offerto un grande incremento della sensibilità del metodo.

Per valutare la migrazione del DNA, sono state valutate 100 cellule per ciascuna slide, preparando 2 slide per ogni paziente; quindi sono state valutate 200 cellule per paziente. I dati raccolti sono stati suddivisi in cinque categorie in accordo con l'Olive tail moment score descritto da Collins (2008). Il numero totale di cellule appartenente ad ogni categoria viene conteggiato e moltiplicato per un valore assegnato da 0 a 4 in base alla classe di danno. La somma di tutte le categorie è stata calcolata e considerata come l'indice di danno.

Le informazioni raccolte nell'ambito del progetto sono così riassunte: a) valutazione respiratoria (emogasanalisi/ Medical Research Council/dyspnea scale/St. George's Respiratory Questionnaire/Maugeri Respiratory Failure/ Borg-Barthel scales/Functional exercise capacity (6-Minute Walking Test); b) esami strumentali (ECG/ spirometria/pressione arteriosa); c) visita medica/esame obiettivo; d) esami ematochimici/emocromo/urine; e) stili di vita/esposizione

ambientale/eventi stressanti/relazioni sociali; f) anamnesi di comorbidità medica/Charlson comorbidity index; g) rating scales di QoL/abilità della vita quotidiana/stato cognitivo/psicologico (MINI Mental State Examination, il Montreal Cognitive Assessment, la scala di autovalutazione della depressione CES-D, la scala per la valutazione dei livelli di ansia Zung, il test di Beck per la misura della depressione); h) analisi degli SNPs dei geni coinvolti nella sensibilità/resistenza ai glucocorticoidi. La disponibilità di campioni raccolti e aliquotati, prima/dopo 3 settimane di PR, è in grado di completare il set di informazioni necessarie alla valutazione personalizzata delle performance di ogni singolo paziente.

Sono stati raccolti ed analizzati differenti tipi di informazioni in 89 pazienti con BPCO, afferenti all'Unità di Riabilitazione Polmonare.

Sono stati raccolti i campioni IN/OUT di sangue (siero/plasma); sono stati effettuati gli esami ematochimici e di valutazione della funzionalità polmonare, prima e dopo PR. Sono stati inoltre valutati i parametri psico-cognitivi e di qualità di vita per completare il profilo clinico.

Nella tabella 1 sono riportate le caratteristiche demografiche e cliniche degli 89 pazienti partecipanti alla sperimentazione. Per sesso, stato civile, abitudini al fumo, abitudine al bere, occupazione, ossigeno terapia, terapia cortisonica, rispondenti al six minute walking test, sono stati valutati il numero di pazienti e la percentuale. L'età media dei pazienti è di 72 anni e il grado di BPCO è 3-4 in accordo alle linee guida Gold[Global Strategy For The Diagnosis, Management, And Prevention Of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2017 Report. <http://goldcopd.org/gold-2017-global-strategy-diagnosis-management-prevention-copd/>]. Dopo 3 settimane di riabilitazione circa il 70% dei pazienti mostra un livello significativo di miglioramento ( $D \geq 30$  m).

<b>Gender</b>	<i>Male</i>	46.1%
	<i>Female</i>	53.9%
<b>Age (years)</b>		72 ( $\pm$ 8.7)
<b>Years of Education</b>		8.88 $\pm$ 3.88
<b>Marital Status</b>	<i>single</i>	4.49%
	<i>married</i>	55.06%
	<i>divorced/widow</i>	40.45%
<b>Smoking habit</b>	<i>Never Smoker</i>	11.2%
	<i>Current Smoker</i>	16.9%
	<i>Ex Smoker</i>	61.8%
<b>Drinking habit</b>	<i>No drinkers</i>	42.7%
	<i>Drinker</i>	43.8%
<b>Occupational Status</b>	<i>Worker</i>	14.61%
	<i>Retired</i>	65.17%
	<i>Housewife</i>	8.99%
<b>BMI</b>		27.3 ( $\pm$ 7.6)
<b>O<sub>2</sub> Therapy</b>		33.7%
<b>Corticosteroids therapy</b>		100%
<b>MRC dyspnea grade</b>		
	<i>Admission</i>	4 $\pm$ 0
	<i>Dimission</i>	3.38 $\pm$ 0.55
<b>Borg grade</b>	<i>Admission</i>	7.90 $\pm$ 0.92
	<i>Dimission</i>	5.20 $\pm$ 2.48
<b>SGRQ-Total points</b>	<i>Admission</i>	49.01 $\pm$ 15.37
	<i>Dimission</i>	43.60 $\pm$ 15.00
<b>6MWD (Responders: <math>\geq</math>30 m)</b>		69.7%
<b>MRF26</b>	<i>Admission</i>	73.15 $\pm$ 14.05
	<i>Dimission</i>	48.91 $\pm$ 17.92
<b>Barthel</b>	<i>Admission</i>	69.46 $\pm$ 21.95
	<i>Dimission</i>	86.16 $\pm$ 16.31
<b>FEV<sub>1</sub></b>	<i>Admission</i>	49.36 $\pm$ 24.54
	<i>Dimission</i>	62.67 $\pm$ 28.05
<b>MMSE</b>		27.12 $\pm$ 2.82
<b>MoCa</b>		26.00 $\pm$ 3.58
<b>CES-D</b>		10.96 $\pm$ 10.44
<b>Zung</b>		28.88 $\pm$ 8.54
<b>BDI-II</b>		13.93 $\pm$ 8.17
<b>ADL</b>	<i>Admission</i>	4.99 $\pm$ 1.76
	<i>Dimission</i>	5.43 $\pm$ 1.25
<b>IADL</b>	<i>Admission</i>	5.50 $\pm$ 2.46
	<i>Dimission</i>	6.17 $\pm$ 2.22
<b>SF-36 General Health</b>		72.24 $\pm$ 12.29
<b>SF-36 Mental Health</b>		62.45 $\pm$ 9.99
<b>CIRS-severity/ CIRS-comorbidity</b>		1.61 $\pm$ 0.24/2.58 $\pm$ 1.43

**Tabella 1 . Caratteristiche demografiche e cliniche di 89 pazienti**

Attraverso i valori di damage index, sono state esaminate le differenze in termini di danno ossidativo nei pazienti, prima e dopo PR. Da una prima analisi i dati mostrano un aumento di danno ossidativo tra i valori ottenuti in ingresso e quelli in uscita (Media indice di danno in ingresso: 2,783; Media indice di danno in uscita: 2,876). Nella tabella 2 sono riportati i valori di damage index dei singoli pazienti in entrata e in uscita.

	Admission	Dismission
1	2.14	2.61
2	1.57	2.56
3	2.37	2.53
4	2.23	2.10
5	2.65	2.42
6	2.66	2.21
7	2.51	2.29
8	2.61	2.84
9	2.14	3.23
10	2.18	2.92
11	2.45	2.78
12	2.22	2.39
13	2.40	3.52
14	2.41	2.58
15	3.32	2.94
16	3.10	2.85
17	2.85	2.29
18	3.37	3.31
19	2.96	2.93
20	3.26	3.20
21	3.23	3.45
22	3.58	3.49
23	2.72	2.50
24	2.98	3.31
25	3.38	3.37
26	3.36	3.37
27	3.55	3.38
28	2.83	2.97
29	2.54	2.72
30	2.96	2.66
31	2.39	2.74
32	2.85	2.89
33	2.50	2.89
34	2.96	2.82
35	2.52	2.65
36	2.98	3.32
37	2.85	3.30
38	2.23	2.81
39	2.54	2.70
40	2.89	2.96
41	2.33	2.65
42	3.21	3.40
43	3.23	2.77
44	3.50	3.12
45	3.18	3.05
46	3.09	3.05
47	3.66	3.72
48	3.22	3.19
49	2.93	3.02
50	3.07	3.52
51	3.53	3.19
52	3.30	3.33
53	3.82	2.89
54	2.68	3.26
55	2.85	2.94
56	2.70	2.31
57	2.85	2.57
58	2.80	2.79
59	2.87	2.83
60	2.55	2.77
61	2.38	2.64
62	2.27	2.82
63	3.01	2.77
64	2.06	2.57
65	2.24	2.37
66	2.62	2.64
67	2.51	2.89
68	2.06	3.13
69	3.08	3.20
70	2.72	2.47
71	2.68	2.83
72	2.77	3.05
73	2.66	2.33
74	3.08	2.95
75	2.92	3.08
76	2.21	3.08
77	2.11	3.00
78	2.64	3.46
79	2.83	2.55
80	2.90	2.67
81	2.86	2.71
82	3.01	2.76
83	2.93	3.00
84	2.60	2.72
85	2.77	2.55
86	2.92	2.74
87	2.89	2.26
88	2.81	2.77
89	2.84	3.01

**Tabella 2 . Damage index dei singoli pazienti**

Le analisi dei dati sono in fase di completamento.

*Terapia riabilitativa personalizzata: Approcci di sistema in “Real Life Medicine”*

La ricerca, interdisciplinare e "proof of concept", è svolta da un gruppo clinico e di ricerca di eccellenza pionieristico nella Systems Medicine (SM) con l'obiettivo di fornire una conoscenza completa dello stato dell'arte della riabilitazione delle malattie non comunicabili ["Non-Communicable Diseases": NCDs (malattie croniche cardiopolmonari e neurodegenerative)]. Il progetto sposta l'attenzione clinica e di ricerca verso la medicina personalizzata paziente-diretta, adottando i fenotipi correlati alla malattia a un quadro di ri-classificazione generale delle stesse. Il progetto offre la possibilità di adattare gli strumenti di SM alla real life, convalidando l'insieme delle variabili da raccogliere, misurandone l'impatto e quindi modificando le terapie in base ai fattori individuali

Il progetto affronta alcune delle criticità nella gestione di pazienti affetti da NCDs. La realizzazione di programmi di riabilitazione integrata è particolarmente importante.

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



stato designato per una vasta real-world population di pazienti con BPCO in condizioni di “normal care” (Vestbo et al. N Engl J Med. 2016; 375:1253-60).

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

Gli obiettivi principali dello studio sono:

- Sperimentare e convalidare l'utilizzo di approcci di sistema nella pratica clinica quotidiana all'interno del SSN.
- Definizione di “outcome” associati al profilo dei “responders” quali: cambiamenti funzionali di organo, valori di laboratorio, scale psicologiche/comportamentali, attività quotidiane, parametri omici validati e selezionati quali SNPs correlati alla risposta alla terapia con glucocorticoidi (Pharmacogenomics J. 2013; 13:306-11; N Engl J Med. 2011; 365:1173-8) e profilo metabolomico.
- Valutazione del ruolo delle comorbidità
- Costruzione di un algoritmo preventivo per l'identificazione dei “responders”.

Il progetto intende inoltre:

- Quantificare le risorse necessarie alla implementazione della piattaforma;
- Valutarne la fattibilità;
- Testare in un gruppo pilota la possibile efficacia di un intervento globale in confronto all'approccio tradizionale;
- Studiare e validare i predittori di risposta inclusi OMICS;
- Creare un algoritmo complesso in grado di predire, all'avvio del trattamento, la risposta del paziente, così come gli eventi avversi. La disponibilità di tale algoritmo è lo strumento iniziale per l'avvio di terapie personalizzate, tarate sui principali predittori di risposta al trattamento integrato. Sebbene gli scopi del progetto siano molti e applicabili a vari campi, la capacità di predire la risposta è quella con maggiori implicazioni cliniche e sicuramente prioritaria.

Le informazioni raccolte nell'ambito del progetto possono essere riassunte secondo l'area cui si riferiscono:

- Stili di vita ed esposizione ambientale (fumo, dieta, attività lavorativa e ludica);
- Eventi stressanti e relazioni sociali;
- Anamnesi di comorbidità clinica [Charlson comorbidity index (J Chronic Diseases 1987; 40 : 373-83)];
- Valutazione tramite “rating scales” di qualità di vita, abilità della vita quotidiana, stato cognitivo e psicologico, sintomatologia [Quality of life (QoL) attraverso Activities of Daily Living (ADL); Instrumental Activities of Daily Living (IADL); 36-Item Short Form Health Survey (SF-36) General Health and Short Form (SF-36) Mental Health. Stato cognitivo e psicologico utilizzando: Mini-Mental State Examination (MMSE); Montreal Cognitive Assessment (MoCa); Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D); Zung Self-Rating Anxiety Scale (SAS). Coping strategies utilizzando Brief COPE];
- Valutazione respiratoria (emogasanalisi, spirometria, Medical Research Council (MRC) dyspnea scale, St. George's Respiratory Questionnaire (SGRQ), Maugeri Respiratory Failure (MRF26), Borg and Barthel scales. Functional exercise capacity was measured at baseline and after PR using Six-Minute Walking Test (6MWT);
- Esami strumentali (ECG, pressione arteriosa);
- Visita medica con esame obiettivo;
- Esami ematochimici ed emocromo;
- La disponibilità di campioni raccolti e aliquotati, prima e dopo tre settimane di riabilitazione, per analisi di tipo OMICS è in grado di completare il set di informazioni necessarie per una valutazione personalizzata delle performance di ogni singolo paziente.
- Valutazione degli SNPs mediante real time PCR.

Il programma di riabilitazione consiste in un periodo di ricovero di tre settimane ed include l'exercice training, il nutritional support, l'exacerbation management, la dyspnoea management e lo psychological support se appropriato. Nel corso della riabilitazione è associata una terapia farmacologica in accordo alle linee guida vigenti.

Le associazioni relative dei singoli item e le risposte multivariabili sono analizzate in dettaglio utilizzando la "multinomial logistic regression". Questa metodologia è un metodo di classificazione che permette di utilizzare la regressione logistica ai problemi con più di due variabili. Questo modello è utilizzato per predire le probabilità di differenti outcome di una variabile dipendente distribuita in modo categoriale, dato un set di variabili indipendenti. Per le analisi statistiche è utilizzato il software STATA12, and GraphPad Prism 5 (GraphPad Software). La significatività statistica è valutata mediante:  $\alpha$  di Cronbach, per la consistenza interna di specifici test, correlazione di Spearman, test di Student's e Mann-Whitney U. Le differenze nella distribuzione degli studi che analizzano il genotipo sono analizzate mediante Kruskal-Wallis test e Jonckheere-Terpstra trend test.

La gestione della BPCO ha bisogno di una valutazione completa delle caratteristiche cliniche (gravità dei sintomi, comorbidità, etc..) insieme con i parametri di stile di vita, comportamentali, socio-economico e multi-omics. In tale valutazione multidimensionale anche l'assessment psico-cognitivo gioca un ruolo fondamentale.

1. Associazione tra strategie di coping e risposta alla riabilitazione polmonare.

E' stata effettuata la valutazione dell'associazione tra le strategie di coping (modalità del paziente nell'affrontare lo stress psicologico nella gestione della patologia respiratoria) e l'esito della riabilitazione polmonare, prendendo in considerazione i risultati al test del cammino, effettuato all'inizio e al termine della riabilitazione in regime di ricovero.

Si tratta di uno studio osservazionale in regime di ricovero di 3 settimane, in accordo alle linee guida della Regione Lazio, in 76 pazienti, di età pari o superiore a 70 anni affetti da BPCO GOLD 3-4.

Viene effettuata una valutazione multidimensionale dello stato specifico della malattia.

La variazione della distanza tra il valore finale e il valore di base nel test del cammino (Delta6MWD) è stata positivamente associata alle strategie di self distraction, active coping e di planning.

Lo stato di salute specifico per le malattie respiratorie, così come la presenza dell'uso di ossigenoterapia a lungo termine, non sono associati a tali strategie di coping. Le strategie di coping adattive, quali *self distraction*, *active coping planning*, possono prevedere una migliore risposta alla riabilitazione polmonare nei pazienti anziani affetti da BPCO severa (Figura 1).

Nelle Tabelle 1 e 2 vengono riportate le caratteristiche demografiche, cliniche e respiratorie dei pazienti BPCO in studio.

Age (Years)	71.41 ± 8.56
Sex (Males)	(44.7%)
Years of Education	9.32±3.98
Current smokers	14 (18.4%)
Ex smokers	49 (64.5%)
No smokers	13 (17.1%)
Workers	10 (13.2 %)
Housewife	6 (7.9 %)
Retired	53 (69.7%)
Not employed	1 (1.3%)
Weights (Kg)	72.9 ± 23.3
Heights (cm)	163.1 ± 8.9
New BMI	27.4 ± 8.4
Therapy With O <sub>2</sub>	23 (30.3%)
Therapy Without O <sub>2</sub>	53 (69.7%)
Corticosteroids therapy	93.3%
MRC dyspnea grade	4.0 ± 0
Borg grade	7.89 ± 0.92
SGRQ-T points	48.43± 17.41
6MWT ( meters)	99.21±78.07
MRF-26	71.39±14.44
Barthel	70.75±21.31
MMSE	27.55±2.50
MoCa	26.27±3.33
CES-D < 20 (77.3%)	6.93 ± 5.58
CES-D ≥ 20 (22.7%)	27.53 ± 5.21
SAS	29.15±7.29
ADL (range 1-8)	5.07±1.41
IADL (range 1-8)	5.65±1.36
SF-36 General Health (range 1-100)	71.95±12.46
SF-36 Mental Health (range 1-100)	62.63±10.53
Circulatory System Diseases (ICD-9-CM 390-459)	77.67%
Endocrine, Nutritional, Metabolic, and Immunity Disorders (240-279)	42.72%
Genitourinary System Diseases (580-629)	12.62%
Neoplasms (140-239)	5.83%

**Tabella 1. Caratteristiche demografiche e caratteristiche cliniche del campione analizzato (76 pazienti).**

	Mean ± SD			p value*
	Before PR <sup>(a)</sup>	After PR	Δ(After-Before)PR	
6MWD (meters)	99.21 ± 85.85	193.16 ± 133.85	+93.95 ± 87.27	< 0.0001
MRC dyspnea grade	4.0 ± 0.00	3.35 ± 0.58	-0.65 ± 0.58	< 0.0001
Borg grade	7.89 ± 0.92	5.16 ± 2.44	-2.72 ± 1.97	< 0.0001
SGRQ-T points	48.43 ± 17.41	43.02 ± 15.21	-3.51 ± 16.40	0.0887
Barthel	71.09 ± 21.24	87.25 ± 14.82	+16.16 ± 13.19	< 0.0001
MRF-26	71.39 ± 14.44	46.48 ± 17.99	-24.83 ± 15.04	< 0.0001

Nota: <sup>(a)</sup> I dati sono gli stessi riportati in tabella 1; \* Mann-Whitney U test.

Tabella 2. Parametri respiratori prima e dopo Riabilitazione Polmonare.

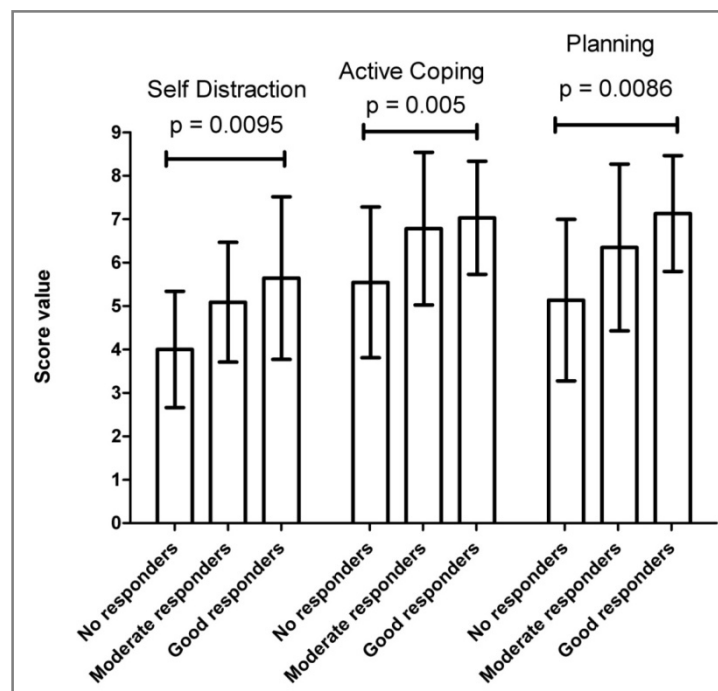


Figura 1. Associazione delle strategie di coping alla risposta riabilitativa in pazienti con BPCO anziani. La figura mostra il punteggio per le strategie di coping selezionate. I dati sono stati analizzati utilizzando Graph Pad Prism versione 5.0 e le barre di errore a 2 code rappresentano la deviazione standard della media  $\pm$  SD. I valori p del test di tendenza sono riportati per ciascuna strategia, utilizzando il test t di Student paired. Un valore  $p > 0,05$  è stato considerato non statisticamente significativo.

## 2. Associazione OMICS e risposta alla riabilitazione polmonare

La riabilitazione polmonare integrata, compreso l'intervento farmacologico (glucocorticoidi + broncodilatatori), conferisce diversi benefici nei pazienti con BPCO. Tuttavia, non tutti i pazienti sono responsivi a tale approccio.

Lo studio intende investigare il ruolo degli SNPs, coinvolti nella risposta ai glucocorticoidi (GCS), quali NR3C1 (rs6190, rs6189, bcl2 (rs41423247), co-chaperone FKBP5 (rs4713916), GLCCI1, Glucocorticoid-Induced Transcript 1 gene, (rs37972) e MDR1 (rs2032582) nella modulazione dell'effetto dei GCS su una batteria selezionata di endpoint terapeutici in un gruppo di pazienti con BPCO.

Questo approccio è in accordo con il recente piano di ricerca sulla riabilitazione del NIH (<https://doi.org/10.1080/10400435.2017.1306411>) che ha tra i suoi obiettivi 1) Avviare la comprensione degli approcci di medicina di precisione relativi alla medicina riabilitativa e 2)

Caratterizzare i biomarker associati a lesioni specifiche, malattie o disturbi che sono prognostici o guida alla prescrizione di interventi riabilitativi.

Questo approccio definito "Rehabilomics", termine inizialmente introdotto per la riabilitazione del trauma cranico (TBI), applicato alla BPCO, integra aree della moderna pneumologia clinica con biomarcatori e ricerca genetica. Oltre ai biomarker genetici, fattori come il genere, i tratti psicologici e le variabili ambientali possono influenzare l'associazione tra biologia del soggetto e la sua risposta.

La tabella 3 riporta le caratteristiche demografiche e caratteristiche cliniche dei pazienti in studio.

<b>Males</b>	30 (42.2%)
<b>Females</b>	41 (57.8%)
<b>Years of Education</b>	8.9±4.08
<b>Marital Status</b>	
<i>single</i>	3 (4.2%)
<i>married</i>	36 (50.7%)
<i>divorced/widow</i>	32 (45.1%)
<b>No smokers</b>	6 (8.5%)
<b>Current smokers</b>	11 (15.5%)
<b>Ex smokers</b>	46 (64.7%)
<b>Not Responders</b>	8 (11.3%)
<b>Occupational Status</b>	
<i>Retired</i>	63 (88.7%)
<i>Housewife</i>	8 (11.3%)
<b>BMI</b>	27.57±4.9
<b>Therapy With O<sub>2</sub></b>	23 (32.4%)
<b>Corticosteroids therapy</b>	71 (100%)
<b>MRC dyspnea grade</b>	4.0 ± 0
<b>Borg grade</b>	7.87 ± 0.92
<b>SGRQ-Total points</b>	49.33± 16.02
<b>6MWD (meters)</b>	96.76±85.25
<b>MRF26</b>	72.14±15.65
<b>Barthel</b>	68.32±24.37
<b>FEV<sub>1</sub></b>	48.40±24.2
<b>MMSE</b>	26.78±2.83
<b>MoCa</b>	25.57±3.73
<b>CES-D &lt; 20 (77.1%)</b>	6.87 ± 5.35
<b>CES-D ≥ 20 (22.9%)</b>	28.79 ± 6.10
<b>SAS</b>	29.08±8.57
<b>BDI-II</b>	14.59±8.07
<b>2222ADL</b>	4.83±1.88
<b>IADL</b>	5.24±2.47
<b>SF-36 General Health</b>	73.40± 11.54
<b>SF-36 Mental Health</b>	62.56±8.54
<b>CIRS-severity</b>	1.58±0.23
<b>CIRS-comorbidity</b>	2.44±1.36

**Tabella 3. Caratteristiche demografiche e caratteristiche cliniche del campione analizzato (71 pazienti).**

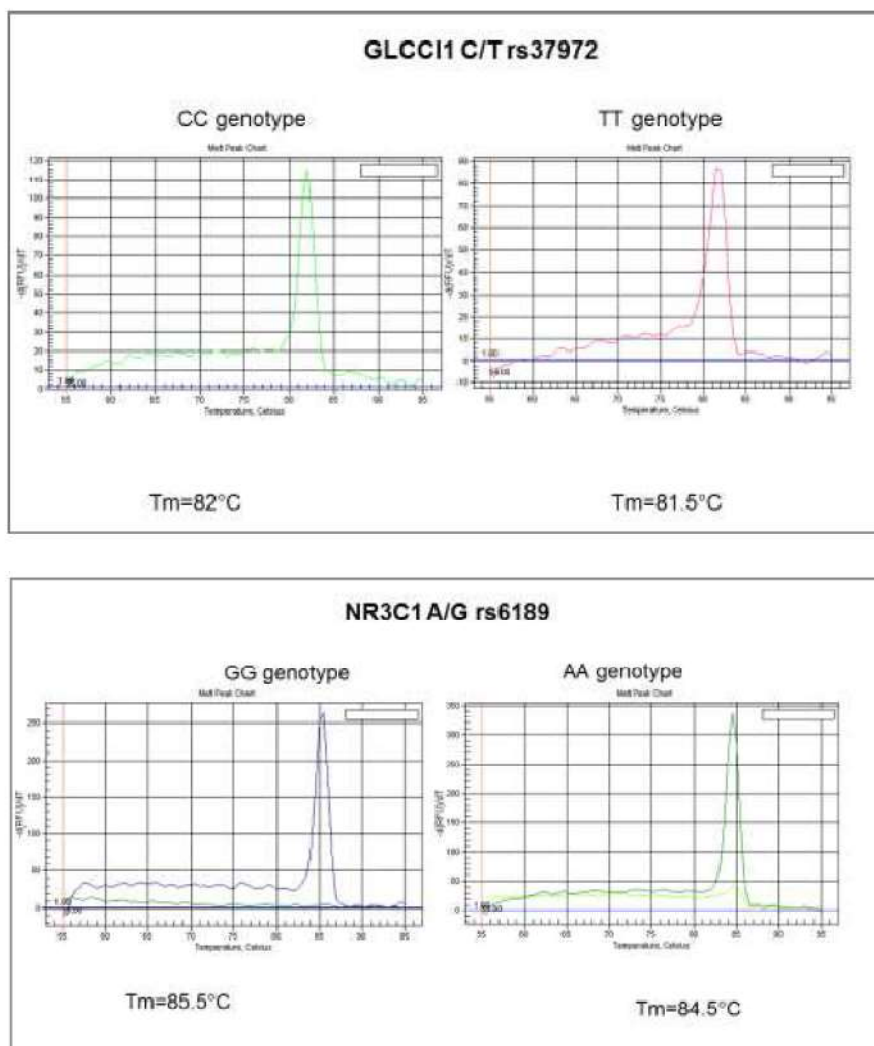
La tabella 4 riporta le frequenze alleliche dei singoli SNPs, tra i sei geni investigati, nei pazienti con BPCO in studio.

GLCCI1 rs37972	NR3C1 rs6189	NR3C1 rs6190	NR3C1 Bcl2 rs41423247	MDR-1 rs2032582	FKBP5 rs4713916
CC 31 (43.7%)	GG 66 (93 %)	GG 66 (93%)	GG 35 (49.3%)	GG 25 (35.2%)	GG 57 (80.3%)
CT 34 (47.9%)	GA 3 (4.2%)	GA 3 (4.2%)	GC 28 (39.4%)	GA 3 (4.2%)	GA 13 (18.3%)
TT 5 (7%)	--	--	CC 7 (9.9%)	GT 22 (31%)	--
--	--	--	--	TT 20 (28.2%)	--
NA 1 (1.4%)	NA 2 (2.8)	NA 2 (2.8%)	NA 1 (1.4%)	NA 1 (1.4%)	NA 1 (1.4)

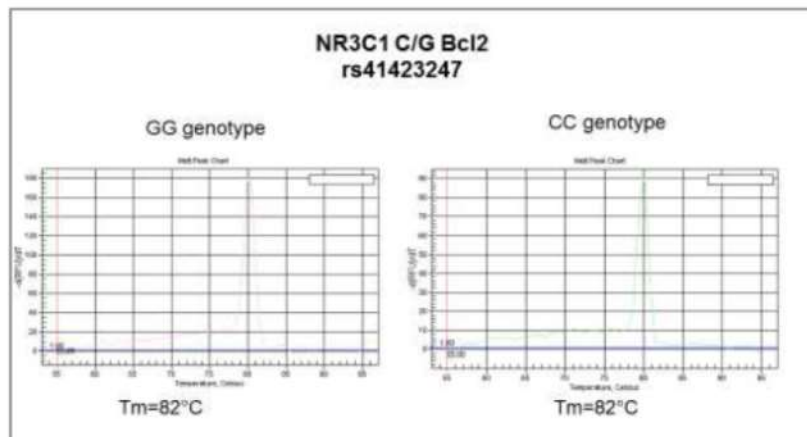
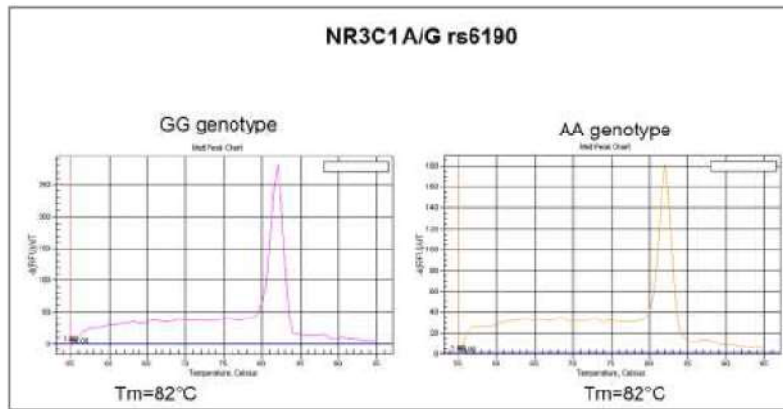
Nota: NA= Non amplificato

**Tabella 4** Frequenze alleliche dei singoli SNPs in pazienti con BPCO.

Le Figure 2-4 riportano il profilo di “melting” in real-time PCR per le varianti alleliche studiate.

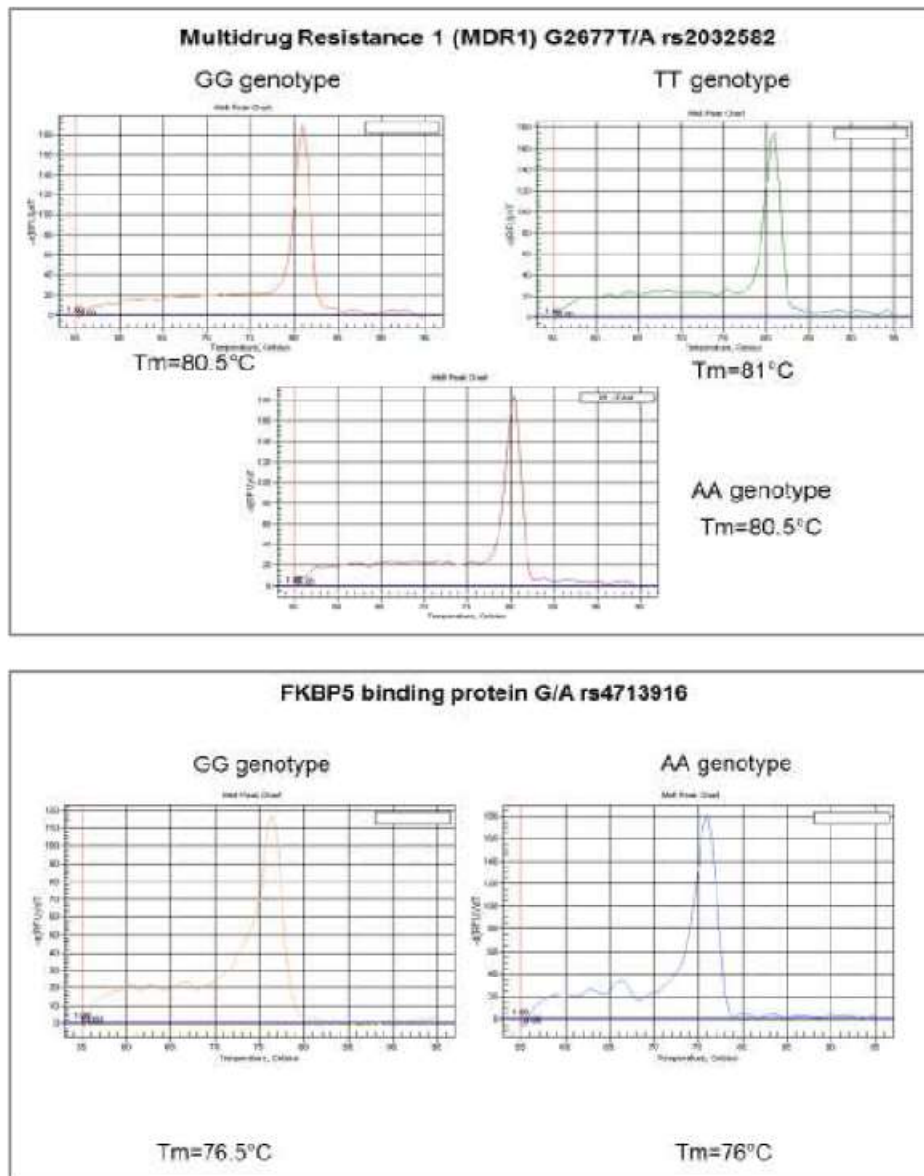


**Figura 2**



**Figura 3**





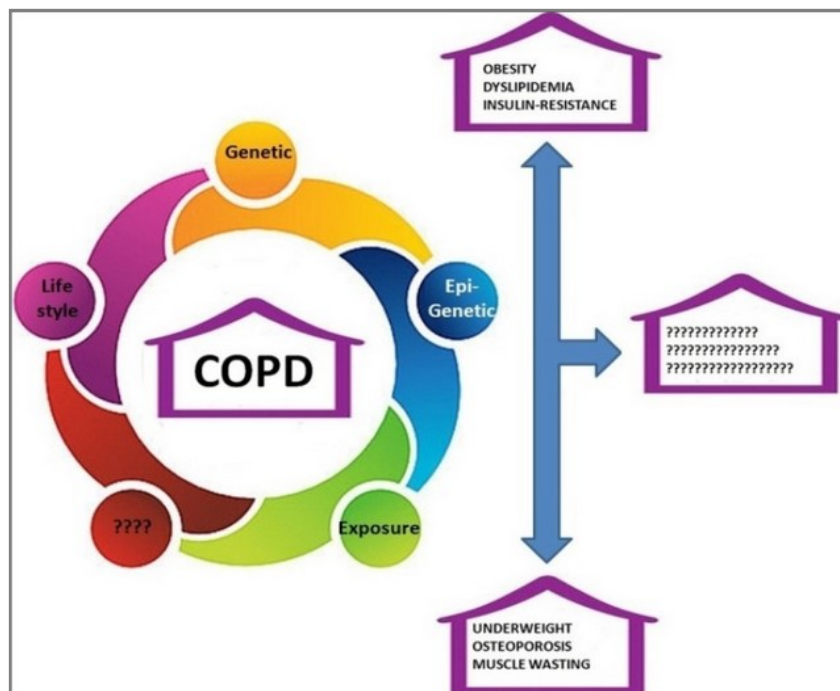
**Figura 4**

Sono in fase di completamento la analisi dei dati e le pubblicazioni sono previste nel corso del 2018.

Associazione tra comorbidità e BPCO.

Il disturbo metabolico è stato frequentemente osservato nei pazienti con BPCO. Tuttavia, la correlazione esatta tra l'obesità, disturbo metabolico complesso, e la BPCO rimane controversa. I disturbi metabolici nella BPCO possono risultare in diversi fenotipi (come illustrato dalla figura 5), uno legato al sovrappeso uno alla cachessia.





**Figura 5.** Costellazioni di diversi disturbi metabolici e "tipi" teorici di base nella BPCO. Distinti meccanismi fisiopatologici (fattori genetici, epigenetici, ambientali, stile di vita) potrebbero essere alla base dell'insorgenza di gruppi di Disturbi Metabolici in pazienti con BPCO.

L'inflammation può essere considerata un meccanismo comune alle due patologie. Farmaci anti-infiammatori agenti sul tessuto adiposo possono essere utilizzati nei soggetti con BPCO con alto indice di massa corporea (BMI).

L'obesità e la BPCO condividono alcuni meccanismi, come l'inflammation, e vi è interconnessione tra attivazione/disattivazione del percorso nel tessuto adiposo e modulazione della funzione polmonare. Farmaci marini che agiscono sul tessuto adiposo o sul meccanismo dell'inflammation possono essere utili non solo nel controllo dell'obesità ma anche in soggetti con BMI elevato e BPCO concomitante.

Questo studio analizza una varietà di farmaci provenienti da fonti marine che hanno effetti anti-obesità e potenziali meccanismi attraverso i quali la funzione polmonare può essere modulata con l'attività anti-obesità.

## RICERCA TRASLAZIONALE

### Laboratorio di Patologia Molecolare, Cellulare e Ultrastrutturale

#### *Recupero di funzione nelle miocarditi e nelle cardiomiopatie: ruolo delle sirtuine da chiudere*

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. Lo studio si prefigge di:

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

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

- 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, malattia coronaria significativa, malattia valvolare significativa, malattie endocrine, malattie renali significative, abuso di alcool o di farmaci). I pazienti vengono reclutati in ambulatorio o nei reparti clinici di degenza o di terapia subintensiva. I pazienti vengono sottoposti ad esami cardiologici invasivi (ECG, ecocardiogramma color Doppler con TDI) e, previo consenso informato, ad esami cardiologici invasivi, incluso il cateterismo cardiaco, la coronarografia, la ventricolografia bi ventricolare e la biopsia endomiocardica bi ventricolare.

Alcuni frammenti 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 vengono eseguite biopsie di controllo dopo sei mesi di trattamento per valutare il grado di recupero cellulare.

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

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

L'attività consiste nel valutare pazienti con miocardite, con cardiomiopatia dilatativa idiopatica e secondaria (i.e. tossica, da deficit nutrizionali), e con cardiopatie a fenotipo ipertrofico (i.e. cardiomiopatia ipertrofica, malattia di Fabry, cardiopatia ipertensiva). È stato osservato a seguito di biopsie endomiocardiche del ventricolo sinistro condotte su pazienti ipertesi con scompenso cardiaco a coronarie e valvole integre ed in assenza di patologie sistemiche, che la miocardite, spesso virale, è una causa dominante dello scompenso. La miocardite è stata, infatti, documentata in oltre il 60% dei 45 pazienti studiati suggerendo una particolare suscettibilità alle infezioni virali del cuore con cardiopatia ipertensiva. Nei soggetti con miocardite virus-negativa, la terapia immunosoppressiva è stata seguita da recupero funzionale e strutturale del ventricolo sinistro in oltre l'80% dei pazienti trattati. È stata inoltre descritta una cardiomiopatia reversibile da deficit di selenio e zinco indotta da malassorbimento intestinale cronico. Sono stati riconosciuti i meccanismi operativi caratterizzati da un declino della riserva anti-ossidante cardiaca facente capo alla glutatione perossidasi ed alla superossido-dismutasi rispettivamente selenio e zinco-dipendenti, un danno ossidativo della membrana dei miociti con aumentata autofagia cellulare. È stata identificata e quantificata in termini di incidenza la associazione malformativa fra cardiomiopatia ipertrofica e teleangiectasia coronarica ed i risvolti che questa può assumere in termini di ischemia miocardica ed instabilità elettrica, richiedente impianto di defibrillatore al fine di prevenirne la complicanza più temibile, la morte cardiaca improvvisa. È stato riportato attraverso un'ampia casistica biotipica, 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 biotipica 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' $\alpha$ -galattosidasi 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' $\alpha$ -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 del Laboratorio dimostrano che l'ambiente ipossico può essere responsabile dell'espressione de novo dei recettori delle allarmine, attivando una risposta genica coordinata, nota come 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-1 $\alpha$  con nuova espressione genica, che permette alle cellule tumorali di sopravvivere e crescere. I risultati sperimentali dimostrano anche che l'attivazione di HIF-1 $\alpha$  upregola i recettori delle allarmine come RAGE (per HMGB1), P2X7 (per ATP/ADP), alcuni toll-like. Tutti questi recettori, quando stimolati dalle allarmine, attivano NF $\kappa$ B 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.

L'obiettivo del progetto consiste nello studiare il ruolo di HIF1 $\alpha$  NF $\kappa$ B e IRR nel carcinoma papillare di tiroide, nel carcinoma di vescica e nel carcinoma 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 NF $\kappa$ B.

Si intende inoltre:

- Identificare quali allarmine/DAMPs sono più efficaci nell'indurre la IRR. I dati preliminari del 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 viene 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 si effettuano esperimenti di cocultura tra cellule di cancro di controllo e HUVEC preattivate con LPS (0.3 $\mu$ g/ml) o da una mix di citochine di tipo Th1 or Th2. Alternativamente sono 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 NF $\kappa$ B e/o HIF1 $\alpha$  in vitro e in vivo.

Campioni di biopsie umane di tumore di vescica sono state sezionate (5 $\mu$ m) 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 HIF1 $\alpha$  and NF- $\kappa$ B è stata analizzata mediante western blotting o ELISA su frazioni cellulari citosoliche e nucleari. L'ipossia è stata ottenuta incubando le cellule in 1%O<sub>2</sub> 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 overespressione di CXCR4 sulle linee cellulari sopra descritte. La migrazione cellulare è stata studiata mediante il "wound healing assay". L'homing delle cellule tumorali è stato studiato mediante: cocultura di cellule di cancro attivate da ipossia o di controllo e cellule HUVEC preattivate da LPS (0.3ug/ml) o una mix di citochine di tipo Th1 e Th2. Real-time PCR mediante inflammocard di RNA estratto da tessuto granuloso ottenuto da microdissezione.

I ricercatori del laboratorio hanno dimostrato, in diverse linee cellulari sottoposte ad ipossia, l'attivazione di HIF-1alfa che, a sua volta, regola l'espressione di geni appartenenti alla risposta infiammatoria ripartiva come RAGE, P2X7, SOCS1, ecc. Questi, a loro volta, in presenza di uno stimolo necrotico attivano il pathway che innesca NFkB. In particolare, è stato dimostrato che per l'attivazione di NFkB sono particolarmente efficaci le frazioni di membrane rilasciate dalle cellule necrotiche che nelle cellule tumorali stimolano il rilascio di MMPs e la migrazione.

Riproducendo gli esperimenti descritti sopra sulle cellule staminali tumorali, è stato evidenziato come questa popolazione sia in grado di attivare la stessa risposta infiammatoria ripartiva in modo molto più efficace. Questo permette di ipotizzare che tali cellule siano quelle che si adattano e sopravvivono all'ipossia e alla necrosi presenti nel tumore primario e siano quelle che responsabili, poi della progressione del tumore.

Inoltre, è stato osservato che le cellule tumorali stimulate da ipossia sono in grado di aderire meglio alle cellule endoteliali. Tale capacità di adesione è ulteriormente incrementata se le cellule endoteliali sono state sottoposte ad uno stimolo infiammatorio come quello di estratti necrotici o da infezione batterica. Questo risultato è stato ottenuto tramite colorazione delle cellule endoteliali e tumorali e analisi al microscopio confocale. Inoltre inibendo farmacologicamente HIF-1a con digossina la risposta delle cellule tumorali viene meno così come la loro capacità di adesione che risulta notevolmente ridotta. Infine anche silenziando l'espressione dei recettori di membrana come RAGE e P2X7, e quindi la risposta NFkB-mediata, è possibile inibire l'invasione delle cellule tumorali.

L'inibizione farmacologica (digossina) o il silenziamento (shRNA) di HIF-1a ha permesso di inibire la migrazione, invasione e adesione delle cellule tumorali messe a contatto con cellule endoteliali.

Nel corso del 2018 per ciò che concerne gli esperimenti in vivo:

a) le cellule CS/P o tumorali isolate da biopsie o da linee cellulari attivate mediante ipossia saranno iniettate in topi nudi. Successivamente sarà valutato il numero e il tipo di metastasi formatesi.

b) sarà creato un sito usando rispettivamente batteri Gram+ o LPS o una ferita. Di nuovo, sarà valutato il numero e il tipo di metastasi formatesi. Gli studi in vivo saranno condotti in topi nudi (4-6 settimane) (Charles River Laboratories) le cellule saranno precedentemente trasfettate con GFP. La formazione del tumore sarà studiata dopo iniezione sottocutanea. La formazione del tumore sarà seguita in vivo per 3-4 settimane mediante microscopio a fluorescenza. Iniezioni nella vena caudale permetteranno di osservare il pattern metastatico nei polmoni, nel cervello e i altri siti mediante immunoistochimica, RealTime-PCR e western blotting negli animali sacrificati.

In vitro si aspetta di osservare diversi gradi di invasione a seconda del trattamento delle cellule tumorali o delle cellule bersaglio. 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-1alfa e NFkB dovrebbe essere maggiormente efficace nel bloccare o ridurre la formazione di metastasi con conseguente aumento della sopravvivenza.

Attualmente, lo scompenso cardiaco rappresenta uno dei casi più frequenti di ospedalizzazione per pazienti di età superiore ai 65 anni. Le attuali tecniche di trattamento, ovvero l'angioplastica e il bypass coronarici, sono finalizzati alla rivascularizzazione del tessuto miocardico sopravvissuto ma non hanno alcun effetto sulla massa contrattile. In questi ultimi anni, numerosi studi sono stati effettuati al fine di promuovere la rigenerazione cardiaca. Attualmente due sono gli approcci maggiormente seguiti: 1) trapianto singenico di cellule staminali cardiache (CSC) competenti e 2) stimolazione di CSC endogene.

Per quanto riguarda la stimolazione di CSC endogene, questa è stata ottenuta utilizzando diverse citochine e fattori di crescita tra cui la proteina HMGB1. In particolare, il laboratorio ha dimostrato che la somministrazione di HMGB1 sia in un modello murino di infarto acuto del miocardio (MI) che nello scompenso cardiaco, aumenta la proliferazione delle CSC e il loro differenziamento in senso cardiovascolare attenuando, così, il rimodellamento del ventricolo sinistro e migliorando la funzionalità cardiaca. Dati recenti, però, suggeriscono che HMGB1 è estremamente sensibile all'ossidazione soprattutto in vivo e le forme ossidata e ridotta della proteina potrebbero essere differenzialmente implicate nella regolazione dell'infiammazione, della morte cellulare o della rigenerazione miocardica.

Il progetto si prefigge di:

- Studiare l'effetto delle varie forme redox di HMGB1 sulla proliferazione delle cellule staminali cardiache (CSC) endogene dopo MI. Nella prima parte del progetto, è stato valutato l'effetto delle tre forme redox di HMGB1 sulla proliferazione delle CSC endogene.
- Studiare in vivo l'effetto di HMGB1 WT su apoptosi e autofagia nei cardiomiociti del cuore di topo dopo MI. Nella seconda parte del progetto, è stato determinato l'effetto della somministrazione di HMGB1 WT sulla sopravvivenza dei cardiomiociti dopo induzione dell'infarto. In particolare, sono stati effettuati studi sull'apoptosi e sull'autofagia cardiomiocitaria.

Per questo studio sono stati utilizzati topi C57 BL6. 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. 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 CSCs. Le CSCs 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 la proliferazione cellulare, è stato rilevato un maggior numero di CSCs positive per Ki67 nel gruppo trattato con H3S. Successivamente, sulle CSCs, è stata effettuata una doppia immunofluorescenza per ckit e Ki67 e relativa conta. Sia HW che H3S inducono un aumento del numero di cellule ckit<sup>+</sup> rispetto alla proteina denaturata ma solo HW ha un'azione specifica sulla proliferazione di queste cellule rispetto alle altre forme di HMGB1.

Per quanto riguarda gli studi sulla sopravvivenza dei cardiomiociti, tre giorni dopo trattamento, i ricercatori hanno trovato una maggiore espressione dei marcatori dell'autofagia nei topi infartuati e trattati con HW rispetto ai controlli. Inoltre, è stato anche dimostrato che questa autofagia indotta da HW è mediata dall'attivazione dell'AMPK e dall'inibizione di mTOR. Oltre all'induzione dell'autofagia è stata riscontrata una ridotta apoptosi dei cardiomiociti come dimostrato dai ridotti livelli di diversi marcatori quali Bax e caspasi 3.

Utilizzando un sistema in vivo di infarto del miocardio e trattamento con le diverse forme redox di HMGB1, sono stati ottenuti differenti gradi di proliferazione delle CSCs positive per il marcatore di

steminalità. In particolare, i risultati ottenuti hanno permesso di dimostrare che sia la forma WT che la 3S hanno determinato un aumento nel numero di queste cellule ma solo HW ha dimostrato un'azione specifica sulla loro proliferazione.

Gli studi sulla sopravvivenza cellulare, invece, hanno confermato i risultati già ottenuti in vitro ovvero che HW ha proprietà antiapoptotiche nei confronti dei cardiomiociti. Inoltre, è stato anche dimostrato per la prima volta che l'effetto cardioprotettivo di HMGB1 WT in un modello murino di infarto acuto del miocardio avviene attraverso non solo un'attenuazione dell'apoptosi ma anche attraverso l'attivazione dell'autofagia.

## **LINEA 4**

**Studio delle disabilità dello sviluppo e neuroriabilitazione pediatrica**

---



## AREA DI RICERCA DISABILITÀ DELLO SVILUPPO

### *La Stimolazione Meccanica Automatizzata Periferica (AMPS) nella riabilitazione del bambino con Paralisi Cerebrale Infantile (PCI)*

La Paralisi Cerebrale Infantile (PCI) è la malattia neuromotoria più frequente in età pediatrica, con un'incidenza di 2.0+2.5 ogni 1000 bambini nati vivi. I bambini con PCI presentano una varietà di disturbi motori. Alcuni di questi sono direttamente legati a lesioni a livello del Sistema Nervoso Centrale, con ripercussioni specialmente sul tono muscolare, equilibrio, forza e selettività (problemi primari); contratture muscolari statiche e deformità ossee (problemi secondari) si sviluppano progressivamente nel tempo in risposta ai problemi primari e alla crescita del bambino (Gage, 2004). La scelta del percorso riabilitativo per i problemi motori, in particolare durante il cammino, che caratterizzano molti bambini con PCI rimane l'obiettivo principale. I trattamenti più diffusi sono la terapia fisica (incluso l'allungamento, rafforzamento e il training motorio), le ortesi, i gessi, la stimolazione elettrica, le inoculazioni di tossina botulinica o di fenoli e la chirurgia ortopedica. Recentemente, sono stati definiti e proposti per il bambino con PCI diversi programmi riabilitativi per migliorare la funzionalità motoria, basati sulla stimolazione periferica del sistema sensorimotorio e sulla neuroplasticità [Camerota et al., 2011; Graziotin Dos Santos, et al., 2014; Simon Ade et al., 2014].

Poiché la scelta del trattamento riabilitativo nel bambino con PCI è oggetto di particolare attenzione in ambito clinico, la valutazione dell'efficacia di trattamenti tradizionali e innovativi è cruciale. Recentemente, è stato sviluppato un nuovo approccio riabilitativo per migliorare i disturbi motori basato sulla stimolazione plantare, la Stimolazione Meccanica Automatizzata Periferica (Automated Mechanical Peripheral Stimulation: AMPS). Il trattamento AMPS, viene erogato da un dispositivo dedicato (Gondola Medical Technologies SA, Switzerland), e consiste nell'applicazione di una stimolazione plantare mediante dei puntali in quattro aree di stimolazione (due per ciascun piede, in particolare l'estremità superiore dell'alluce e la prima testa metatarsale). Diversi studi clinici hanno documentato che la terapia AMPS è efficace nel migliorare i sintomi motori della Malattia di Parkinson quali lentezza di movimento, passo corto, problemi di equilibrio e rischio di caduta [Kleiner et al., 2015; Stocchi et al., 2015; Galli et al., 2015]. Ad oggi non c'è evidenza scientifica relativamente all'utilizzo di questo trattamento innovativo nel bambino con PCI. Sulla base dell'esperienza pregressa nell'ambito della Malattia di Parkinson in termini di miglioramento di alcuni disturbi del cammino, si ipotizza che questo trattamento, che non è invasivo, possa essere efficace anche nel bambino con PCI.

Lo scopo di questo studio è quello di valutare gli effetti del trattamento mediante AMPS, associato a trattamento riabilitativo tradizionale, in bambini con PCI in termini di strategia deambulatoria. Il trattamento mediante AMPS è somministrato utilizzando il dispositivo GONDOLA®. Gondola® è un apparecchio portatile che funziona a batterie, si calza come una scarpa. E' stato ideato per effettuare una terapia di stimolazione di due aree di entrambi i piedi (alluce e metatarso) attraverso impulsi meccanici controllati per pressione, durata e sequenza (Foot Mechanical Stimulation).

Le performance motorie e del cammino associate al recupero vengono analizzate tramite analisi quantitativa del cammino (Gait Analysis) e somministrazione di scale cliniche specifiche del recupero del cammino per i pazienti con PCI prima (T1), al termine del trattamento (T2, a 3 settimane da T1) e 3 settimane dal termine del trattamento (T3, a 6 settimane da T1).

In particolare, si confrontano gli effetti del trattamento tra un gruppo di bambini che vengono trattati con AMPS associata a trattamento riabilitativo tradizionale (AMPS group) e un gruppo di bambini con PCI trattati solo con trattamento riabilitativo tradizionale (Control Group: CG).

GONDOLA® è un dispositivo medico CE 0476 (Autorizzazione del 6/8/2012). GONDOLA® è un marchio registrato di proprietà di Ecker Technologies Sagl © Ecker Technologies Sagl- VicoNassetta 2 - 6900 Lugano (SVIZZERA)www.ecker-tech.com Email: [info@ecker-tech.com](mailto:info@ecker-tech.com)

Il trattamento con GONDOLA® sarà eseguito su tutti i pazienti reclutati e che abbiano firmato il consenso informato per prendere parte allo studio, indipendentemente dal gruppo di randomizzazione, prima dell'inizio del trattamento riabilitativo sperimentale.

Lo studio è uno studio pilota randomizzato controllato per gruppi paralleli con lo scopo di investigare l'efficacia sul recupero funzionale motorio indotto dall'associazione di terapia mediante AMPS e trattamento riabilitativo tradizionale in 40 pazienti affetti da PCI con disturbi della deambulazione. I pazienti sono randomizzati in due gruppi: un gruppo di 20 pazienti trattati mediante AMPS associata a trattamento riabilitativo tradizionale (AMPS Group) e un gruppo di 20 pazienti con PCI trattati solo con trattamento riabilitativo tradizionale (Control Group; CG).

Gli effetti vengono valutati sia con scale di valutazione cliniche specifiche per la PCI (Gross Motor Function Measure: GMFM) sia mediante analisi quantitativa del cammino (Gait Analysis). Le valutazioni vengono eseguite da osservatori in cieco rispetto al trattamento effettuato.

In particolare la valutazione viene effettuata in tre sessioni:

T1: valutazione Pre trattamento sia del AMPS Group sia del Control Group

T2: valutazione Post trattamento AMPS e post trattamenti riabilitativi tradizionali (dopo 3 settimane)

T3: valutazione a 3 settimane dal termine del trattamento (AMPS e riabilitazione tradizionale), a 6 settimane da T1.

Sono inclusi nello studio casi di diagnosi di Paralisi Cerebrale Infantile con evidenza clinica di deficit motorio degli arti inferiori.

I pazienti vengono sottoposti a:

- visita di screening per verificare l'eleggibilità allo studio
- se eleggibile, randomizzazione computerizzata per l'assegnazione di ciascun paziente ad un braccio dello studio
- valutazione pre-trattamento (T1), al termine del trattamento, sia mediante AMPS sia dopo trattamento riabilitativo tradizionale (T2) e 3 settimane dal termine del trattamento (T3) mediante scala di valutazione clinica (Gross Motor Function Measure: GMFM) e valutazione quantitativa del cammino (Gait Analysis).

Tutti i dati raccolti da personale esperto e non coinvolto direttamente con la fase sperimentale, sono digitalizzati e analizzati mediante analisi statistica di tipo parametrico e non parametrico. I dati dei singoli gruppi sono analizzati inter trattamento e intra trattamenti per valutare se l'eventuale guadagno sia dovuto al trattamento o al caso. L'analisi statistica ci fornisce inoltre un confronto di efficacia tra i vari pazienti correlati alla gravità della patologia, al sesso ed alla età.

	T1	T2	T3
	Pre trattamento	Post trattamento	Follow up (dopo 3 settimane dal termine del trattamento)
Anamnesi/consenso	*		
Criteri di inclusione ed esclusione	*		
Revisione della terapia	*		
GMFM	*	*	*
Gait Analysis	*	*	*

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico ed ha avuto inizio a dicembre 2017.

#### *Accademia dello sport per bambini con Disabilità dello Sviluppo ed Intellettiva*

Sebbene individui con disabilità intellettive abbiano generalmente diverse limitazioni fisiche e motorie (Shumway-Cook & Woollacott, 1985), è per loro possibile partecipare in molte forme di attività sportiva e ricreativa. Tuttavia, questi pazienti hanno generalmente un basso livello di attività

fisica rispetto ai pari età sani, mostrando un più basso valore di consumo di ossigeno, limitazioni aerobiche funzionali, e una peggiore ventilazione. In più, molti individui affetti, ad esempio da sindrome di Down sono sovrappeso o obesi, con un'ipotonia muscolare diffusa (Dodd & Shields, 2005; Foley et al., 2014), una limitazione della coordinazione motoria e dell'equilibrio, e conseguenti alterazioni motorie e del cammino dovute anche a aumentata lassità legamentosa (Galli et al., 2008).

In particolare, Caselli et al. (1991) hanno riportato che il cammino in giovani e adolescenti con sindrome di Down è caratterizzato da eccessiva extra rotazione delle anche, aumentata flessione del ginocchio e valgismo, rotazione esterna della tibia. Inoltre, si è osservato una marcata pronazione del piede con implicazioni sulla stabilità posturale della locomozione.

Al contrario, gli individui con disabilità intellettive che scelgono di praticare attività sportiva hanno maggiori probabilità di alterare il loro stato di composizione corporea (Li et al., 2015), aiutando a migliorare la propria salute generale e diminuendo la probabilità di insorgenza di altri disturbi cardiovascolari e patologie come il diabete (Crawford et al., 2015).

L'attività sportiva a sua volta promuove la fiducia in sé stessi e l'indipendenza, e pur non essendo queste direttamente connesse allo stato di salute, sono entrambi fattori importanti per la qualità della vita (Rimmer et al., 2004).

Ad oggi non vi è evidenza scientifica su quali siano gli effetti dell'attività sportiva sulla biomeccanica del cammino e sul controllo motorio e posturale in pazienti affetti da disabilità intellettive, e in particolare se tali effetti siano riconducibili ad un ripristino, anche parziale, delle funzionalità tipiche dell'individuo sano. Si può ipotizzare che la biomeccanica della deambulazione sia positivamente influenzata dell'esposizione alla pratica agonistica, ma tale ipotesi deve essere supportata da evidenze quantitative.

Lo scopo di questo studio è quello di valutare in modo quantitativo e multifattoriale gli effetti dell'attività sportiva di alto livello protratta nel tempo sulla biomeccanica del cammino in pazienti affetti da disabilità intellettive.

Le performance motorie e del cammino vengono analizzate tramite analisi quantitativa del cammino (Gait Analysis), anche in presenza di stimoli complessi (dual-task), e analisi della postura.

In particolare, si confrontano le caratteristiche di un gruppo di soggetti affetti da disabilità intellettive partecipanti alle competizioni Special Olympics rispetto a un gruppo di controllo, allineato per età e tipo di patologia, di soggetti non praticanti attività sportiva, i cui dati vengono di routine raccolti dai laboratori clinici interessati.

Si tratta di uno studio osservazionale prospettico e retrospettivo di coorte con lo scopo di investigare l'effetto funzionale e motorio indotto dall'esposizione prolungata all'attività fisica di alto livello. Si prevede, in base alla disponibilità e alla disciplina degli atleti, di valutare un numero pari o superiore a 40 partecipanti ai campionati Special Olympics affetti da disabilità intellettive. I pazienti sono confrontati con un Gruppo di Controllo (CG) costituito da soggetti di simile età e grado di disabilità, non impegnati in attività agonistiche.

Gli effetti vengono valutati mediante analisi quantitativa del cammino (Gait Analysis), anche in presenza di dual-task (evitamento di ostacoli) e analisi posturale. Le valutazioni vengono eseguite da osservatori in cieco rispetto al gruppo.

#### *Indagine retrospettiva condotta su bambini con Paralisi Cerebrale Infantile valutati con Gait Analysis prima e dopo trattamento riabilitativo*

La Paralisi Cerebrale Infantile (PCI) è un insieme di disordini persistenti ma non immutabili della postura e del movimento dovuti ad alterazioni delle funzioni cerebrali per cause pre, peri e post natali].

I sintomi più comuni, che con la crescita risultano ancor più evidenti, sono ipertononia e spasticità muscolare, deviazioni nel piano sagittale e movimenti compensatori che possono portare ad andature anomale (*True Equinus, Apparent Equinus, Crouch Gait, Jump Knee*).

Nonostante non ci sia una cura per la patologia, diversi programmi riabilitativi vengono ad oggi effettuati al fine di ridurre la limitazione funzionale e favorire lo svolgimento delle normali attività quotidiane dei bambini affetti. Tra i più comuni: trattamento fisioterapico, uso di ortesi, iniezioni intramuscolari di tossina botulinica di tipo A (BTX-A), chirurgia ortopedica (singola e multilivello), stimolazione meccanica ed elettrica, taping neuromuscolare. Inoltre, l'analisi tridimensionale del cammino (3D-GA) effettuata presso laboratori di Analisi del movimento ha, negli ultimi anni, svolto un ruolo fondamentale nella valutazione della limitazione funzionale del paziente, della sua evoluzione nel tempo e degli effetti di un certo intervento riabilitativo, in quanto in grado di fornire misure quantitative, tridimensionali e multifattoriali. Tra i vari laboratori di Gait Analysis (GA) presenti in Italia, l'IRCCS San Raffaele Pisana è un laboratorio ad alta tecnologia, attivo dal 1996. Questo laboratorio, grazie alla collaborazione con il Gait Lab -L.Divieti- del Politecnico di Milano, ha acquisito negli anni una grande mole di dati di GA di bambini con PCI (dati di cinematica, cinetica ed elettromiografici) prima e dopo intervento riabilitativo, svolgendo un ruolo importante nella valutazione dell'esito del trattamento. Tuttavia, ad oggi, la GA non è ancora stata utilizzata nell'approccio decisionale (ad eccezione di pochi interventi chirurgici).

Questo studio osservazionale retrospettivo ha pertanto come obiettivo l'analisi e organizzazione della banca dati di GA di soggetti con PCI prima e dopo diversi trattamenti riabilitativi. Obiettivo più generale è quello di organizzare la banca dati in sottogruppi sulla base delle caratteristiche cliniche e biomeccaniche di ciascun soggetto e sviluppare un modello predittivo che, da questa precedente organizzazione, sia in grado di individuare il trattamento più adeguato per i soggetti futuri.

Lo studio si prefigge di:

1. Analizzare ed organizzare la banca dati di GA, osservando le relazioni tra le caratteristiche dei pazienti in cui l'intervento riabilitativo è stato efficace e quelle dei pazienti in cui, invece, non lo è stato.
2. Sviluppare un modello predittivo in grado di confrontare il profilo clinico e biomeccanico di soggetti futuri con PCI (che stanno per sottoporsi ad un trattamento riabilitativo) con quelli ottenuti dall'organizzazione della banca dati, implementata al punto 1.

I dati 3DGA dei bambini con PCI, prima e dopo i diversi trattamenti riabilitativi, compongono la banca dati. Tali dati sono stati raccolti nel corso degli ultimi 20 anni, utilizzando la stessa attrezzatura e protocollo certificata da ESMAC Gait Lab peer review. Verranno inclusi nello studio i pazienti, di età compresa tra i 6 e i 12 anni, affetti da PCI, sottoposti a trattamento riabilitativo e che hanno effettuato l'esame di GA prima e dopo il trattamento.

Sono esclusi coloro che non hanno valutazioni prima o dopo il trattamento riabilitativo.

L'outcome che permette di valutare l'esito del trattamento riabilitativo è il Gait Profile Score (GPS), calcolato a partire dal valore dei 9 angoli rappresentativi del pattern deambulatorio del soggetto in esame (angoli del bacino e dell'anca in tutti e tre i piani, flessione-estensione del ginocchio, dorsiflessione-plantariflessione della caviglia e progressione del piede) estratti a incrementi del 2% per tutto il ciclo del passo. Per ciascun angolo viene calcolata la distanza Euclidea (Root Mean Square, RMS) tra i dati del paziente e il valor medio di ciascuna variabile calcolata su un gruppo di soggetti sani, presi come campione di riferimento. Quindi si ottengono 9 punteggi, uno per ciascun angolo, chiamati Gait Variable Score (GVS). Queste 9 GVS concorrono al calcolo del punteggio globale, il GPS (Baker et al., 2009).

Questa analisi consente di eseguire una suddivisione iniziale della banca dati in due gruppi T1 e T2 a seconda dell'efficacia del trattamento in termini di GPS e GVS. In particolare, il gruppo T1 (*outcome positivo*) identifica quei soggetti nei quali l'analisi del post trattamento mostra una differenza statisticamente significativa rispetto al pre, con valori di GPS più vicini ai valori di controllo forniti dalla letteratura. Il Gruppo T2 (*outcome negativo*) è rappresentativo dei soggetti in cui il GPS post trattamento non cambia in modo statisticamente significativo oppure, cambia, ma con valori di GPS ancora lontani dai valori di riferimento.

Effettuata questa prima suddivisione, i restanti item, sono presi in considerazione per suddividere il gruppo T1, rappresentativo dei soggetti con *outcome positivo*, in ulteriori sottogruppi ed osservare se alcuni di essi possano essere considerati come predittori di *outcome* positivo.

Tale procedura di analisi e organizzazione è la base per lo sviluppo di un modello predittivo che permette di individuare il trattamento riabilitativo più adeguato per i pazienti futuri con PCI che si sottoporranno ad esame di GA.

## PUBBLICAZIONI

### DISABILITÀ DELLO SVILUPPO E NEURORIABILITAZIONE PEDIATRICA

#### **Three dimensional motion capture applied to violin playing: A study on feasibility and characterization of the motor strategy.**

Ancillao A, Savastano B, Galli M, Albertini G.

Comput Methods Programs Biomed 2017; 149:19-27.

Playing string instruments requires advanced motor skills and a long training that is often spent in uncomfortable postures that may lead to injuries or musculoskeletal disorders. Thus, it is interesting to objectively characterize the motor strategy adopted by the players. In this work, we implemented a method for the quantitative analysis of the motor performance of a violin player.

The proposed protocol takes advantage of an optoelectronic system and some infra-red reflecting markers in order to track player's motion. The method was tested on a professional violin player performing a legato bowing task. The biomechanical strategy of the upper limb and bow positioning were described by means of quantitative parameters and motion profiles. Measured quantities were: bow trajectory, angles, tracks, velocity, acceleration and jerk.

A good repeatability of the bowing motion ( $CV < 2\%$ ) and high smoothness ( $jerk < 5 \text{ m/s}^3$ ) were observed. Motion profiles of shoulder, elbow and wrist were repeatable ( $CV < 7\%$ ) and comparable to the curves observed in other studies. Jerk and acceleration profiles demonstrated high smoothness in the ascending and descending phases of bowing. High variability was instead observed for the neck angle ( $CV \sim 56\%$ ).

"Quantitative" measurements, instead of "qualitative" observation, can support the diagnosis of motor disorders and the accurate evaluation of musicians' skills. The proposed protocol is a powerful tool for the description of musician's performance, that may be useful to document improvements in playing abilities and to adjust training strategies.

#### **Gait initiation and termination strategies in patients with Prader-Willi syndrome.**

Cimolin V, Cau N, Galli M, Santovito C, Grugni G, Capodaglio P.

J Neuroeng Rehabil. 2017 May 23;14(1):44.

Gait Initiation (GI) is a functional task representing one of the first voluntary destabilizing behaviours observed in the development of a locomotor pattern as the whole body centre of mass transitions from a large to a small base of support. Conversely, Gait Termination (GT) consists in the transition from walking to standing which, in everyday life, is a very common movement. Compared to normal walking, it requires higher control of postural stability. For a safe GT, the forward movement of the body has to be slowed down to achieve a stable upright position. Stability requirements have to be fulfilled for safe GT. In individuals with Prader-Willi syndrome (PWS), excessive body weight negatively affects the movement, such as walking and posture, but there are no experimental studies about GI and GT in these individuals. The aim of this study was to quantitatively characterise the strategy of patients with PWS during GI and GT using parameters obtained by the Center of Pressure (CoP) track.

Twelve patients with PWS, 20 obese (OG) and 19 healthy individuals (HG) were tested using a force platform during the GI and GT tasks. CoP plots were divided into different phases, and duration, length and velocity of the CoP trace in these phases were calculated and compared for each task.

As for GI, the results showed a significant reduction of the task duration and lower velocity and CoP length parameters in PWS, compared to OG and HG. In PWS, those parameters were reduced to a higher degree with respect to the OG. During GT, longer durations, similar to OG, were observed in PWS than HG. Velocity is reduced when compared to OG and HG, especially in medio-lateral direction and in the terminal part of GT.

From these data, GI appears to be a demanding task in most of its sub-phases for PWS individuals, while GT seems to require caution only towards the end of the task. Breaking the cycle of gait into the phases of GI and GT and implementing specific exercises focusing on weight transfer and foot clearance during the transition phase from the steady condition to gait will possibly improve the effectiveness of rehabilitation and fall and injury prevention.

### **Study of cardiac features in adults with down syndrome.**

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

Journal of Intellectual Disability-Diagnosis and Treatment. 2017;5(1):8-23.

Down syndrome (DS) is caused by trisomy of the human chromosome 21 (Hsa21). Approximately 0.45% of human conceptions are trisomic for Hsa21. The incidence of trisomy is influenced by maternal age and differs among populations (between 1 in 319 and 1 in 1000 live births are trisomic for Hsa21). Trisomic fetuses are at an elevated risk of miscarriage, and people with DS have an increased risk of developing several medical conditions. Recent advances in medical treatment and social inclusion have significantly increased the life expectancy of people with DS: in economically developed countries, the average life span of people who are trisomic for Hsa21 is now greater than 55 years.

Trisomy of Hsa21 is associated with a number of features, occurring in all individuals, including mild-to-moderate learning disability, craniofacial abnormalities, hypotonia and movement disorders in early infancy. Although these phenotypes are always found in people with DS, the degree to which an individual is affected varies. Additionally, trisomy of Hsa21 is also associated with variant phenotypes that affect individuals with DS in different percentages, including atrioventricular septal defects (AVSDs) in the heart, acute megakaryoblastic leukaemia (AMKL) and a decrease in the incidence of some solid tumours. In addition, there are a number of medical problems associated with the syndrome, including obesity, muscular hypotonia, ligament laxity and orthopaedic problems, which are responsible for postural and gait alterations widely documented by the literature. We hypothesize that these motor problems may be connected to the high fat percentage, together with other features common in individuals with DS, such as muscle hypotonia and ligament laxity. A recent study quantified in fact the differences during gait between obese individuals with DS and non obese individuals with DS. The results of this study demonstrated that obesity in individuals with DS has quite impact on the gait strategy, and the main differences between obese and non obese individuals with DS are present particular at distal level (ankle joint). Trisomy of Hsa21 has then a significant impact on the development of many tissues, most notably in the heart and in the brain.

Focusing attention on heart, trisomy of Hsa21 is associated with a number of congenital heart defects, the most common being AVSD that occurs in ~20% of the people with DS. In addition, people with DS have been reported to have a reduced incidence of hypertension.

From the literature, the association between the presence of congenital heart defects in people with DS is well known, but less is described about acquired cardiac risk factors. Prasher assessed 201 adults with DS to ascertain the prevalence of medical problems. As concerns cardiac parameters, they found a low heart rate and low blood pressure recordings. However, to our knowledge no other more recent researches were conducted on this topic. According to these considerations and to the clinical need to better investigate the aspects related to cardiac risk factors, the main aim of this study was twofold: first, to provide an overview of the cardiac features in a group of adult individuals with DS, then to search for a possible correlation between cardiac parameters, presence of obesity and gait alterations.

In this way, we aim to improve the knowledge about this area; in this wake of evidence, appropriate and effective intervention could be tailored to the unveiled specific features.

### **Effect of postural insoles on gait pattern in individuals with hemiparesis: A randomized controlled clinical trial.**

Ferreira LAB, Cimolin V, Neto HP, Grecco LAC, Lazzari RD, Dumont AJL, Galli M, Oliveira CS.

J Bodywork Movement Ther. 2017, 1-6.

Recovering the ability to walk is an important goal of physical therapy for patients who have survived cerebrovascular accident (stroke). Orthotics can provide a reduction in plantar flexion of the ankle, leading to greater stability in the stance phase of the gait cycle. Postural insoles can be used to reorganize the tone of muscle chains, which exerts an influence on postural control through correction reflexes. The aim of the present study was to perform kinematic and spatiotemporal analyses of gait in stroke survivors with hemiparesis during postural insole usage. Twenty stroke victims were randomly divided into two groups: 12 in the experimental group, who used insoles with corrective elements specifically designed for equinovarus foot, and eight in the control group, who used placebo insoles with no corrective elements. Both groups were also submitted to conventional physical therapy. The subjects were analyzed immediately following insole placement and after three months of insole usage. The SMART-D 140® system (BTS Engineering) with eight cameras sensitive to infrared light and the 32-channel SMART-D INTEGRATED WORKSTATION®

were used for the three-dimensional gait evaluation. Significant improvements were found in kinematic range of movement in the ankle and knee as well as gains in ankle dorsiflexion and knee flexion in the experimental group in comparison to the control group after three months of using the insoles. Postural insoles offer significant benefits to stroke survivors regarding the kinematics of gait, as evidenced by gains in ankle dorsiflexion and knee flexion after three months of usage in combination with conventional physical therapy.

### **An examination of the relationship between dynamic knee joint stiffness and gait pattern of children with cerebral palsy.**

Galli M, Cimolin V, Condoluci C, Costici PF, Brunner R.  
J Bodywork Movement Ther. 2017 [Epub ahead of print]

Dynamic joint stiffness represents the resistance that a joint opposes to an applied moment. Stiffness arises in conditions of joint laxity, instability and increased co-contraction and is commonly utilized as a means to stabilize the joint. The knee joint seems to be crucial for determining the walking pattern. The aim of this study was to investigate the association between the gait pattern, globally quantified by the Gait Profile Score (GPS), which indicates the 'quality' of a particular walking strategy, and knee dynamic joint stiffness (Kk) in children with diplegia. Kk is expressed by plotting the values of the knee flexion-extension moment versus the knee flexion-extension angle during weight acceptance. In this interval, the linear regression was fitted. The angular coefficient of the linear regression corresponded to the joint stiffness index. Sixty-one children with diplegia and 18 healthy individuals took part in this study. From their gait analysis data, the GPS (with its Gait Variable Scores-GVSs) and the Kk were calculated. Data showed that GPS ( $p = 2.73 \times 10^{-21}$ ) and GVSs values for the patients with diplegia were higher in comparison to healthy controls. The Kk values for patients were not statistically different from those of controls. The correlation between Kk and GPS did not show the presence of any significant relationship ( $r = -0.04$ ;  $p > 0.05$ ). Thus, the functional limitation in diplegic children does not seem to be strictly related to Kk.

### **Postural sway in adolescent athletes: a comparison among volleyball, basketball and gymnastics players.**

Galli M, Cimolin V, Rigoldi C, Moro M, Loi A, Pau M.  
Gazz Med Ital Arch Sci Med. 2017;176(10):515-520.

The analysis of the postural control in adolescent athletes could provide information useful to reduce the risk of injuries or identify possible talents. The aim of the present study was to compare static balance among young athletes currently competing or training in volleyball, basketball, and gymnastics.

Forty-five young female athletes (volleyball, N.=15; basketball, N.=15; gymnastic, N.=15) were quantitatively assessed by means of a pressure platform and the center of pressure (CoP) pattern was analyzed. The participants were required to maintain an upright standing position for 30 seconds with Open Eyes (OE) and then with Closed Eyes (CE).

In OE condition, gymnastic athletes are characterized by higher CoP velocity and length than basketball and volleyball, while the two latter were found not statistically different. In CE condition, such result persists and the comparison of basketball vs. volleyball athletes shows a significant difference.

The data obtained in this study could provide insight into the development of specific postural strategies required by a particular sport. The identification of postural deficits is particularly important in young athletes, because, if found in advance, specific interventions and balance training could reduce the risk of injury and the development of sport related pathological strategies.

### **Timed up and go evaluation with wearable devices: Validation in parkinson's disease.**

Kleiner A, Pacifici I, Vagnini A, Camerota F, Celletti C, De Pandis MF, Galli M.  
J Bodywork Movement Ther. 2017 [Epub ahead of print]

The Timed Up and Go test (TUG) is used to assess individual mobility. It evaluates static and dynamic balance by means of the total time required to complete the test, usually measured by a stopwatch. In recent years tools based on portable inertial measurement units (IMU) for clinical application are increasingly available on the market. More specifically, a tool (hardware and dedicated software) to quantify the TUG test based on IMU is now available. However, it has not yet been validated in subjects with Parkinson's



disease (PD). Thus, the aim of this study is to compare measurements from instrumented TUG tests (or iTUG) acquired by an IMU with those obtained using an optoelectronic system (the gold standard) and by a stopwatch, to gain an in-depth understanding of IMU behavior in computing iTUG in subjects with PD. To do this, three TUG test trials were carried out on 30 subjects with PD and measured with all three systems simultaneously. System agreements were evaluated using Intraclass Correlation Coefficient and Bland-Altman plots. The device tested showed excellent reliability, accuracy and precision in quantifying total TUG test duration. Since TUG is a widely used test in rehabilitation settings, its automatic quantification through IMUs could potentially improve the quality of assessments in the quantification of PD gait ability.

**The effects of automated mechanical peripheral stimulation in functional mobility and neuroplasticity of subjects with parkinson's disease: a hierarchical cluster analysis.**

Kleiner AFR, Pagnussat AS, Pinto C, Frantz A, Marchese R, Paula Salazar A, Galli M.  
Gait Posture. 2017;57:45-46.

**Effects of virtual reality on parkinsonian gait: Blind controlled randomized clinical trial protocol.**

Lameira de Melo G, Franco de Moura R, Lopes J, Fonseca Junior P, Lazzari R, de Almeida Carvalho Duarte, N., Zaffalon Junior J, Dumont A, Kleiner A, Galli M.  
Manual Therapy, Posturology & Rehabilitation Journal. 2017;15:1-7.

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative condition that exerts a negative influence on postural control and mobility, predominantly among older adults, affecting mobility and increasing the risk of slipping, tripping and falls. The aim of the study is to determine the effectiveness of gait training with the aid of virtual reality on balance and gait in comparison to treadmill training and conventional gait training for subjects with PD. A prospective, randomized, controlled blind, clinical trial is proposed. The sample will comprise 45 individuals with Parkinson's disease randomly allocated to three groups (Control: conventional gait training; Experimental I: treadmill training; and Experimental II: gait training involving virtual reality). Evaluations will be conducted on four occasions: 1) pre-intervention; 2) immediately after one session; 3) post-intervention; and 4) one month after last session. The evaluations will involve the Berg Balance Scale, Tinetti Test, Unified Parkinson's Disease Rating Scale and Hoehn and Yahr Scale. The G-WALK (BTS) inertial sensor will be used for the evaluation of spatiotemporal gait variables, the Timed Up and Go test and the Six-Minute Walk Test. Training will involve 20-minute sessions held three times per week for four consecutive weeks. The results will be analyzed statistically by two-way ANOVA for the data with parametric distribution or Friedman's two-way ANOVA for non-parametric data ( $\alpha < 0.05$ ). The proposed study will compare gait conventional training, treadmill training and training with virtual reality with regard to improvements in gait and balance in patients with PD. The results will be published and will contribute evidence on the use of these interventions for individuals with PD.

Lopes JBP, Grecco LAC, Moura RCF, Lazzari RD, Duarte NAC, Miziara I, Melo GEL, Dumont AJL, Galli M, Santos Oliveira C.

**Protocol study for a randomised, controlled, double-blind, clinical trial involving virtual reality and anodal transcranial direct current stimulation for the improvement of upper limb motor function in children with Down syndrome.**

BMJ Open. 2017 Aug 11;7(8):e016260.

Down syndrome results in neuromotor impairment that affects selective motor control, compromising the acquisition of motor skills and functional independence. The aim of the proposed study is to evaluate and compare the effects of multiple-monopolar anodal transcranial direct current stimulation and sham stimulation over the primary motor cortex during upper limb motor training involving virtual reality on motor control, muscle activity, cerebral activity and functional independence. A randomised, controlled, double-blind, clinical trial is proposed. The calculation of the sample size will be defined based on the results of a pilot study involving the same methods. The participants will be randomly allocated to two groups. Evaluations will be conducted before and after the intervention as well as 1 month after the end of the intervention process. At each evaluation, three-dimensional analysis of upper limb movement muscle activity will be measured using electromyography, cerebral activity will be measured using an electroencephalogram

system and intellectual capacity will be assessed using the Wechsler Intelligence Scale for Children. Virtual reality training will be performed three times a week (one 20 min session per day) for a total of 10 sessions. During the protocol, transcranial stimulation will be administered concomitantly to upper limb motor training. The results will be analysed statistically, with a  $p$  value  $\leq 0.05$  considered indicative of statistical significance. The present study received approval from the Institutional Review Board of Universidade Nove de Julho (Sao Paulo, Brazil) under process number 1.540.113 and is registered with the Brazilian Registry of Clinical Trials (N<sup>o</sup> RBR3PHPXB). The participating institutions have presented a declaration of participation. The volunteers will be permitted to drop out of the study at any time with no negative repercussions. The results will be published and will contribute evidence regarding the use of this type of intervention on children.

### **Effects of a single session of transcranial direct current stimulation on upper limb movements in children with cerebral palsy: A randomized, sham-controlled study.**

Moura RCF, Santos C, Collange Grecco L, Albertini G, Cimolin V, Galli M, Oliveira C.

Dev Neurorehabil. 2017 Aug;20(6):368-375.

Motor impairment in children with spastic hemiparetic cerebralpalsy (CP) is generally more prominent in the affected upperlimb, leading to limitations in hand function stemming from deficiencies in motor coordination and selective motor control as well as muscle weakness, slower execution of movements and deficient integration of sensory-motor information.

The aim of the study is to determine the effect of a single session of anodal transcranial direct current stimulation (tDCS) combined with functional training on the spatiotemporal variables of upper arm movements in children with spastic hemiparesis.

A randomized, sham-controlled trial with a blinded evaluator was conducted involving 20 children with CP between 6 and 12 years of age. The spatiotemporal variables of the upper limbs were analyzed by comparing the results of Evaluation 1 (before stimulation) and Evaluation 2 (immediately after stimulation). The protocol consisted of a 20-minute session of functional training of the paretic upperlimb combined with tDCS administered over the primary motor cortex of the hemisphere contralateral to the motor impairment at an intensity of 1 mA. The participants were randomly allocated to two groups: experimental group (anodal tDCS) and control group (sham tDCS).

Statistically significant ( $p < 0.05$ ) reductions in total movement duration and returning movement duration were found in both the paretic and non-paretic limbs in the group submitted to active tDCS. No significant differences were found in the control group for any of the variables analyzed.

A single session of anodal tDCS over the primary motor cortex of the hemisphere ipsilateral to the brain lesion led to momentary motor improvements in both upper limbs of the children with spastic hemiparetic CP analyzed in the present study.

### **Osteopathic manipulation of the ankle improves spinal flexibility in elite alpine skiers: a pilot study.**

Parisio C, Vismara L, Micotti V, Cimolin V, Aprile D, Cavigioli M, Panzeri A, Manzotti A, Galli M, Capodaglio P.

Gazz Med Ital – Arch Sci Med 2017;176:265-270.

The prolonged restrictions of ankle degrees-of-freedom when wearing ski-boots leads to prolonged mechanical compression of the athlete's ankle and feet with alteration of the mechano-receptors in the skin of the sole of the foot. Our hypothesis was that prolonged repetitive use of ski boots may impair ankle function and, ultimately, postural control in skiers. This study conducted on elite alpine skiers was designed to verify if an osteopathic treatment aimed at improving ankle function may affect postural control on skiers.

Seven elite skiers were assessed using three-dimensional quantitative movement analysis of the spine and postural analysis before and after osteopathic manipulative treatment (OMT). OMT consisted of low-amplitude thrusts in the ankle and myofascial release of the interosseous membrane and shank.

The range of motion of the shoulders in the frontal plane, of pelvic obliquity and lumbar curve increased significantly after OMT. No changes appeared in terms of posture. This study shows that a single OMT session targeted to the ankle seems to induce beneficial biomechanical effects in terms of spinal flexibility in elite alpine skiers. This may be beneficial for the athlete's performance capacity and safety.

### **Quantitative assessment of the effects of 6 months of adapted physical activity on gait in people with multiple sclerosis: a randomized controlled trial.**

Pau M, Corona F, Coghe G, Marongiu E, Loi A, Crisafulli A, Concu A, Galli M, Marrosu MG, Cocco E.

Disabil Rehabil. 2017 Jan 13:1-11.

The purpose of this study is to quantitatively assess the effect of 6 months of supervised adapted physical activity (APA i.e. physical activity designed for people with special needs) on spatio-temporal and kinematic parameters of gait in persons with Multiple Sclerosis (pwMS).

Twenty-two pwMS with Expanded Disability Status Scale scores ranging from 1.5 to 5.5 were randomly assigned either to the intervention group (APA, n=11) or the control group (CG, n=11). The former underwent 6 months of APA consisting of 3 weekly 60-min sessions of aerobic and strength training, while CG participants were engaged in no structured PA program. Gait patterns were analyzed before and after the training using three-dimensional gait analysis by calculating spatio-temporal parameters and concise indexes of gait kinematics (Gait Profile Score - GPS and Gait Variable Score - GVS) as well as dynamic Range of Motion (ROM) of hip, knee, and ankle joints.

The training originated significant improvements in stride length, gait speed and cadence in the APA group, while GPS and GVS scores remained practically unchanged. A trend of improvement was also observed as regard the dynamic ROM of hip, knee, and ankle joints. No significant changes were observed in the CG for any of the parameters considered.

The quantitative analysis of gait supplied mixed evidence about the actual impact of 6 months of APA on pwMS. Although some improvements have been observed, the substantial constancy of kinematic patterns of gait suggests that the full transferability of the administered training on the ambulation function may require more specific exercises. Implications for rehabilitation Adapted Physical Activity (APA) is effective in improving spatio-temporal parameters of gait, but not kinematics, in people with multiple sclerosis. Dynamic range of motion during gait is increased after APA. The full transferability of APA on the ambulation function may require specific exercises rather than generic lower limbs strength/flexibility training.

### **Body-scaled action in obesity during locomotion: Insights on the nature and extent of body representation disturbances.**

Scarpina F, Cau N, Cimolin V, Galli M, Castelnuovo G, Priano L, Pianta L, Corti S, Mauro A, Capodaglio P.

J Psychosom Res. 2017 Nov;102:34-40.

Conscious perception of our own body, also known as body image, can influence body-scaled actions. Certain conditions such as obesity are frequently accompanied by a negative body image, leaving open the question if body-scaled actions are distorted in these individuals. To shed light on this issue, we asked individuals affected by obesity to process dimensions of their own body in a real action: they walked in a straight-ahead direction, while avoiding collision with obstacles represented by door-like openings that varied in width. Participants affected by obesity showed a body rotation behavior similar to that of the healthy weighted, but differences emerged in parameters such as step length and velocity. When participants with obesity walk through door-like openings, their body parts rotation is scaled according to their physical body dimensions; however, they might try to minimize risk of collision. Our study is in line with the hypothesis that unconscious body-scaled actions are related to emotional, cognitive and perceptual components of a negative body image.

### **How multi segmental patterns deviate in spastic diplegia from typical developed.**

Zago M, Sforza C, Bona A, Cimolin V, Costici PF, Condoluci C, Galli M.  
Clin Biomech (Bristol, Avon). 2017 Aug 8;48:103-109.

The relationship between gait features and coordination in children with Cerebral Palsy is not sufficiently analyzed yet. Principal Component Analysis can help in understanding motion patterns decomposing movement into its fundamental components (Principal Movements). This study aims at quantitatively characterizing the functional connections between multi-joint gait patterns in Cerebral Palsy. 65 children with spastic diplegia aged 10.6 (SD 3.7) years participated in standardized gait analysis trials; 31 typically developing adolescents aged 13.6 (4.4) years were also tested. To determine if posture affects gait patterns, patients were split into Crouch and knee Hyperextension group according to knee flexion angle at standing. 3D coordinates of hips, knees, ankles, metatarsal joints, pelvis and shoulders were submitted to Principal Component Analysis. Four Principal Movements accounted for 99% of global variance; components 1-3 explained major sagittal patterns, components 4-5 referred to movements on frontal plane and component 6 to additional movement refinements. Dimensionality was higher in patients than in controls ( $p < 0.01$ ), and the Crouch group significantly differed from controls in the application of components 1 and 4-6 ( $p < 0.05$ ), while the knee Hyperextension group in components 1-2 and 5 ( $p < 0.05$ ). Compensatory strategies of children with Cerebral Palsy (interactions between main and secondary movement patterns), were objectively determined. Principal Movements can reduce the effort in interpreting gait reports, providing an immediate and quantitative picture of the connections between movement components.

## **LINEA 5**

**Identificazione di nuovi modelli organizzativi e gestionali per ottimizzare la risposta riabilitativa nel paziente disabile**

---

## AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

*Sviluppo e implementazione di un Network Italiano di Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale.*

*Sottoprogetto: La riabilitazione domiciliare con controllo remoto: sistemi innovativi per la somministrazione, la valutazione e la misura dell'esercizio riabilitativo.*

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. 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. 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.

Si intende svolgere esercizi riabilitativi domiciliari senza controllo diretto del personale clinico e con i seguenti elementi innovativi:

- 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, caregiver o fisiatra del lavoro svolto 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 standardizzazione delle procedure sulla struttura condivisa in cloud networking tra gli IRCCS.

L'attività di ricerca attesa per il prossimo anno riguarderà: la messa a punto del protocollo condiviso dai centri inclusi nello studio multicentrico (NetworK IRCCS); prima fase pilota su un campione ridotto per testare la fattibilità e la compliance dei pazienti; definizione finale degli assessment previsti e degli esercizi selezionati per questo studio nell'ambito delle molteplici possibilità che ci dà la strumentazione acquisita; messa a punto del protocollo definitivo ed inizio dello studio randomizzato controllato vero e proprio.

*La riabilitazione con Realtà Virtuale Khymeia in pazienti con sostituzione totale di ginocchio: valutazione clinica e strumentale*

La protesizzazione di ginocchio è ormai una tecnica sempre più utilizzata ed interessa pazienti sempre più giovani a partire dalla quinta-sesta decade di vita. Tali pazienti sono caratterizzati da un peggioramento delle abilità neuromotorie, dovuto prevalentemente alla perdita delle afferenze propriocettive a causa della protesizzazione. Lo scopo di questo studio è verificare se la Terapia Riabilitativa con Realtà Virtuale (TRRV) attraverso il sistema VRRS Khymeia possa migliorare in

maniera significativa il recupero delle abilità neuromotorie rispetto alla terapia riabilitativa tradizionale.

Il progetto propone di effettuare la riabilitazione attraverso la realtà virtuale del paziente operato di protesi elettiva di ginocchio, con l'obiettivo di:

1. Osservare differenze nella ripartizione del carico bi podalico nel gruppo che esegue una rieducazione con realtà virtuale rispetto a chi esegue il trattamento tradizionale.
2. Osservare differenze nei tempi di recupero di una deambulazione corretta nel gruppo che esegue una rieducazione con realtà virtuale rispetto a chi esegue un trattamento tradizionale.
3. Osservare differenze nei pattern neurofisiologici nei due gruppi.

I risultati ottenuti nel 2017 hanno riguardato la sperimentazione della riabilitazione posturale e propriocettiva mediante TRRV su 10 pazienti con TKR, reclutati entro 10 giorni dall'intervento: 5 ( $64 \pm 12$  anni) gruppo di RV (VRG); 5 ( $71 \pm 4$ ) gruppo di controllo (CG). Tutti i soggetti hanno condotto 15 sessioni di 45-minuti (5 volte/settimana) di esercizi di propriocezione e controllo posturale con TRRV (VRG) o di tipo tradizionale (CG). Il VRG ha utilizzato il VRRS (Khymeia, Italia) in piedi su una balance board interagendo con videogame tramite un bio-feedback visivo in tempo reale. Le valutazioni cliniche e l'analisi del cammino (BTS SMART-DX, Italia) sono state eseguite prima (T1) e dopo (T2) il ciclo riabilitativo. Il Wilcoxon test ( $p < 0,05$ ) è stato utilizzato per rilevare differenze significative tra T1 e T2.

I risultati preliminari ottenuti non mostrano differenze significative tra i gruppi a T1. Miglioramenti significativi sono presenti a T2 nel 10mWT, MRC QF, MRC TA e VAS nei due gruppi. Solo il VRG ha un miglioramento significativo nel TUG a T2. I parametri spazio-temporali dall'analisi del cammino mostrano un variazione significativa solo nel VRG.

In conclusione, un'analisi preliminare dei dati a disposizione mostra che la TRRV può migliorare le capacità motorie (cammino, controllo posturale e cambio di direzione) nei pazienti con TKR rispetto alla terapia tradizionale.

L'attività di ricerca nel 2018 riguarderà l'analisi dei segnali elettrofisiologici acquisiti, la conclusione del reclutamento dei pazienti, e l'analisi statistica finale sui dati clinici acquisiti.

## AREA DI RICERCA CEFALEA E DOLORE NEUROPATICO

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

Lo scopo della creazione di un registro nazionale italiano è quello di ottimizzare la definizione e gli endofenotipi dell'emicrania cronica, migliorando la gestione delle risorse economiche e delle procedure legate a questa patologia.

Sono stati arruolati 63 pazienti consecutivi affetti da emicrania cronica (EC) in 4 centri italiani di III livello (Roma, Bologna, Parma, Milano). Durante la visita ambulatoriale i pazienti sono stati sottoposti ad un questionario dedicato che include tutte le informazioni dettagliate sullo stile di vita, dati socio-demografici, caratteristiche cliniche dell'emicrania prima e dopo la cronicizzazione e utilizzo delle risorse (esami strumentali, accessi in Pronto Soccorso, ospedale, invalidità).

Questo studio pilota ha dimostrato che i pazienti affetti da EC: 1) presentano nella maggioranza dei casi sintomi di attivazione trigeminale, una caratteristica non usuale che può essere utile per rilevare differenti endofenotipi e per predire la risposta a trattamenti che agiscono sul sistema trigeminale; 2) si recano frequentemente in ospedale (in prevalenza accessi in Pronto Soccorso; 3) hanno effettuato, spesso in maniera ripetuta, accertamenti inutili o inappropriati; 4) raramente fruiscono riconoscimenti legati relativi alla loro invalidità o indennità.

E' prevista la prosecuzione di questo studio pilota che coinvolgerà più di 20 centri italiani.

Tabella: Synopsis of socio-demographic and clinical features of CM patients, health resource utilization and socio-economic benefits

Socio-demographic and anamnestic data				
Patients n.	63			
Sex (F/M)	51/12			
Age (yrs)	47.4 ± 14.6			
Years of education	<5: 3 (4.8%)	6-8: 15 (23.8%)	9-13: 24 (38.1%)	≥14: 15 (23.8%)
Employment status	Employed: 34 (54%)	Housewife: 10 (16%)	Unemployed: 8 (12.6%)	Retired: 7 (11.1%) Student: 4 (6.3%)
Civil status	Married/Living common-law: 43 (68.3%)		Single: 13 (20.7%)	Divorced: 6 (9.5%) Widow: 1 (1.5%)
Body mass index (mean ± SD)	23.8 ± 3.7			
Coffee, cups/day (mean ± SD)	2.29 ± 2.01			
Smoking habits	Nonsmoker: 44 (69.8%)		Previous smoker: 8 (12.7%)	Current smoker: 11 (17.5%)
Alcohol users	16 (25.4%)			
Sport participants	16 (25.4%)			
Menopause, pts	16 (25.39%)			
Hormonal replacement therapy, pts	2 (3.2%)			
Oral contraceptives, pts	5 (9.8%)			
Comorbidities	- Psychiatric: 31 (49.2%) - Sleep disturbances: 25 (39.7%) - Gastrointestinal: 12 (19%) - Endocrinological: 11 (17.5%)	- Hypertension: 8 (12.7%) - Gynecological: 7 (11.2%) - Dyslipidemia: 7 (11.1%) - Trauma: 6 (9.5%)	- Neurological: 4 (6.3%) - Diabetes: 2 (3.2%) - Other cardiovascular: 1 (1.6%) - Respiratory: 1 (1.6%)	- Others: 8 (12.7%)
Characteristics of previous EM				
Age at EM onset, yrs	15.2 ± 6.6			
Family history of EM	47 (74.6%)			
Migraine	Without aura: 58 (92.1%)		Without aura + with aura: 5 (7.9%)	
Concomitant headaches	Tension-type headache: 3 (4.7%)			
Attack frequency, days/month	5.6 ± 5.4			
Acute treatments	NSAIDs: 42 (66.7%)			
Prophylaxis	Ca <sup>++</sup> antagonists: 13 (20.6%) - Flunarizine: 12 (19%) - Cinnarizine: 2 (3.2%)	Antidepressants: 11 (17.5%) - Amitriptyline: 10 (15.9%) - Venlafaxine: 3 (4.8%) - Duloxetine: 3 (4.8%) - Fluoxetine: 1 (1.6%) - Paroxetine: 1 (1.6%)	Triptans: 26 (41.3%) Antiepileptics: 8 (12.7%) - Topiramate: 6 (9.5%) - Sodium valproate: 4 (6.3%) - Pregabalin: 3 (4.8%) - Gabapentin: 1 (1.6%)	Analgesic combinations: 20 (31.7%) Acupuncture: 8 (12.7%) Beta-blockers: 7 (11.1%) - Propranolol: 5 (7.9%) - Atenolol: 2 (3.2%) Anti-serotonergics: - Pizotifen: 6 (7.9%)
				Nutraceuticals: 4 (6.3%) - Riboflavin: 6 (9.5%) - Magnesium: 2 (3.2%) Osteopathy: 2 (3.2%)
Characteristics of current CM				
Age at CM onset	36.6 ± 14.1 yrs			
Putative chronicization factors (based on patient opinion)	- None: 72 (55.6%)		- Physiological events: 5 (7.9%) - Comorbidities: 2 (3.2%)	
Family history of MO	10 (15.8%)			
Headache frequency, days/month	24.5 ± 30.4			
Pain location	Unilateral: 27 (42.8%)	Bilateral: 14 (22.2%)	Unilateral or bilateral: 22 (35%)	
Pain quality	Pulsating: 40 (63.5%)	Pressing: 17 (27%)	Other: 8 (12.7%)	
Intensity	Mild: 3 (4.7%)	Moderate: 21 (33.3%)	Severe: 39 (62%)	
Disability	Mild: 1 (1.6%)	Moderate: 21 (33.3%)	Severe: 37 (58.7%)	
Associated symptoms	Vegetative: 53 (84.1%)	Cranial parasympathetic: 15 (23.8%)		



Albodyna		32 (50.7%)			
Acute treatment		NSAIDs: 32 (50.8%)	Triptans: 46 (73%)	Analgesic combinations: 19 (30.2%)	
Acute treatment, mean monthly dose		NSAIDs: 13.6 ± 9.2	Triptans: 40 ± 7.3	Analgesic combinations: 31 ± 7.2	
Medication overuse		38 (60.3%)			
Medications overused		- Triptans: 21 (55.3%) - NSAID: 7 (18.5%) - Analgesic combinations: 4 (10.5%)	- Inptans + NSAIDs: 3 (7.6%) - Inptans + Analgesic combinations: 2 (5.3%) - NSAID + Analgesic combination: 1 (2.6%)		
Prophylaxis	Antiepileptics: 42 (36.7%) - Topiramate: 39 (61.9%) - Sodium valproate: 13 (20.6%) - Pregabalin: 10 (15.9%) - Gabapentin: 6 (9.5%)	Beta-blockers: 25 (30.7%) - Propranolol: 15 (23.0%) - Atenolol: 10 (20.0%) - Timolol: 3 (4.6%) - Metoprolol: 1 (1.0%) - Nadolol: 1 (1.6%) - Nebivolol: 1 (1.6%)	Anti-acetoninergics: 8 (12.7%) - Pizotifen: 7 (11.1%) - Methysergide: 1 (4.0%) Sartans: 3 (4.8%) - Candesartan: 3 (4.0%) Nutraceuticals: 12 (19.0%) - Riboflavin: 10 (15.9%) - Coenzyme Q10: 3 (4.6%) - Magnesium: 2 (3.2%) - Phenacetum Parvatum: 1 (1.6%)	Others: - Acupuncture: 10 (20.0%) - Rehab/osteopathy: 9 (14.3%) - Psychotherapy: 5 (7.9%) - Vagus nerve stimulation: 4 (6.3%) - Occipital nerve block: 3 (4.8%) - Occipital nerve stimulation: 1 (1.6%)	
	- Duloxetine: 6 (9.5%) - Paroxetine: 6 (9.5%) - Venlafaxine: 1 (1.6%) BoNT-A: 26 (41.3%)	Calcium antagonists: 23 (36.5%) - Flunarizine: 17 (27%) - Cinnarizine: 6 (9.5%)			
<b>Health resource utilization</b>					
Investigations, pts	Brain CT scan: 24 (36.0%) - once: 15 (62.5%) - twice: 5 (20.8%) - 3 times: 2 (8.3%) - 4 times: 1 (4.2%) - 5 times: 1 (4.2%)	Brain MRI: 36 (57.1%) - once: 27 (75%) - twice: 5 (13.9%) - 3 times: 3 (8.4%) - 4 times: 1 (2.7%)	EEG: 17 (26.9%) - once: 14 (82.3%) - twice: 1 (5.9%) - 3 times: 1 (5.9%) - 8 times: 1 (5.9%)	Cervical MRI: 12 (19.0%) - once: 9 (75%) - twice: 2 (16.7%) - 5 times: 1 (8.3%)	Cervical X-ray: 5 (7.9%) - once: 4 (80%) - twice: 1 (20%)
	Headache specialist: 33 (52.4%) General practitioner: 31 (40.2%) Other specialist: 10 (20.0%) None: 12 (19%) - self-prescription: 7 (11.1%) - friend/relative advice: 4 (6.3%) - media suggestions: 1 (1.6%)				
Hospitalization, pts	Inpatient: 17 (12.7%) - once: 9 (53%) - twice: 3 (17.6%) - 3 times: 4 (23.5%) - 4 times: 1 (5.9%)	UH: 6 (9.5%) - once: 4 (66.6%) - twice: 1 (16.7%) - 12 times: 1 (16.7%)	ED access: 23 (36.5%) - once: 5 (21.7%) - twice: 0 (0.0%) - 3 times: 2 (8.0%) - 4 times: 2 (8.0%) - 5 times: 3 (13%) - 8 times: 1 (4.3%) - 10 times: 1 (4.3%) - 20 times: 1 (4.3%)		
	<b>Socio-economic benefits</b>				
Disability allowance	3 (4.7%)				
Illness benefit exemption	4 (6.3%)				

## AREA DI RICERCA EPIDEMIOLOGIA CLINICA E MOLECOLARE

*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*

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 mirati di tipo educativo. 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.

Lo studio intende valutare la differenza, in termini di riduzione relativa, di cadute domiciliari riportate ed eventuali conseguenti fratture e/o di ammissioni al PS 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 risiede nella 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 endpoints secondari:

- 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 coinvolti circa 100 MMG ai quali è stato 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).

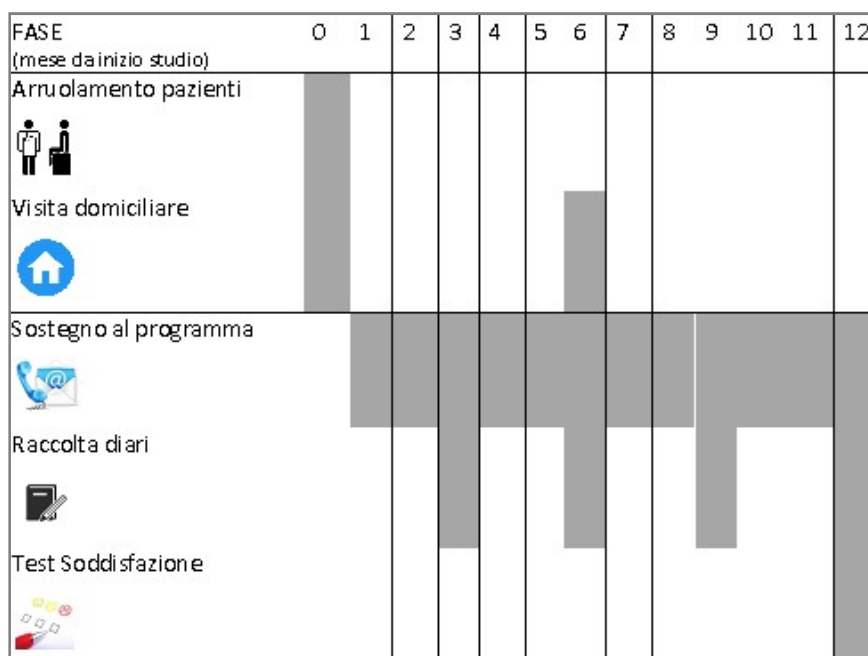
Per ogni Medico di Medicina Generale vengono reclutati i primi 20 pazienti che arrivano ad osservazione (visita in studio, visita domiciliare, visita domiciliare programmata). Di questi, 10 pazienti vengono randomizzati per ricevere una lista di istruzioni e suggerimenti per evitare le cadute in ambito 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 vengono 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 verranno proposte le stesse raccomandazioni in merito ad 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, Fase 6 (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 (Figura 1):

Figura 1



Lo studio dura complessivamente 18 mesi (di cui 12 mesi di trattamento).

Si prevedono 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.

Entro Gennaio 2018 saranno ottenute le approvazioni degli oltre 50 comitati etici.

Alla fine dell'anno 2017 sono stati reclutati circa 1.700 dei 2.100 pazienti ed è previsto il raggiungimento del target previsto nei mesi successivi.

Risultati contrastanti sono stati osservati in studi clinici e studi osservazionali che hanno valutato l'associazione tra l'uso di statine e il rischio di frattura. Uno studio caso-controllo in una popolazione di pazienti anziani trattati con statine per la prevenzione secondaria cardiovascolare ha dimostrato che l'uso di statine è utile nella prevenzione cardiovascolare secondaria ed è associato alla riduzione del rischio di frattura negli anziani.

#### *Statine e riduzione del rischio di fratture*

Gli I-GrADE investigators del progetto osservazionale AIFA-IGRADE hanno valutato, attraverso la consultazione della banca dati di AIFA, l'uso di statine in una popolazione di persone con età  $\geq 65$  anni.

Si tratta di uno studio caso-controllo in una coorte di pazienti anziani, con malattie cardiovascolari, trattati con statine, per la prevenzione secondaria del rischio di frattura. La coorte era formata da 13.875 individui di età  $\geq 65$  anni, provenienti da diverse unità sanitarie italiane, trattati con statine dopo dimissione per esiti cardiovascolari. In questa coorte 964 pazienti hanno subito una frattura (Tabella 1).

Risultati:

L'uso di statine per la prevenzione cardiovascolare secondaria è associato alla riduzione del rischio di frattura negli anziani (Figura 2).

Ulteriori studi sono raccomandati per valutare meglio l'associazione tra statine e fratture nelle donne in postmenopausa.

	Case patients	Controls
Men	422 (43.8%)	2043 (44.1%)
Age at event date: mean (SD)	80.1 (6.0)	79.7 (5.8)
First line therapy with statins		
Class		
Atorvastatin	326 (33.8%)	1656 (35.8%)
Fluvastatin	33 (3.4%)	148 (3.2%)
Pravastatin	103 (10.7%)	560 (12.1%)
Rosuvastatin	29 (3.0%)	171 (3.7%)
Simvastatin	473 (49.1%)	2094 (45.2%)
Potency		
High	316 (32.8%)	1614 (34.9%)
Previous drug therapies		
Antiarrhythmics	86 (8.9%)	344 (7.4%)
Digoxin	91 (9.4%)	311 (6.7%)
Oral hypoglycemic agents	195 (20.2%)	806 (17.4%)
Benzodiazepine	4 (0.4%)	11 (0.2%)
Antiepileptic	42 (4.4%)	136 (2.9%)
Antihypertensive	788 (81.7%)	3585 (77.5%)
Hormone replacement therapy	24 (2.5%)	121 (2.6%)
Corticosteroids	157 (16.3%)	615 (13.3%)
Anti-thyroid preparations	1 (0.1%)	9 (0.2%)
Bisphosphonates	37 (3.8%)	134 (2.9%)
Raloxifene	1 (0.1%)	7 (0.2%)
Calcium	32 (3.3%)	149 (3.2%)
Vitamin D	17 (1.8%)	82 (1.8%)
Proton pump inhibitors and H2 receptor	324 (33.6%)	1306 (28.2%)
Comorbidities		
History of CV disease	185 (19.2%)	694 (15.0%)
Hyperthyroidism/hyperparathyroidism	3 (0.3%)	35 (0.8%)
Celiac disease	0 (0.0%)	1 (0.0%)
Chronic liver disease	19 (2.0%)	52 (1.1%)
Charlson comorbidity index score		
0	177 (18.4%)	1129 (24.4%)
1	431 (44.7%)	2080 (44.9%)
$\geq 2$	356 (36.9%)	1420 (30.7%)

CV, cardiovascular; SD, standard deviation.

Tabella 1. Caratteristiche basali di 964 pazienti ospedalizzati per frattura e i corrispondenti 4629 controlli

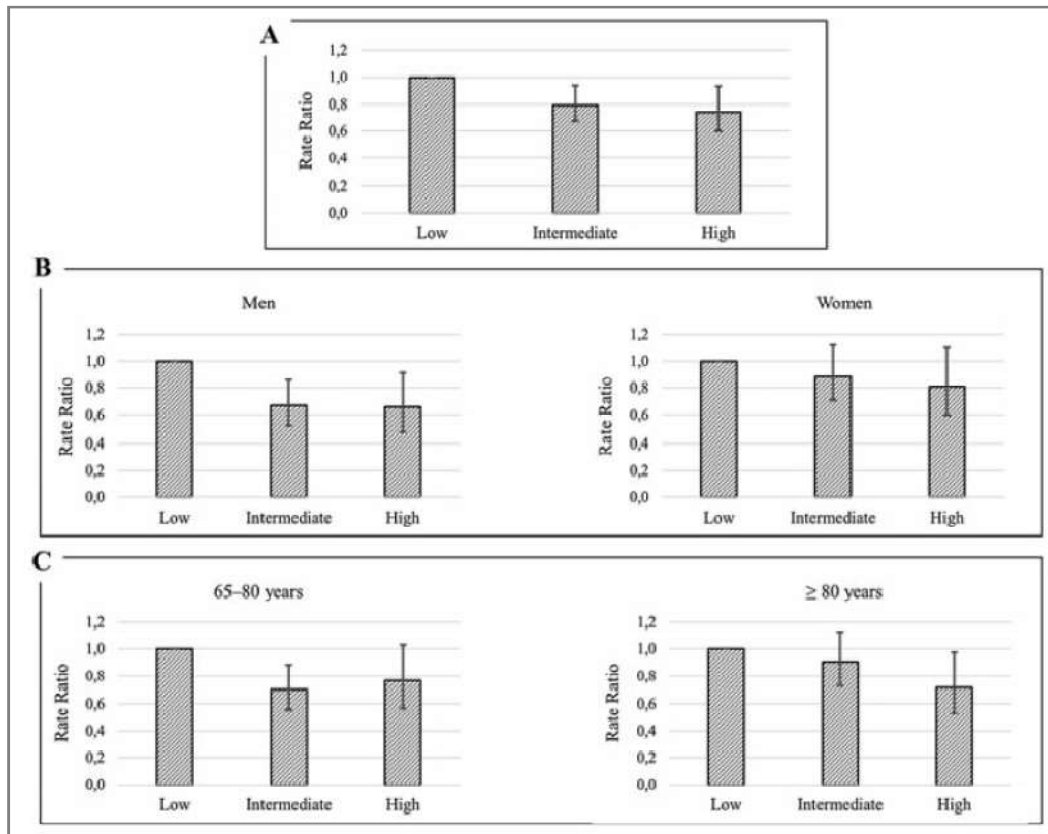


Figura 2. Effetto dell'aderenza alla terapia con statine sul tasso di frattura nell'intera coorte (casella A) e in base al genere (casella B) e all'età alla data dell'evento (casella C).

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

Lo scompenso cardiaco, sindrome evolutiva della patologia cardiovascolare, è una condizione clinica che sta assumendo dimensione 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. E' 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.

Si intende valutare la fattibilità, efficacia e 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 sono l'efficacia del training su capacità funzionale, qualità di vita ed aspetti economici.

La Rete cardiovascolare IRCCS in cui viene svolto questo studio, coinvolge i seguenti centri: IRCCS Centro Cardiologico; IRCCS Multimedita; 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 studio prevede l'arruolamento complessivo di 100 pazienti età > 65 anni, di cui 15 % con età superiore a 745 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 vengono sottoposti in regime ospedaliero, questi vengono 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 (VO<sub>2</sub> 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 O<sub>2</sub>, 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 aspetta 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 avrà una ricaduta positiva sull'efficacia, la qualità di vita e la morbilità/disabilità dei soggetti arruolati.

Si prevede l'inizio dell'arruolamento entro la seconda metà dell'anno 2018, essendo in attesa del materiale necessario per il monitoraggio domiciliare del paziente

## PUBBLICAZIONI

### ORGANIZZAZIONE E SERVIZI SANITARI

#### **Recommendations from the European Working Group for value assessment and funding processes in rare diseases (ORPH-VAL).**

Annemans L, Aymé S, Le Cam Y, Facey K, Gunther P, Nicod E, Reni M, Roux JL, Schlander M, Taylor D, Tomino C, Torrent-Farnell J, Upadhyaya S, Hutchings A, Le Dez L, Orphanet J Rare Dis. 2017 Mar 10;12(1):50.

Rare diseases are an important public health issue with high unmet need. The introduction of the EU Regulation on orphan medicinal products (OMP) has been successful in stimulating investment in the research and development of OMPs. Despite this advancement, patients do not have universal access to these new medicines. There are many factors that affect OMP uptake, but one of the most important is the difficulty of making pricing and reimbursement (P&R) decisions in rare diseases. Until now, there has been little consensus on the most appropriate assessment criteria, perspective or appraisal process. This paper proposes nine principles to help improve the consistency of OMP P&R assessment in Europe and ensure that value assessment, pricing and funding processes reflect the specificities of rare diseases and contribute to both the sustainability of healthcare systems and the sustainability of innovation in this field. These recommendations are the output of the European Working Group for Value Assessment and Funding Processes in Rare Diseases (ORPH-VAL), a collaboration between rare disease experts, patient representatives, academics, health technology assessment (HTA) practitioners, politicians and industry representatives. ORPH-VAL reached its recommendations through careful consideration of existing OMP P&R literature and through a wide consultation with expert stakeholders, including payers, regulators and patients. The principles cover four areas: OMP decision criteria, OMP decision process, OMP sustainable funding systems and European co-ordination. This paper also presents a guide to the core elements of value relevant to OMPs that should be consistently considered in all OMP appraisals. The principles outlined in this paper may be helpful in drawing together an emerging consensus on this topic and identifying areas where consistency in payer approach could be achievable and beneficial. All stakeholders have an obligation to work together to ensure that the promise of OMP's is realised.

#### **Calcium channel blockers in secondary cardiovascular prevention and risk of acute events: real-world evidence from nested case-control studies on italian hypertensive elderly.**

Bettiol A, Lucenteforte E, Vannacci A, Lombardi N, Onder G, Agabiti N, Vitale C, Trifirò G, Corrao G, Roberto G, Mugelli A, Chinellato A; Italian Group for Appropriate Drug prescription in the Elderly (I-GrADE).

Clin Drug Investig. 2017 Oct 3. [Epub ahead of print]

Antihypertensive treatment with calcium channel blockers (CCBs) is consolidated in clinical practice; however, different studies observed increased risks of acute events for short-acting CCBs. This study aimed to provide real-world evidence on risks of acute cardiovascular (CV) events, hospitalizations and mortality among users of different CCB classes in secondary CV prevention. Three case-control studies were nested in a cohort of Italian elderly hypertensive CV-compromised CCBs users. Cases were subjects with CV events (n = 25,204), all-cause hospitalizations (n = 19,237), or all-cause mortality (n = 17,996) during the follow-up. Up to four controls were matched for each case. Current or past exposition to CCBs at index date was defined based on molecule, formulation and daily doses of the last CCB delivery. The odds ratio (OR) and 95% confidence intervals (CI) were estimated using conditional logistic regression models. Compared to past users, current CCB users had significant reductions in risks of CV events [OR 0.88 (95% CI: 0.84-0.91)], hospitalization [0.90 (0.88-0.93)] and mortality [0.48 (0.47-0.49)]. Current users of long-acting dihydropyridines (DHPs) had the lowest risk [OR 0.87 (0.84-0.90), 0.86 (0.83-0.90), 0.55 (0.54-0.56) for acute CV events, hospitalizations and mortality], whereas current users of short-acting CCBs had an increased risk of acute CV events [OR 1.77 (1.13-2.78) for short-acting DHPs; 1.19 (1.07-1.31) for short-acting non-DHPs] and hospitalizations [OR 1.84 (0.96-3.51) and 1.23 (1.08-1.42)]. The already-existing warning on short-acting CCBs should be potentiated, addressing clinicians towards the choice of long-acting formulations.



### **Antidepressants and the risk of arrhythmia in elderly affected by a previous cardiovascular disease: a real-life investigation from Italy.**

Biffi A, Rea F, Scotti L, Mugelli A, Lucenteforte E, Bettiol A, Chinellato A, Onder G, Vitale C, Agabiti N, Trifirò G, Roberto G, Corrao G; Italian Group for Appropriate Drug prescription in the Elderly (I-GrADE).

Eur J Clin Pharmacol. 2017 Oct 18. [Epub ahead of print]

The study aimed to fill existing knowledge gaps on the safety of antidepressant drugs (ADs) by estimating the risk of hospitalization for arrhythmia associated with use of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) and newer atypical ADs (NAAs) among elderly with previous cardiovascular (CV) events.

The cohort was composed by 199,569 individuals aged  $\geq 65$  years from five Italian healthcare territorial units who were discharged for cardiovascular outcomes in the years 2008-2010. The 17,277 patients who experienced hospital admission for arrhythmia during follow-up were included as cases. Odds of current ADs use among cases (i.e., 14 days before hospital admission) was compared with (i) odds of current use of 1:5 matched controls (between-patients case-control) and with (ii) odds of previous use during 1:5 matched control periods (within-patient case-crossover). The risk of arrhythmia associated with ADs current use was modelled fitting a conditional logistic regression. A set of sensitivity analyses was performed to account for sources of systematic uncertainty.

Current users of SSRIs and NAAs were at increased risk of arrhythmia with case-control odds ratios (OR) of 1.37 (95% confidence interval, CI 1.18 to 1.58) and 1.41 (1.16 to 1.71) and case-crossover OR of 1.48 (1.20 to 1.81) and 1.72 (1.31 to 2.27). An increased risk of arrhythmia was associated with current use of trazodone (NAA) consistently in case-control and case-crossover designs.

Evidence that current use of SSRIs and NAAs is associated to an increased risk of arrhythmia among elderly with CV disease was consistently supplied by two observational approaches.

### **eWALL: An open-source cloud-based ehealth platform for creating home caring environments for older adults living with chronic diseases or frailty.**

Kyriazakos S, Prasad R, Mihovska A, Pnevmatikakis A, op den Akker H, Hermens H, Barone P, Mamelli A, de Domenico S, Pocs M, Grguric A, Mosmondor M, Simunic D, Kerner A, Zaric N, Djuricic P, Poulkov V, Tochev K, Zechmann B, Garschall M, Angeletou A, Bonassi S, Infarinato F, Fratu O, Vulpe A, Voicu C, Gavrilovska L, and Atanasovski V.

Wireless Personal Communications, November 2017, Volume 97, Issue 2, pp 1835–1875.

Independent living of older adults is one of the main challenges linked to the ageing population. Especially those living with diseases like COPD, MCI or frailty, need more support in everyday life and this is by itself a big societal challenge with impact in multiple sectors. In this paper we present eWALL, an innovative open-source eHealth platform that aims to address these challenges by means of an advanced cloud-based infrastructure. eWALL is designed in an innovative manner and achieved technical breakthroughs in eHealth platforms, while prioritizing user and market needs that are often abandoned and are the major reason for technically sound solutions that fail. We consider this as an opportunity and we aim to change the eHealth systems' experience for older adults and break the barriers for the penetration of ICT solutions.

### **Exposure to statins is associated to fracture risk reduction in elderly people with cardiovascular disease: evidence from the AIFA-I-GrADE observational project.**

Rea F, Bonassi S, Vitale C, Trifirò G, Cascini S, Roberto G, Chinellato A, Lucenteforte E, Mugelli A, Corrao G; I-GrADE investigators.

Pharmacoepidemiol Drug Saf. 2017 Jul;26(7):775-784.

Conflicting findings were observed from clinical trials and observational studies evaluating the association between the use of statins and the risk of fracture. A case-control study nested into a cohort of elderly patients on treatment with statins for cardiovascular secondary prevention was performed on this issue.

The cohort was formed by 13 875 individuals aged  $\geq 65$  years from several Italian health units receiving statins after hospital discharge for cardiovascular outcomes. From this cohort, 964 patients who experienced fracture were identified (i.e., cases). Up to five controls were randomly selected for each case from the

underlying cohort. Conditional logistic regression was used to model the risk of fracture associated with adherence to statins, which was measured from the proportion of days covered (PDC) by treatment. A set of sensitivity analyses was performed in order to account for sources of systematic uncertainty.

Compared with patients with low adherence (PDC  $\leq$  40%), those on intermediate (PDC 41-80%) and high (PDC > 80%) adherence exhibited a risk reduction of 21% (95% confidence interval 6% to 23%) and 25% (7% to 40%). Similar effects were observed among patients younger and older than 80 years, as well as among men, while there was no evidence that adherence to statins affected the risk of fracture among women. Sensitivity analyses revealed that the associations were consistent and robust.

Use of statins for secondary cardiovascular prevention is associated with fracture risk reduction in elderly people. Further studies are required to better clarify the statin-fracture association in postmenopausal women.

### **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.**

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

Mutagenesis. 2017 Mar 1;32(2):257-266.

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.



## Bando Giovani Ricercatori

*Anno 2011-2012. Action observation therapy: a chance for Parkinson Disease patients of improving mobility through a home-based training*

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 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 delle persone con malattia di Parkinson.

Lo scopo di questo studio è quello di verificare l'efficacia della terapia Action Observation (AO) sulla disabilità correlata alla malattia di Parkinson (PD) e verificare la fattibilità di un protocollo AO home-based. In particolare, l'obiettivo principale è quello di aumentare la velocità di movimento degli arti superiori, l'agilità e la locomozione, e quello di migliorare le attività e la qualità della vita in persone con 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 teleriabilitazione che fa uso della terapia AO a domicilio.

120 pazienti con PD vengono 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 viene 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 verrà 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

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.

*Anno 2016. Neuroimaging biomarkers toward an optimized and personalized Action Observation Treatment in chronic stroke patients: new strategies to maximize the efficacy of upper limb functional rehabilitation*

L'ictus è una delle principali cause di morte e una delle maggiori cause di disabilità a lungo termine che interferisce con il mantenimento di una buona qualità della vita. Ad oggi gli interventi riabilitativi sono la componente principale del programma di cura del paziente per raggiungere un esito funzionale. Negli ultimi anni, al fine di migliorare l'attività della vita quotidiana (ADL), sono emerse nuove strategie non invasive come trattamenti riabilitativi e terapie fisiche tradizionali. L'Action Observation Treatment (AOT), supportato dai risultati raccolti attraverso studi randomizzati e controllati, è una di queste. Questo nuovo approccio riabilitativo si basa sulle proprietà del Mirror Neuron System (MNS). L'ampia ricerca degli ultimi 20 anni sul MNS nell'uomo ha mostrato la sua importanza non solo nel riconoscimento dell'azione ma anche nelle intenzioni motorie e in altre funzioni cognitive e sociali. L'AOT trae vantaggio dall'opportunità di ripristinare le funzioni nonostante la compromissione motoria del paziente e sembra essere un valido esempio di applicazione della ricerca traslazionale dalle neuroscienze alla riabilitazione. Ad oggi, i risultati neurofisiologici non sono mai stati utilizzati per l'ottimizzazione della terapia e non sono state proposte evidenze, in Italia, relative all'efficacia di un programma di AOT domiciliare.

Basato sulle proprietà del sistema dei neuroni specchio, in grado di attivare il sistema senso-motorio attraverso l'osservazione delle azioni per l'esecuzione delle stesse azioni, l'AOT sta diventando un approccio riabilitativo innovativo per il recupero dei pazienti con ictus cronico con compromissione dell'arto superiore. Si suppone che, attraverso l'analisi di marcatori elettroencefalografici, sia possibile massimizzare l'efficacia del trattamento, ottimizzando l'insieme degli stimoli basandosi su studi obiettivi delle risposte corticali e creando i profili dei pazienti che trarranno maggior beneficio dall'intervento AOT. Infine, le caratteristiche dell'AOT consentiranno ai medici e ai ricercatori di estendere la sua validità anche ai programmi riabilitativi domiciliari.

Il progetto si prefigge di identificare la categoria di azioni in grado di evocare un maggiore reclutamento del sistema dei neuroni specchio e identificare i biomarker elettromiografici da utilizzare per prevedere gli esiti della riabilitazione, generando così un impatto sulla gestione clinica dei pazienti attraverso la selezione del protocollo di AOT ottimale.

Si prefigge inoltre di indurre una modifica funzionale delle componenti corticali alla base dell'organizzazione dell'azione motoria, sfruttando le caratteristiche peculiari del MNS e valutando eventuali rilevanti cambiamenti dal punto di vista clinico, cinematico e neurofisiologico dopo un paradigma di AOT ottimizzato.

In ultimo si intende fornire, per la prima volta in Italia, un programma di AOT domiciliare al fine di esplorare la fattibilità del trattamento per una futura applicazione sistematica di tale approccio.

## **RICERCA TRASLAZIONALE**

### **LABORATORIO DI PATOLOGIA MOLECOLARE, CELLULARE E ULTRASTRUTTURALE**

#### **Ministero della Salute – Bando di Ricerca Finalizzata**

*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.

La ricerca parte dalla considerazione che la maggior parte dei tumori presentano metastasi al momento della diagnosi, per cui una terapia che esplori la possibilità di inibire o prevenire la crescita delle metastasi già presenti potrebbe rivelarsi più interessante di una volta a prevenire la loro formazione dal tumore primario. A tale proposito lo scopo è quello di individuare se l'assenza di ossigeno che si riscontra durante la crescita della massa tumorale e la necrosi dovuta alla morte delle cellule tumorali o legata ad un processo infiammatorio cronico abbiano un ruolo importante nello stimolare l'invasione delle cellule tumorali. In particolare, i ricercatori si sono focalizzati sullo studio delle cellule tumorali staminali (CSCs) che hanno un fenotipo più resistente ed aggressivo e sono fondamentali per la formazione delle metastasi. Hanno quindi isolato CSCs da glioblastoma e tumore della mammella umano che sono state utilizzate per gli studi. Le CSCs sono state poste in un ambiente ipossico in presenza o assenza di un estratto necrotico ottenuto tramite lisi ipotonica di cellule. La risposta delle CSCs all'ipossia, alla necrosi e alla combinazione delle due condizioni è stata valutata a livello molecolare tramite espressione genica e proteica di HIF-1a, fattore di trascrizione indotto dall'ipossia, e dei geni da esso attivati. Inoltre, è stata valutata la variazione della capacità di adesione alle cellule endoteliali e della migrazione ed invasione delle CSCs. I risultati hanno dimostrato che le CSCs attivano prontamente una risposta molecolare per adattarsi alla mancanza di ossigeno modificando sia l'espressione di geni e proteine del metabolismo che di geni e proteine di recettori di membrana quali RAGE. Questi ultimi consentono alle cellule tumorali di sentire e rispondere ad uno stimolo di necrosi (morte cellulare) aumentando la loro capacità di aderire alle cellule endoteliali e di invadere la matrice extracellulare in modo da raggiungere nuovi siti dove insediarsi. Infine per dimostrare l'importanza di tali risultati i ricercatori hanno inibito la risposta all'ipossia delle CSCs utilizzando due inibitori noti di HIF-1a quali digossina ed acriflavina. In questo modo è stata inibita sia la risposta molecolare delle CSCs all'ipossia che la loro capacità di aderire alle cellule endoteliali e di invadere la matrice extracellulare. In conclusione questi risultati dimostrano che l'ipossia e la necrosi rappresentano due forze fondamentali per guidare la formazione di metastasi di un tumore primario e che è possibile individuare strategie per inibire tali forze e prevenire l'adesione e l'invasione delle cellule tumorali riducendo la formazione di nuove metastasi o bloccando la crescita di quelle già presenti.

### **LABORATORIO DI ENDOCRINOLOGIA CARDIOVASCOLARE**

*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 di Endocrinologia cardiovascolare hanno mostrato che l'attività del Recettore Mineralcortioide (MR) regola la funzione e lo sviluppo degli adipociti. Aumentata attività del Recettore Mineralcortioide 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, le terapie volte a ripristinare la corretta funzionalità di MR in soggetti obesi potrebbero costituire un nuovo approccio terapeutico all'obesità e a patologie ad essa associate.

Il progetto prevede di studiare gli effetti del trattamento con l'antagonista di MR spironolattone in topi "wild-type" sottoposti a dieta normale o a dieta obesogena per 12 settimane. In tali topi viene valutato se il blocco farmacologico di MR possa 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 vengono valutati in soggetti umani normopeso, soggetti obesi con normali parametri metabolici (soggetti MNO), e soggetti obesi con metabolismo alterato (soggetti MAO). Vengono valutati inoltre gli effetti del trattamento farmacologico con antagonista specifico di MR (eplerenone) nei soggetti obesi MAO trattati per 12 settimane.

Lo studio prevede di utilizzare topi C57BL/6 wild-type (topi WT, n=48) e topi C57BL/6 knockout per MR nel tessuto adiposo (topi AT-MR-KO, n=36), il Sistema di Risonanza Magnetica T1-weighted spin-eco whole-body multislice MRI per valutare la massa grassa dei topi, e la tomografia ad emissione di positroni (PET) per valutare l'attività metabolica del tessuto adiposo dei topi. Si impiegano real-time PCR e tecniche di 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 il test di tolleranza al glucosio tramite iniezione intraperitoneale di glucosio e successiva misura dei livelli di glucosio circolanti usando un glucometro. Inoltre vengono preparate, sia dai topi wild-type che knockout per MR, colture di adipociti primari e la capacità differenziativa di tali colture viene investigata con real-time PCR. Per lo studio su soggetti obesi, soggetti normopeso (n=14), soggetti obesi MNO (n=14) e soggetti obesi MAO (n=14) vengono analizzati tramite 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 sono applicate anche ad altri soggetti obesi MAO (n=14) che vengono trattati con eplerenone per 12 settimane (25 mg/giorno per 2 settimane, poi 50 mg/giorno).

Topi WT sottoposti a dieta obesogena e trattati con l'antagonista di MR spironolattone mostrano resistenza all'aumento di peso e all'espansione della massa grassa come pure presentano una migliore tolleranza al glucosio, indicando che il blocco di MR previene gli effetti deleteri della dieta grassa. Sia l'analisi dell'espressione genica che l'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 - 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.

## LABORATORIO DI BRAIN CONNECTIVITY

### Ministero della Salute -Bando Giovani Ricercatori

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

Il progetto è coordinato dall'IRCCS Centro San Giovanni di Dio – Fatebenefratelli, Brescia.

Il progetto si prefigge in linea generale di 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 a livello sia di network corticali sia a livello molecolare. In particolare, sono stati definiti due obiettivi specifici e l'Unità Operativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana ha contribuito al primo obiettivo:

1) Studiare se l'applicazione di un protocollo di stimolazione cerebrale non invasiva (i.e., stimolazione transcranica a corrente continua-tDCS-) possa essere utilizzata per individuare le fasi iniziali del deterioramento della plasticità sinaptica, confrontando marcatori neurofisiologici (obiettivo 1 del progetto) 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 tali scopi, il progetto ha l'obiettivo specifico 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 (Stimolazione Magnetica Transcranica –(TMS)-Elettroencefalografia (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, in parallelo allo studio condotto nei pazienti con 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 previsto 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 ha partecipato 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 stata 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 è proceduto 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 è proceduto 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 stati 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 hanno svolto 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 è stato definito 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 stata 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 è stata 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 stata 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 ha previsto la selezione di 6 liste (il cui ordine di presentazione è stato 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 stata applicata per 13 minuti (intensità di stimolazione: 1,5 mA). L'elettrodo attivo (dimensione: 16 cm<sup>2</sup>) è stato posizionato sull'emisfero sinistro sulla corteccia coinvolta nel compito, mentre l'elettrodo di riferimento (dimensione: 50 cm<sup>2</sup>) è stato collocato sulla spalla destra. Per la stimolazione placebo, lo stimolatore è stato 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.

In linea con le milestones descritte nel progetto, 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 sta procedendo all'elaborazione dei dati neurofisiologici per l'individuazione di specifici marker di neuroplasticità. I risultati finora 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 e sarà completata nei primi mesi del 2018, consentirà di comprendere il correlato neurale dei cambiamenti comportamentali osservati.

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

Lo scopo dell'intero progetto è quello di settare dei sistemi meccanici indossabili dal paziente con malattia di Parkinson (MP) (PDmeter), in grado di fornire una valutazione domiciliare attendibile ed oggettiva delle performance motorie, con il fine di garantire un miglior approccio terapeutico ed una riduzione della spesa sanitaria.

Per realizzare tale scopo, l'intero progetto si articola in tre fasi:

1. Fase 1: vengono estrapolati quei parametri che forniscono le informazioni più rilevanti nella descrizione della sintomatologia motoria in 10 pazienti affetti da MP e in 10 controlli sani, attraverso piattaforme robotiche e dispositivi magneto-inerziali, marcati CE, e già disponibili presso i partner del progetto.
2. Fase 2: successivamente, sulla base dei risultati della fase 1, viene progettato il PDmeter, un dispositivo wireless, indossabile dal paziente, con un ingombro minimo che permetta di rilevare le variabili che sono risultate più responsive per lo studio del Morbo di Parkinson. Il costo del sistema deve inoltre essere minimo.
3. Infine, il PDmeter viene validato nella terza ed ultima fase del progetto (Fase 3) in 50 pazienti affetti da MP e correlato con scale cliniche specifiche, quali la Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS).

Lo studio sta attualmente concludendo la fase 2, quindi si stanno predisponendo tutte le necessarie documentazioni per richiedere al Comitato Etico il permesso di svolgere la fase 3 attraverso quanto si sta finendo di produrre per la realizzazione del PDmeter.

Lo Studio è svolto in collaborazione tra due Istituti:

- IRCCS San Raffaele Pisana – (UO1) - che svolge le attività di coordinamento dello studio, misurazioni ed analisi dei parametri biomedici.
- Università Campus Bio-Medico di Roma, che partecipa con due unità operative (UO):
  - a) Dipartimento di Neurologia (UO2) - che svolge le seguenti attività: reclutamento dei pazienti, valutazione della correlazione tra gli indici motori e le caratteristiche cliniche dei pazienti, valutazioni cliniche su pazienti e soggetti di controllo;
  - b) Laboratorio di Robotica Biomedica e Biomicrosistemi (UO3) che svolge le seguenti attività: individuazione dei parametri per la caratterizzazione dei sintomi della MP.

Si è quindi fino ad ora realizzata una valutazione delle caratteristiche cliniche e cinematiche, mediante sensori magneto-inerziali (Xsens). Tali sensori sono dispositivi non invasivi, non medici, recanti marcatura CE, posti in commercio e utilizzati per la stessa indicazione d'uso prevista dal marchio CE, utilizzati dai partner dello studio (UO 2 e 3).

In seguito all'assemblaggio e al set-up del PDmeter, obiettivo delle prime due fasi del Progetto, viene inviata ai Comitati Etici di competenza ed al Ministero della Salute una richiesta di autorizzazione per un'indagine clinica con Dispositivo Medico non recante marcatura CE (PDmeter) ai sensi della normativa vigente. L'ottenimento dell'autorizzazione all'indagine clinica

da parte dei Comitati Etici locali e del Ministero della Salute costituisce requisito indispensabile allo svolgimento della terza fase del Progetto.

*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 è 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.

Registrazione EEG ed analisi preliminari.

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, viene acquisito elettroculogramma 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 è frammentato in epoche da 2-s e vengono utilizzati due processi: i dati sono rivisti per eliminare manualmente le epoche con forme d'onda aberranti; la rilevazione dei artefatti è completata con un algoritmo per l'analisi delle componenti indipendenti (ICA) sviluppato in EEGLAB. Vengono presi in considerazione gli spezzoni privi di artefatti per le successive analisi. Le bande di frequenza di interesse sono 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).

Analisi di potenza delle sorgenti EEG.

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, vengono ricostruite 12 regioni cerebrali di interesse (centrale, frontale, occipitale, temporale e limbica nell'emisfero destro e sinistro), basandosi sull'atlante di Talairach.

Analisi di coerenza EEG.

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).

Analisi di connettività funzionale delle sorgenti cerebrali.

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, sono usati 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.

Analisi statistica

E' 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.

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

Risultati già ottenuti:

In questo primo anno si sono attuate (come previsto dalla timeline) le operazioni di armonizzazione delle procedure per una più efficace preparazione dei soggetti e delle registrazioni EEG, si è inoltre improntata la procedura di presentazione del progetto al Comitato Etico per la approvazione prima della partenza del protocollo sui soggetti sperimentali in entrambe i centri coinvolti nello studio.

I soggetti reclutati sono stati seguiti senza problemi secondo il protocollo previsto, alcune analisi sono state portate a termine ma ancora non sono ancora disponibili le analisi statistiche finali che possano essere presentate.

*Bando approvato dicembre 2017: Prediction of conversion from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's disease based on TMS-EEG biomarkers*

La malattia di Alzheimer (AD) è la causa più frequente di demenza. Il progetto ha l'obiettivo specifico di individuare dei marcatori neurofisiologici che riflettano lo stato cerebrale che possa predire la conversione in Alzheimer di soggetti con lieve declino cognitivo. Alterazioni della plasticità corticale sono identificate attraverso specifici marcatori neurofisiologici investigati con tecniche elettrofisiologiche Stimolazione Magnetica Transcranica – Elettroencefalografia (TMS-EEG) ed EEG a riposo.

Gli obiettivi dello studio sono:

- Studiare le caratteristiche neurofisiologiche dell'eccitabilità cerebrale, della connettività e della plasticità nel Disturbo cognitivo lieve mediante TMS-EEG, allo scopo di identificare un biomarker che possa consentire di discriminare i soggetti con un pattern fisiologico simile al AD.
- Monitorare clinicamente i soggetti con Mild Cognitive Impairment (MCI) prospetticamente nel tempo, allo scopo di convalidare il biomarker neurofisiologico identificato, valutando se e in che misura si possa prevedere il peggioramento clinico a breve termine (circa 2 anni) e/o la conversione in AD.

- Valutare i cambiamenti neurofisiologici nel tempo e verificare se esista o meno una correlazione significativa tra caratteristiche neurofisiologiche e cliniche, allo scopo di testare il potenziale di TMS-EEG per un monitoraggio obiettivo della progressione della malattia.
- Il progetto prenderà avvio nel corso del 2018.

## **LABORATORIO DI BIOCHIMICA DELL'INVECCHIAMENTO**

### **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-1α e ATGL nel morbo di Parkinson*

In data 03/11/2014 è stato attivato il progetto di ricerca con la kick-off meeting che si è tenuto presso il Centro Ricerche. Il progetto di ricerca si svolge in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari dell'Università di Milano e lo stabulario del Dipartimento di Biologia dell'Università Tor Vergata di Roma.

La Malattia di Parkinson (MP) è una malattia neurodegenerativa multifattoriale associata all'invecchiamento. Essa è caratterizzata dalla morte progressiva dei neuroni dopaminergici a livello della Substantia Nigra (SN) e dell'area ventrale tegmentale, entrambe aree fondamentali per la regolazione del movimento e di molte funzioni cognitive. Sia le forme genetiche sia sporadiche della MP hanno come denominatore comune un'alterazione della bioenergetica, stress ossidativo ed infiammazione.

PGC1alpha e ATGL sono delle proteine che regolano il metabolismo cellulare andando a sostenere la produzione di energia a livello mitocondriale e ad indurre l'innalzamento dei livelli di enzimi antiossidanti utili a contrastare il danno cellulare provocato dallo stress ossidativo e dallo stato infiammatorio. PGC1alpha e ATGL sono sensibili allo stato nutrizionale dell'individuo, pertanto la loro attività può essere modulata attraverso la dieta. Questo progetto è stato dedicato allo studio di come vari regimi dietetici possano essere in grado di modulare i livelli di espressione di PGC1alpha e ATGL, e quindi la funzione mitocondriale e la concentrazione di antiossidanti da esse dipendenti. Appurato che la restrizione dietetica, operata attraverso il digiuno, e l'eccesso di grassi fossero in grado rispettivamente di modulare in modo positivo e negativo i livelli di PGC1alpha e ATGL in diversi tessuti, scopo del progetto è stato quello di testare se un regime di digiuno intermittente fosse in grado di impedire o ritardare la neurodegenerazione in un modello murino di MP. Tale modello consisteva nella somministrazione del pesticida rotenone, una molecola fortemente neurotossica. Inaspettatamente, l'applicazione del digiuno intermittente ha determinato un inasprimento della neurodegenerazione nella SN influenzando negativamente la capacità motoria dell'animale. Questi fenomeni si associavano ad un aumento dei livelli di alcuni amminoacidi eccitatori, notoriamente responsabili della morte neuronale, nonché all'alterazione della composizione lipidica nella SN. In particolare, si osservava un incremento dei fosfolipidi infiammatori e della componente gliale, indicativi dell'istaurarsi di un processo infiammatorio. Nel complesso i dati ottenuti in questo progetto suggeriscono come la restrizione dietetica, da tempo annoverata tra le strategie più efficaci nel contrastare l'invecchiamento, la neurodegenerazione ed il declino cognitivo, può in alcune condizioni, quali ad esempio l'esposizione a neurotossine e pesticidi o altri inquinanti ambientali, essere dannosa peggiorando il quadro clinico della MP.

## **ALTRA TIPOLOGIA DIRICERCA**

---

**Progetto Conto Capitale – Ministero della Salute**

*Anno 2013- Riabilitazione robot-assistita dell'arto superiore: nuove prospettive di trattamento e di ricerca (Progetto SUD)*

Il progetto si prefiggeva di creare un sistema integrato di trattamento e valutazione per i soggetti ricoverati presso l'IRCCS San Raffaele-Pisana al fine di mettere in atto cure sempre più mirate al raggiungimento del recupero funzionale dell'arto superiore. L'ottimizzazione di una piattaforma riabilitativa basata su diversi sistemi robotici, ciascuno dei quali progettato per specifiche funzioni sia per l'arto superiore (spalla-gomito), implementati con un sistema robotico per la movimentazione della mano e con sistemi di realtà virtuale, ne permette l'utilizzo su un ampio numero di persone con disabilità che afferiscono nei reparti dell'IRCCS San Raffaele Pisana.

La completezza e l'integrazione dei sistemi acquisiti hanno permesso un immediato utilizzo e un'immediata ricaduta nel trattamento e valutazione delle disabilità neuro-motorie. La flessibilità delle apparecchiature scelte dall'IRCCS San Raffaele Pisana, inoltre, hanno permesso l'utilizzo di queste apparecchiature su un'ampia casistica.

I sistemi di realtà virtuale immersiva scelti infatti, offrono in particolare il massimo della flessibilità nell'integrare un'ampia tipologia di scenari, esercizi e possibilità d'interazione con altri sistemi di assistenza e con i sistemi di valutazione. Tale flessibilità permette, inoltre, di integrare trattamenti riabilitativi sperimentali e nuovi protocolli riabilitativi, ampliandone e migliorandone di volta in volta le capacità di coinvolgimento dei pazienti.

Il sistema robotico acquisito specifico per la riabilitazione della mano ha consentito di integrare le attività con un sistema robotico per l'arto superiore già in possesso, dedicato alla riabilitazione delle parti prossimali dell'arto superiore.

Dal punto di vista dei costi benefici il trattamento è più efficace e motivante e fa risparmiare in ambito di personale in quanto il singolo terapeuta può gestire in contemporanea più trattamenti riabilitativi in ospedale. La scelta di utilizzare un sistema programmabile e gestibile da remoto permette di migliorare l'intervento sulla base della reale disabilità con una scelta più raffinata di strumenti e programmi che permettono un recupero mirato e più efficiente della persona con disabilità. Infine, il trattamento fornisce un numero maggiore di trattamenti al singolo paziente e trattamenti altamente specifici e motivanti.

L'acquisizione dei sistemi di valutazione di Elettromiografia (EMG) ed Elettroencefalografia (EEG) ha consentito di implementare il sistema strumentale di analisi del movimento con analisi cinematica e dinamica. In riabilitazione la valutazione funzionale durante il movimento è fondamentale per comprendere appieno le problematiche motorie di ogni singolo paziente. Una corretta progettazione riabilitativa e il conseguente programma riabilitativo da attuare trova grande giovamento e precisione se a priori si può avere una analisi precisa delle varie componenti motorie lese in un contesto "ecologico". L'EMG, con elettrodi superficiali e gestione del segnale in loco su una piccola stazione ricevente indossata dal paziente o tramite gestione in telemetria, consente di eseguire l'esame in qualsiasi contesto: la palestra di trattamento, la stanza del paziente, il giardino, etc.. Viceversa, l'esecuzione di EEG durante le attività riabilitative dell'arto superiore prima e dopo il ciclo di trattamento, qualunque esso sia, consente di monitorizzare in maniera obiettiva e precisa le variazioni della connettività corticale in termini di plasticità attivata o meno.

In dettaglio, dal momento della loro acquisizione con i fondi del progetto Conto Capitale 2013 le strumentazioni hanno consentito di trattare/valutare un numero elevato di persone ed effettuare altrettante numerose sessioni somministrate.

*Anno 2015 - La riabilitazione domiciliare con controllo remoto: sistemi innovativi per la somministrazione, la valutazione e la misura dell'esercizio riabilitativo*

Nell'ambito del progetto: Sviluppo e implementazione di un Network Italiano di Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale.

Il progetto si svolge in collaborazione con la Rete di Neuroscienze e vede il coinvolgimento dei seguenti IRCCS:

IRCCS Centro Neurolesi Bonino Pulejo (Capofila); IRCCS S. Lucia; IRCCS Fondazione Maugeri; IRCCS Istituto Mondino; IRCCS Istituto Auxologico Italiano; IRCCS Policlinico Ca' Grande; IRCCS Oasi; IRCCS Ospedale S. Camillo; IRCCS Centro San Giovanni di Dio Fatebenefratelli; IRCCS Don Gnocchi; IRCCS Fondazione Stella Maris; IRCCS SDN; IRCCS Eugenio MEDEA; IRCCS Istituto S. Raffaele, Milano; IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù; IRCCS San Matteo; IRCCS Neuromed; IRCCS San Raffaele Pisana.

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. 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, 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.

Si intende pertanto realizzare una rete integrata italiana per l'erogazione a distanza, su tutto il territorio nazionale, di trattamenti specifici di neuroriabilitazione motoria, cognitiva e logopedia.

Al momento un sistema di teleriabilitazione motoria e logopedica è in fase di sviluppo ed ottimizzazione. Parallelamente, è stato acquistato il sistema di riabilitazione neuromotoria, stabilometrica e cognitiva con tecniche di realtà virtuale che consentono l'esecuzione, la misurazione, la valutazione e la registrazione di esercizi riabilitativi in ambiente aumentato.

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 a 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.

*Anno 2016-2017 - Tipo B - Sviluppo e implementazione delle piattaforme tecnologiche di genomica/proteomica, imaging e neuroriabilitazione della Rete IRCCS di Neuroscienze e Neuroriabilitazione.*

*Telemonitoraggio e teleriabilitazione motoria, cognitiva e logopedica per continuità assistenziale in pazienti con emisindrome piramidale e malattie neurodegenerative mediante tecnologie interattive avanzate.*

Il progetto si svolge nell'ambito della Rete di Neuroscienze; è coordinato dalla Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta e vede il coinvolgimento dei seguenti IRCCS: Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico; Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" – IRCCS; Centro IRCCS "Santa Maria Nascente" - Don Gnocchi; IRCCS Istituto Auxologico Italiano; IRCCS Istituto Clinico Humanitas; Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo; Fondazione IRCCS Istituto Neurologico "Casimiro Mondino"; IRCCS Istituti Clinici Scientifici Maugeri SpA SB; IRCCS Centro San Giovanni di Dio – Fatebenefratelli; Associazione La Nostra Famiglia - IRCCS Eugenio Medea; IRCCS Fondazione Ospedale San Camillo; IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna; IRCCS Fondazione Stella Maris; IRCCS Fondazione Santa



Lucia; IRCCS San Raffaele Pisana; IRCCS SDN S.p.A., Istituto di Ricerca; IRCCS Associazione Oasi Maria SS Onlus – Troina; IRCCS Centro Neurolesi "Bonino Pulejo".

Il progetto ha come obiettivo il potenziamento delle attività di sperimentazione utilizzando la piattaforma integrata degli IRCCS della rete di Neuroscienze e Riabilitazione nell'ambito del progetto Ministeriale "*Sviluppo e implementazione di un Network Italiano di Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale*". Lo sviluppo e la condivisione in ottica multicentrica di protocolli riabilitativi (*best-practice*) di continuità di cura sono finalizzati all'estensione di tali *practice* ai servizi sanitari a livello nazionale, definendo linee guida e metodologie omogenee nella presa in carico assistenziale.

L'apparecchiatura che si propone pertanto di acquistare nel Conto Capitale (parte B Reti), va a rinforzare in ottica multicentrica la strumentazione in dotazione dell'IRCCS, prevedendo l'estensione della tele riabilitazione basata sul sistema Virtual Reality Rehabilitation System (VRRS) con l'integrazione di nuovi moduli avanzati e interattivi per la riabilitazione, mediante l'acquisizione di dispositivi di realtà aumentata e di stimolazione elettrica a corrente continua (tDCS) associata alla realtà virtuale.

Infine, sempre nell'ambito della Rete di Neuroscienze e Riabilitazione si propone un potenziamento delle attività di valutazione funzionale di disabilità neuromotorie, per la definizione con elevata sensibilità dell'attività motoria, della partecipazione e dell'eventuale fatica del paziente. Tale valutazione può essere condotta in modo oggettivo, quantitativo e da remoto mediante un sistema wireless di analisi del passo mediante sensori in-shoe e mediante un sistema di misura della quantità di ossigeno scambiato. Pertanto viene richiesto nell'attuale progetto (quota B) anche l'attrezzatura necessaria (metabolometro portatile e sensori in-shoe wireless) ai fini di tali misurazioni quantitative. L'IRCCS San Raffaele Pisana mette a disposizione di questo progetto di Rete le proprie competenze maturate nell'ambito della teleriabilitazione della disabilità neuromotoria e cognitiva conseguente a condizioni neurologiche acquisite (Stroke, Malattia di Parkinson, Sclerosi Multipla). Per tali condizioni è, infatti, necessario ricorrere ad una gestione terapeutica ad ampio spettro in ottica di continuità di cura per offrire l'opportunità al paziente di fruire di un trattamento individualizzato di riabilitazione non solo nel contesto ospedaliero ma anche nell'ambiente domestico.

Particolare attenzione è dedicata al potenziamento delle attività di sperimentazione utilizzando la piattaforma integrata degli IRCCS della rete di Neuroscienze e Riabilitazione nell'ambito del progetto Ministeriale "*Sviluppo e implementazione di un Network Italiano di Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale*". Lo sviluppo e la condivisione in ottica multicentrica di protocolli riabilitativi (*best-practice*) di continuità di cura sono finalizzati all'estensione di tali *practice* ai servizi sanitari a livello nazionale, definendo linee guida e metodologie omogenee nella presa in carico assistenziale.

La tecnologia di riabilitazione VRRS basata su "augmented feedback" rappresenta una modalità di implementazione di protocolli di riabilitazione e monitoraggio al domicilio del paziente in regime di ragionevole sicurezza, in quanto, tali apparecchiature sono certificate per uso medico e non invasive. Alcuni studi di letteratura evidenziano l'efficacia di tali strumentazioni in riabilitazione e il lavoro multicentrico di rete potrà verificare l'efficacia in differenti ambiti applicativi. Inoltre la concretizzazione della rete nazionale di tele riabilitazione consentirà di realizzare studi costo-efficacia di notevole importanza ai fini delle politiche sanitarie nazionali. In quanto la teleriabilitazione domiciliare permette la domiciliarizzazione precoce del paziente, l'ottimizzazione delle risorse cliniche, la riduzione dei costi di spostamento per i pazienti, familiari, operatori sanitari, e la verifica della aderenza ai trattamenti prescritti. Si aggiunge altresì la possibilità di quantificare e monitorare la performance del paziente, valutando la progressione longitudinale dei risultati in ottica multicentrica e multifattoriale.

Con questa strumentazione domiciliare costituita da una postazione in clinica avanzata (VRRS EVO full set), di telecontrollo (sistema di Telecockpit), unità portatili (tablet), metabolometro e sensori in-shoe per l'analisi del movimento si possono seguire al domicilio i pazienti dimessi dai reparti di

riabilitazione specialistica dotandoli di device di teleriabilitazione personalizzabili a seconda delle necessità del paziente. Viene adottato un approccio “smartness” per individualizzare attività di riabilitazione multidimensionale (cognitiva, motoria) domiciliare che aiutino le persone con disabilità neuromotoria anche tramite la valutazione periodica di indicatori di neuroplasticità. L'utilizzo di un metabolimetro portatile e dei sensori in-shoe, inoltre, permetteranno di misurare in modo oggettivo il movimento e l'eventuale fatica del paziente durante attività di vita quotidiana. L'implementazione dei protocolli di neuroriabilitazione al domicilio su scala nazionale tramite l'attività in Rete consente di conseguire la *best practice* da diffondere in ottica traslazionale ai fini di ottenere vantaggi diagnostici ed economici nell'ambito dei servizi di riabilitazione. Infatti è possibile quantificare le performance del paziente, con possibilità oggettive di valutare il miglioramento dei risultati; costruire database estesi e consistenti di dati derivanti da attività riabilitative a livello nazionale; realizzare database estesi e consistenti per attività ad oggi non tracciate, quali ad esempio le attività di riabilitazione domiciliare nella modalità della teleriabilitazione.

*Anno 2016-2017 - Tipo C - Analisi avanzata dell'equilibrio e nuovi modelli teleriabilitativi per la prevenzione del rischio di Caduta nell'anziano e nel paziente neurologico (BALANCE).*

Il progetto è coordinato dall' IRCCS Fondazione Ospedale San Camillo e vede la collaborazione in rete tra i seguenti IRCCS: IRCCS San Raffaele Pisana; IRCCS ICS Maugeri Spa SB; IRCCS Fondazione Mondino e IRCCS Fondazione Santa Lucia.

Le cadute degli anziani rappresentano una priorità per la sanità pubblica a causa della loro frequenza, del ricorso all'istituzionalizzazione associato ai suoi esiti, dell'elevata probabilità di causare od aggravare disabilità e dell'elevata mortalità. A causa di una maggiore fragilità ossea, la persona anziana è maggiormente a rischio di fratture, specie a livello del femore, le quali costituiscono un importante problema sanitario nei Paesi industrializzati. Solo in Europa, infatti, si verificano 500.000 nuovi casi ogni anno con un onere economico stimato di 4 miliardi di euro per le sole cure ospedaliere e si ritiene che tale incidenza nel 2050 sarà pari a 1.000.000 di casi/anno (Macchione 2010). Il fenomeno delle cadute nell'anziano ha quindi un rilevante impatto sanitario, sociale ed economico. Il problema delle cadute nella popolazione anziana non è semplicemente legato all'elevata incidenza, quanto alla combinazione di incidenza e facilità di esito in lesione. Un'altra complicazione è la sindrome ansiosa post caduta, in cui un individuo riduce movimento e attività in modo eccessivamente cauto, proprio per paura di cadere. Ciò contribuisce a ridurre la forza muscolare, favorendo una deambulazione anormale e, a lungo andare, un ulteriore aumento del rischio di cadere. Inoltre, la caduta riduce la propria autostima, soprattutto se l'evento si ripete. Studi retrospettivi (Campbell et al 1989; Ganz et al 2005; Gillespie et al., 2003; Graafmans et al. 1996; Kannus et al. 2007) sulle cause delle cadute degli anziani e sulle condizioni funzionali che favoriscono tali cadute mostrano che fattori fisiologici, patologici, ambientali, comportamentali e la paura di cadere incidono considerevolmente. In particolare, anziani con patologie neurologiche (e.g. ictus, polineuropatie, demenza, malattia di Parkinson, depressione), muscoloscheletriche (e.g. artrosi, esiti di interventi, ortopedici di elezione - protesi, osteoporosi), cardiovascolari e patologie della vista e dell'udito sono caratterizzati da un aumentato rischio di caduta. In aggiunta ai danni di tipo fisico e psicologico, le cadute avvenute in contesto di ricovero comportano un prolungamento della degenza, attività diagnostiche e terapeutiche aggiuntive e/o eventuali ulteriori ricoveri dopo la dimissione, con un notevole incremento dei costi sanitari e sociali (Allen 2009).

Le linee guida del Ministero della Salute sulla “Prevenzione delle cadute da incidente domestico negli anziani” evidenziano come le cadute rappresentino una priorità per la sanità pubblica a causa della loro frequenza e gravità. Tali linee guida sostengono che “Il medico curante dovrebbe utilizzare tutti gli strumenti possibili per individuare, quantificare, correggere o stabilizzare tutte quelle condizioni croniche che colpiscono l'anziano limitandone l'autonomia e la qualità di vita. Dovrebbe inoltre osservare la capacità del paziente di stare eretto, di girarsi, di sedere e di

camminare agevolmente”. Considerando l’aumento di rischio di cadute nel paziente neurologico ed ortopedico, tale valutazione è ancora più importante in sede di dimissione da una struttura sanitaria in cui il paziente abbia svolto terapia riabilitativa motoria. Le stesse linee guida del Ministero infatti sostengono l’importanza di “Tenere sotto controllo l’equilibrio e i problemi di deambulazione negli anziani che riferiscono una precedente caduta o che sono considerati a rischio. I test utilizzati per valutare il rischio di caduta dovrebbero essere di semplice esecuzione, di breve durata, ripetibili, per consentire un follow-up”. Alla luce di quanto detto, la compressione del rischio di caduta del paziente all’interno delle strutture sanitarie ed a domicilio diventa un obiettivo di primaria importanza in quanto indicatore della qualità, dell’efficacia e dell’efficienza assistenziale (Simpatie 2007).

In tale contesto, il progetto BALANCEsi pone come obiettivo lo screening di rischio di caduta in pazienti in dimissione dagli IRCCS aggregati, che clinicamente presentino elevati rischi di caduta. Tale studio si inserisce in un contesto di più ampio respiro riguardo la sicurezza del paziente, la continuità assistenziale, il recupero dell’indipendenza e di un buon livello di qualità della vita, e l’active ageing.

La strumentazione consente di svolgere tutte le attività di valutazione e riabilitazione in un ambiente di lavoro sicuro per il paziente. In particolare, la struttura è dotata di sistemi di appoggio e sostegno imbottiti, che consentono l’esecuzione di alcune attività di valutazione in un contesto maggiormente sicuro per il paziente rispetto alle implementazioni tradizionali delle medesime scale.

Gli obiettivi del programma sono mirati a determinare un processo innovativo di valutazione, monitoraggio e riabilitazione in grado di rispondere alle problematiche del rischio caduta.

Il progetto si propone di:

- validare il dispositivo sia strumentalmente che rispetto alle seguenti scale cliniche: Berg Balance Scale; Timed Up and Go; Tinetti Balance; One Leg Stand; Functional Reach; Activities-specific Balance Confidence;
- valutare il rischio di cadute dei pazienti in dimissione, con particolare attenzione alle persone anziane con esiti di patologia ortopedica e/o neurologica grave;
- definire strumenti e metodologie preventive tramite la prescrizione di attività e/o esercizi riabilitativi in ambito domiciliare, focalizzati al controllo dell’equilibrio e della postura nel paziente a rischio di caduta;
- monitorare in qualunque momento del percorso preventivo e riabilitativo il progresso del paziente con dati oggettivi e misurabili;
- suggerire ulteriori esercizi riabilitativi per migliorare la stabilità del paziente;
- diminuire l’incidenza dell’evento caduta dei pazienti neurologici e ortopedici, e migliorarne lo stato funzionale;
- validare i protocolli realizzati sulla base dei risultati ottenuti per estendere la proposta di televalutazione, teleprevenzione e teleriabilitazione sul territorio coinvolgendo il SSN.

Il presente progetto, mediante l’utilizzo del sistema individuato, si propone di raggiungere i seguenti risultati di qualità, efficacia ed efficienza:

- minor incidenza del numero di cadute e degli esiti correlati (es. fratture);
- abbattimento dei costi sociali legati al numero di cadute e patologie post-caduta, al trasferimento logistico dei pazienti e dei loro caregivers presso la struttura di riferimento ed allo sgravio delle risorse ospedaliere che possono dedicarsi ai pazienti più gravi;
- minor congestione dei centri di degenza;
- miglioramento dell’analisi/monitoraggio dei risultati con output quantitativi;
- minor tempo necessario per le valutazioni del paziente a rischio caduta grazie al sistema di valutazione implementato;
- standardizzazione delle procedure di base e di condivisione sull’efficacia del trattamento aumentando l’appropriatezza della terapia preventiva;
- miglioramento della motivazione, della confidenza e della compliance del paziente durante tutte le fasi domiciliari nelle attività di prevenzione e di riabilitazione;

- qualificazione professionale e motivazione degli operatori coinvolti in tutte le fasi di valutazione;
- efficacia della prestazione riabilitativa innovativa tramite esercizi in ambienti di realtà virtuale con biofeedback aumentato, che hanno dimostrato promuovere un migliore recupero della funzione motoria rispetto ad esercizi in ambiente tradizionale (Laver 2010).

La strumentazione oggetto del progetto BALANCE è il sistema completo OAK ELDERLY CARE INNOVATION®. Tale sistema, dal punto di vista del trattamento del dato, è completamente compatibile con la tecnologia VRRS® già in dotazione presso l'aggregazione dei 5 IRCCS consorziati. La tecnologia OAK è già stata inserita anche da altri IRCCS come strumentazione ICT nell'ambito dei processi di riabilitazione e consente di ottenere i seguenti vantaggi in termini di aumento della capacità di ricerca traslazionale:

- monitoraggio strumentale quantitativo dello stato posturale del paziente, con possibilità di valutare in modo oggettivo la progressione longitudinale dei risultati;
- possibilità di utilizzo di tecnologie ICT per la costruzione di database estesi e condivisi derivanti da differenti attività riabilitative;
- costruzione di database estesi e condivisi derivanti da riabilitazione domiciliare.

In particolare, il progetto nazionale della Rete Neuroscienze "Sviluppo e implementazione di un Network Italiano di Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale", promuove metodologicamente la consistenza e la uniformità dei dati raccolti, consentendo:

- la creazione di un database ampio, multicentrico e con risultati afferenti da attività riabilitative su più domini;
- una più agevole la raccolta, la consultazione e la produzione di report dati in studi multicentrici che coinvolgano IRCCS appartenenti alla rete;
- la implementazione di studi retrospettivi a livello nazionale;
- la definizione di una interfaccia unica ed estesa a livello nazionale con cui confrontarsi relativamente ad attività di collaborazione di ricerca con enti e infrastrutture internazionali.

L'acquisizione delle tecnologie OAK da parte degli Istituti consente agli stessi di:

- integrare le proprie attività in un contesto esteso, molto promettente e già avviato improntato proprio alla massimizzazione della capacità di ricerca traslazionale a livello nazionale;
- di avviare progetti partecipati a livello nazionale basati sulla collaborazione con altri IRCCS già dotati della tecnologia OAK ed inseriti nel progetto nazionale.

## **Ministero dello Sviluppo Economico**

*Bando 2016 - Sistema Intelligente per la Cura ed il benessere della persona-Utente e la gestione Razionale, efficiente e collaborativa della Assistenza a domicilio – SI.CURA*

Il progetto di ricerca si svolge in collaborazione con ITSLab, Azienda PMI che opera nelle ICT e coordinatore del progetto.

Il progetto SI.CURA si propone di consentire la valutazione quantitativa dello stato riabilitativo del paziente non solo rispetto ai parametri bio-metrici rilevati da sensori non invasivi di tracking motion, ma anche attraverso un sistema di data fusion e data mining di ulteriori parametri raccolti da sensori di parametri fisiologici (temperatura corporea, ECG, livello ossimetrico, conduttività della pelle, etc.) e ambientali (pressione atmosferica, temperatura ambientale, umidità relativa e assoluta, rilevazione di fumi, etc.). In tal modo si propone un approccio 'olistico' per la terapia riabilitativa che pone realmente al centro del processo il benessere del paziente nell'ambiente in cui vive ed esegue gli esercizi riabilitativi. L'IRCCS San Raffaele Pisana ricopre il ruolo scientifico nel progetto.

L'obiettivo primario del progetto è realizzare un sistema tecnologico ICT che propone servizi 'on-demand' di tele riabilitazione domiciliare e, più in generale, di servizi di controllo e monitoraggio dello stato di salute di una persona.

L'offerta del servizio sul mercato intende ridurre 'in primis' le spese della fase 'post-ospedaliera' che a oggi prevede un carico notevole sulla persona/paziente con forti implicazioni personali, sociali ed, ovviamente, economico/finanziarie.

Il complesso di servizi erogati dal sistema proposto consente a una struttura sanitaria (es. casa di cura, centro di riabilitazione, ospedale, etc.) di pianificare una terapia personalizzata verso le esigenze riabilitative della persona in modo che essa possa eseguire il processo terapeutico in casa propria, mantenendo elevata la qualità dell'assistenza medica (monitoraggio e controllo).

Ciò si ottiene mediante l'impiego di tecnologie innovative che consentono di collocare la persona al centro di un ecosistema basato sul trattamento di dati multidimensionali e procedure di controllo/monitoraggio distribuito. A ciò si aggiunge l'adozione di paradigmi d'interazione innovativi e 'non invasivi' (touchless, wearable sensor, motion tracking, movement measurement) che si integrano con le modalità collaborative e partecipative per mezzo delle quali la persona fruisce di una nuova esperienza nell'accesso ai servizi.

Viene allestito uno studio sperimentale di efficacia, randomizzato controllato che nella fase sperimentale verte sulle persone con esiti di ictus in fase di continuità assistenziale dopo la fase acuta e post acuta ospedaliera. A tutti i soggetti eleggibili secondo i criteri d'inclusione ed esclusione viene proposto di partecipare allo studio; metà di essi vengono assegnati, in modalità randomizzata, al gruppo che avvia il trattamento immediatamente dopo la dimissione dalla Riabilitazione Ospedaliera, mentre la restante metà avvia il trattamento ad un mese dalla dimissione, fornendo, nel frattempo, il contesto in cui valutare l'eventuale evoluzione spontanea, in assenza di trattamento.

Utilizzando scale di misurazione fisica, vengono valutate le differenze nel guadagno funzionale tra pazienti che utilizzano il sistema e gruppo di controllo che fa uso di interventi riabilitativi standard.

#### **Bando European Space Agency (ESA)2015- Programma Artes 3-4**

*Satellite enhanced Multi-channel ehealth Assistance for Remote Tele-rehabilitation and CAREgiving - SmartCare*

L'ictus è una delle cause che conduce 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 poter recuperare le capacità funzionali necessarie per eseguire le attività della vita quotidiana e la deambulazione. Ciò 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 pazienti che hanno avuto un 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.

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.

La popolazione comprende uomini e donne reclutati 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 è stata 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 effettuate sono state: valutazioni fisiche e sull'indipendenza nella gestione della vita quotidiana.

Sono stati reclutati 20 soggetti, di questi 16 hanno partecipato alla sperimentazione, 8 nel gruppo di controllo e 8 nel gruppo SmartCARE. Lo studio pilota è consistito in un'analisi preliminare di fattibilità e di accettazione della piattaforma e della soddisfazione degli utenti nei confronti delle sue funzionalità.

Ci si è proposto di determinare l'adeguatezza percepita e l'usabilità della piattaforma, e ha compreso anche un'analisi quantitativa sul valore aggiunto e l'impatto potenziale delle soluzioni proposte sulla capacità funzionale degli utenti. Un partecipante ha potuto utilizzare anche il servizio di connessione satellitare a casa, con il fine di dimostrare la possibilità di utilizzo del sistema anche a domicilio 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*.

L'analisi dei dati raccolti sull'esperienza e l'uso della piattaforma da parte degli utenti ha validato la "proof of concept", mostrando il grado di accettazione e includendo un'analisi quantitativa del valore aggiunto e dell'impatto potenziale delle soluzioni proposte.

In particolare, l'analisi di accettazione ha mostrato che SmartCARE è stato percepito positivamente da tutti i soggetti. L'uso del TAM ha dimostrato che il sistema è comprensibile e facile da imparare e da usare, attraente per motivi estetici e di chiarezza. Il controllo percepito sulla piattaforma ha evidenziato quanto sia cruciale per gli sviluppi futuri prevedere una migliore modulabilità del flusso del programma di riabilitazione lasciando, ad esempio, la possibilità di saltare le sessioni di formazione all'esercizio (una volta che l'esercizio è stato appreso dal paziente).

*SMARTCARE CCN#1- Continuation Change Notification: Satellite enhanced Multi-channel ehealth Assistance for Remote Tele-rehabilitation and CAREgiving - SmartCare CCN#1*

In considerazione dei risultati ottenuti durante il progetto SmartCARE e la potenzialità industriale della piattaforma implementata, la European Space Agency ha valutato e concesso un Continuation Change Notification per il progetto. Il progetto SmartCARE CCN#1 nasce quindi per integrare e valutare nuove funzionalità per la piattaforma SmartCARE.

A seguito del progetto SmartCARE, ITSLab, IRCCS San Raffaele Pisana e Alpha Consult, in consorzio hanno ottenuto un nuovo co-finanziamento dalla Agenzia Spaziale Europea nell'ambito del programma Artes 3-4 (Telecom Products Programme CALL FOR PROPOSALS Ref: AO/1-5891/08/NL/US, dal novembre 2017 al novembre 2018), con l'obiettivo di integrare due nuovi moduli nella piattaforma e valutarne l'impatto tramite 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.

Oltre alle funzionalità già descritte in SmartCARE, il nuovo obiettivo è sviluppare e integrare i seguenti nuovi servizi applicativi nella piattaforma:

- "Logopedia" - espansione del trattamento terapeutico riabilitativo per le patologie correlate a disturbi della voce, della parola, della comunicazione, della deglutizione, associate alle capacità cognitive della persona;
- "Comunità sociale polifunzionale" - utilizzo delle caratteristiche tipiche dei "social network" finalizzate all'inclusione della persona/paziente nelle comunità che realizzano attività di riabilitazione per le persone con disturbi post-ictus attraverso interventi socio-educativi.

La valutazione finale è focalizzata ancora sullo studio di parametri, tra i quali 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 sono legate alle valutazioni fisiche e funzionali del linguaggio e all'indipendenza nella gestione della vita quotidiana.

Sono stati sviluppati i documenti che descrivono i requisiti utente e descrivono le caratteristiche delle persone con esiti di ictus e disturbo del linguaggio e dei professionisti della riabilitazione logopedica, in oltre sono stati sviluppati i mockup relativi alla comunità sociale polifunzionale.

Analogamente al progetto SmartCARE, lo studio pilota prevede un'analisi preliminare di fattibilità e di accettazione della piattaforma e della soddisfazione degli utenti nei confronti delle sue funzionalità. Si intende pertanto determinare l'adeguatezza percepita e l'usabilità della piattaforma, ed effettuare un'analisi quantitativa sul valore aggiunto e l'impatto potenziale delle soluzioni proposte sulla capacità funzionale degli utenti.

**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: integrazione nell'area geografica di Taranto*

Lo studio è stato condotto su un campione di 50 pazienti e 50 controlli ed ha una natura prevalentemente esplorativa, con lo scopo di valutare se esistano i presupposti per estendere lo studio di fattori legati all'esposizione ambientale a sostanze con caratteristiche neurotossiche tipicamente presenti nell'area in studio, caratterizzata da un alto livello di inquinamento industriale. Per la realizzazione del progetto è stata contattata l'Associazione Parkinson Taranto ONLUS, grazie al supporto della quale, i ricercatori dell'IRCCS San Raffaele Roma hanno instaurato una collaborazione con il dipartimento di Assistenza Riabilitativa, area Disabilità stabilizzata- età adulta - dell'ASL di Taranto, coordinato dal Dott. Francesco Serio e dal Dott. Cosimo Minosa. Tutti i pazienti affetti da Malattia di Parkinson, afferenti a questa struttura, che rispettavano i criteri di inclusione (descritti nello studio principale) sono stati contattati telefonicamente e, coloro che si sono resi disponibili, hanno accettato di partecipare allo studio recandosi di persona presso il Centro per sottoporsi all'intervista.

Tutti i soggetti intervistati hanno fornito il loro consenso informato a partecipare allo studio. Lo studio svolto nell'area di Taranto è stato approvato dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana come parte integrante dello studio principale svolto nell'IRCCS San Raffaele Pisana e nel San Raffaele Cassino.

Sono stati complessivamente arruolati 52 soggetti affetti da Malattia di Parkinson (MdP) e 50 controlli non affetti da questa o da altre patologie di tipo neurodegenerativo, coniugati o conviventi con i casi, quindi presumibilmente esposti alle stesse sostanze tossiche presenti nell'ambiente e a stili di vita simili. Vista la dimensione del campione le ipotesi sono state testate a scopo esplorativo, per fornire indicazioni sulla possibile presenza di una associazione fra esposizione a sostanze tossiche, quali sostanze chimiche o metalli presenti nell'area di Taranto ed il rischio di sviluppare la malattia di Parkinson.

A tutti i partecipanti è stato somministrato il questionario (lo stesso utilizzato nello studio principale), della durata di 15 minuti circa, validato per la rilevazione dell'esposizione ad agenti tossici ambientali-occupazionali e per l'analisi dello stile di vita.

La descrizione delle principali caratteristiche dei soggetti in studio è riportata in Tabella 1. I due gruppi sono risultati bilanciati per età e per alcuni parametri antropometrici quali peso ed altezza, mentre esiste disparità per quanto riguarda la distribuzione per sesso, con una decisa e quasi significativa maggioranza di maschi nel gruppo dei casi (65.4%) rispetto ai controlli (48%). Tale dato concorda con quanto osservato nello studio principale (maschi 58.9 % nei casi vs 49.3% nei controlli) ed è in linea con i dati della letteratura che evidenziano una netta prevalenza della malattia di Parkinson nel sesso maschile.

L'analisi del campione ha inoltre confermato che l'incremento dell'età è associato ad una maggior incidenza di malattia: l'età media è risultata infatti lievemente superiore nel gruppo dei casi rispetto ai controlli. Infine, è risultato maggiormente elevato il rischio per coloro che hanno dichiarato di avere un parente affetto da Malattia di Parkinson: il gruppo dei casi presentava una frequenza di soggetti con un parente di primo o secondo grado affetto da Parkinson quasi doppia nei casi rispetto ai controlli (19.2% vs 10.0%).

Il dato sul fumo di sigaretta riportato in Tabella 1 non ha mostrato differenze significative fra i gruppi. Tuttavia, la totalità di fumatori ed ex fumatori nel gruppo dei controlli ha evidenziato una prevalenza rispetto ai casi (42.3% nei casi verso il 54% nei controlli), confermando il dato emerso nello studio principale e noto in letteratura che descrive l'effetto protettivo del fumo nei confronti della malattia di Parkinson (Chi quadro= 1.3961; p = 0.237 ns).



Variabile	PD		controlli		P value
	N	Media (DS)	N	Media (DS)	
Età (anni)	52	69.1 (8.4)	50	68.1 (9.2)	ns
Altezza (cm)	51	170.4 (9.8)	49	168.2 (9.1)	ns
Peso abituale (Kg)	51	74.9 (13.1)	49	71.4 (12.4)	ns
	N	Proporzione	N	Proporzione	P value
Sesso					
<i>Femmina</i>	18	34.6%	26	52.0%	P=0.05
<i>Maschio</i>	34	65.4%	24	48.0%	
Titolo di Studio					
<i>Elementare</i>	8	15.4%	8	16.0%	ns
<i>Medie</i>	16	30.8%	15	30.0%	
<i>Diploma</i>	15	28.8%	14	28.0%	
<i>Laurea</i>	13	25.0%	13	26.0%	
Abitudine al fumo					
<i>Non fumatore</i>	30	57.7%	23	46.0%	ns
<i>Fumatore</i>	10	19.2%	15	30.0%	
<i>Ex fumatore</i>	12	23.1%	12	24.0%	
Familiarità					
<i>Nessuna</i>	32	61.5%	37	74.0%	ns
<i>Parkinson</i>	10	19.2%	5	10.0%	
<i>Altre neurodegenerative</i>	10	19.2%	8	16.0%	

Tabella 1. Descrizione delle principali caratteristiche dei pazienti inclusi nello studio Taranto.

La storia residenziale del campione ha rivelato situazioni estremamente omogenee che non hanno permesso di stimare Odds ratio valutabili: il 98% dei soggetti intervistati, casi e controlli, aveva infatti una storia di residenza urbana.

La stima di alcuni parametri legati alle abitudini alimentari è avvenuta dopo che le frequenze di consumo sono state raggruppate in due principali categorie legate al maggiore o al minore consumo e suddivise utilizzando il valore mediano. L'associazione fra la presenza di Malattia di Parkinson ed abitudini alimentari non è risultata significativa, anche se è stata notata una tendenza nei casi a consumare meno frequentemente frutta e verdura e ad assumere maggiormente carne.

Nessuna differenza è stata riscontrata nel consumo di caffè ed altri stimolanti: tale dato non conferma quanto osservato nello studio principale che aveva evidenziato in una riduzione non significativa del 30% della probabilità di sviluppare PD nei consumatori abituali di caffè.

Infine, l'esposizione a sostanze tossiche è stata necessariamente ricondotta a categorie generali, quali sostanze chimiche, metalli e lavorazione in industrie considerate a rischio, che nel caso di Taranto erano principalmente rappresentate dall'ILVA. Le lavorazioni che implicavano esposizione a sostanze chimiche sono risultate varie, mentre i soggetti che riferivano esposizione lavorativa a metalli erano in grande maggioranza lavoratori del settore acciaierie. E' stata condotta una analisi univariata sulla esposizione occupazionale a sostanze chimiche (raffinerie, laboratori sviluppo/stampa, cockerie), a metalli (acciaierie, officine, metalmeccanica), o la lavorazione in industrie a rischio (ILVA). In questo caso il limitato numero di lavoratori all'interno di ciascuna categoria ha impedito di osservare aumenti significativi di frequenza nel gruppo dei casi, anche se le percentuali sono risultate più elevate nei casi per tutte le condizioni in studio: 17.3% vs 14.0% per le sostanza chimiche, 17.3% vs 12.0% per i metalli e 11.5% vs 6.0% per i lavoratori dell'ILVA (Tabella 2).

Variabile	PD		controlli		P value
	N	Proporzione	N	Proporzione	P value
Esposizione a Sostanze chimiche					
<i>Mai</i>	43	82.7%	43	86.0%	ns
<i>Una o più occupazioni</i>	9	17.3%	7	14.0%	
Esposizione a Metalli					
<i>Mai</i>	43	82.7%	44	88.0%	ns
<i>Una o più occupazioni</i>	9	17.3%	6	12.0%	
Occupazione fabbriche alto rischio					
<i>Mai</i>	46	88.5%	47	94.0%	ns
<i>Una o più occupazioni</i>	6	11.5%	3	6.0%	

Tabella 2. Associazione fra Malattia di Parkinson ed esposizione occupazionale a sostanze tossiche (sostanze chimiche o metalli) e lavorazioni in aziende ad alto rischio.

Infine, per tenere conto della possibile presenza di un confondimento potenziale è stata condotta una analisi multivariata di tipo logistico i cui risultati sono riportati in tabella 3. Le variabili riportate sono state selezionate fra quelle che hanno mostrato una maggiore associazione con la distribuzione di casi e controlli, anche se nessuna di questa è risultata significativa.

La distribuzione per sesso è la variabile che ha dimostrato l'associazione maggiore con la malattia di Parkinson, riportando una frequenza doppia nei maschi rispetto alle femmine (OR=2.07, 95% CI 0.90-4.75). Solo lievemente ridotto il rischio di malattia nei fumatori (OR=0.90, 95% CI 0.34-2.40), mentre – pur se non significativo – il rischio nei soggetti con familiari affetti da Malattia di Parkinson è più che raddoppiato (OR=2.48, 95% CI 0.74-8.32).

Dopo aver considerato il potenziale confondimento dovuto ad altre variabili, il rischio associato ad esposizione a sostanze tossiche in ambito occupazionale risulta aumentato negli esposti a metalli e nei lavoratori dell'ILVA, mentre non ha evidenziato aumento di rilievo negli esposti a sostanze chimiche.

Variabile	P value		
	B (SE)	Odds Ratio (95% CI)	
Età (anni)	0.0190 (0.024)	1.02 (0.97-1.07)	ns
Sesso			
Femmina	-	-	0.065
Maschio	0,728 (0.423)	2.07 (0.90-4.75)	
Abitudine al fumo			
<i>Non fumatore</i>	-	-	ns
<i>Fumatore</i>	-0.106 (0.502)	0.90 (0.34-2.40)	
<i>Ex fumatore</i>	0.008 (0.633)	1.01 (0.29-3.49)	
Familiarità			
<i>Nessuna</i>	-	-	ns
<i>Parkinson</i>	0.909 (0.618)	2.48 (0.74-8.32)	
<i>Altre neurodegenerative</i>	0.499 (0.563)	1.65 (0.55-4.97)	
Esposizione a Sostanze chimiche			
<i>Mai</i>	-	-	ns
<i>Una o più occupazioni</i>	0.043 (0.574)	1.04 (0.34-3.22)	
Esposizione a Metalli			
<i>Mai</i>	-	-	ns
<i>Una o più occupazioni</i>	0.213 (0.593)	1.24 (0.39-3.95)	
Occupazione fabbriche alto rischio			
<i>Mai</i>	-	-	ns
<i>Una o più occupazioni</i>	0.684 (0.759)	1.98 (0.45-8.77)	

Tabella 3. Stima multivariata del rischio di Malattia di Parkinson (Regressione logistica binaria).

In conclusione, i risultati ottenuti forniscono dati utili riguardo ad una possibile associazione tra esposizione occupazionale a metalli ed aumento del rischio di contrarre la malattia di Parkinson. Ulteriori studi con un approfondito assessment della esposizione potrebbero fornire indicazioni risolutive sulla presenza di un incremento di rischio fra i residenti nella zona di Taranto. Tali dati avrebbero una valenza critica sia per indirizzare le priorità negli interventi locali di bonifica e prevenzione, sia per il contributo che fornirebbe alla letteratura scientifica.

## Agenzia Spaziale Italiana (ASI)

*Bando 2009. Different kinds of structured exercise training as countermeasure to space flight-induced orthostatic intolerance and muscolo-skeletal function impairment” successivamente identificato con il nome di “Exerc/Orthostatic Tolerance”.*

Secondo i dati disponibili, nessun programma di esercizio fisico strutturato è mai stato svolto dagli astronauti rivolto specificamente 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 frequenza cardiaca(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 valutare l'efficacia di un programma articolato di allenamento aerobico strutturato, personalizzato in base al TRIMPi, nel prevenire l'intolleranza ortostatica e i meccanismi che ne sono all'origine, legati principalmente alla regolazione nervosa cardiovascolare, in astronauti durante un volo spaziale. Come consolidata metodologia per la valutazione del controllo nervoso del sistema cardiovascolare durante lo stress ortostatico (ortostatismo attivo) pre- e post-volo spaziale, sono utilizzati l'analisi spettrale della variabilità della FC e della pressione arteriosa e la sensibilità baroriflessa.

A questo fine, gli astronauti faranno uso dei sistemi esistenti di esercizio e di monitoraggio cardiovascolare presenti a bordo della Stazione Spaziale Internazionale (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 alle persone con disabilità sulla terra. Queste contromisure saranno benefiche per prevenire disfunzioni autonome legate allo stress gravitazionale come quelle riscontrate nei soggetti allettati e con scompenso cardiaco come ipotensione ortostatica, atrofia o antigravità dei muscoli, ecc. Questo punto è particolarmente importante nella 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.

Il progetto si è concluso con pieno successo dell'esperimento il 20 dicembre 2017 con le valutazioni post-flight.

I risultati saranno presentati in un simposio dedicato che si terrà orientativamente nella prima metà dell'anno 2018.

*L'insufficienza cardiaca come modello gravitazionale delle alterazioni cardiovascolari e muscolo scheletriche indotte dalla microgravità: effetti di contromisure basate sull'esercizio fisico*

Decondizionamento cardiovascolare, atrofia muscolare con ridotta forza muscolare e ridotta densità minerale ossea rappresentano i principali problemi di salute che gli astronauti manifestano dopo prolungate missioni spaziali.

I pazienti affetti da insufficienza cardiaca congestizia (CHF) condividono con gli astronauti numerose modificazioni della struttura cardiaca e della funzione cardiovascolare, nonché alterazioni morfo-funzionali e strutturali a livello muscolo-scheletrico.

L'esercizio fisico ha rappresentato sino ad oggi la contromisura più intuitiva impiegata durante i voli spaziali per la sua predicibile capacità di influenzare positivamente la capacità di esercizio, la regolazione nervosa cardiovascolare, la forza, la potenza e la resistenza muscolare, tutte funzioni che risultano alterate come conseguenza dell'assenza di gravità, che sono presenti anche nell'insufficienza cardiaca

L'esercizio fisico è una componente fondamentale della terapia anche nei pazienti affetti da CHF.

Il presente progetto di ricerca si propone di utilizzare i pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica come modello sperimentale a terra delle alterazioni cardiovascolari e muscolo-scheletriche indotte dall'esposizione all'assenza di gravità negli astronauti.

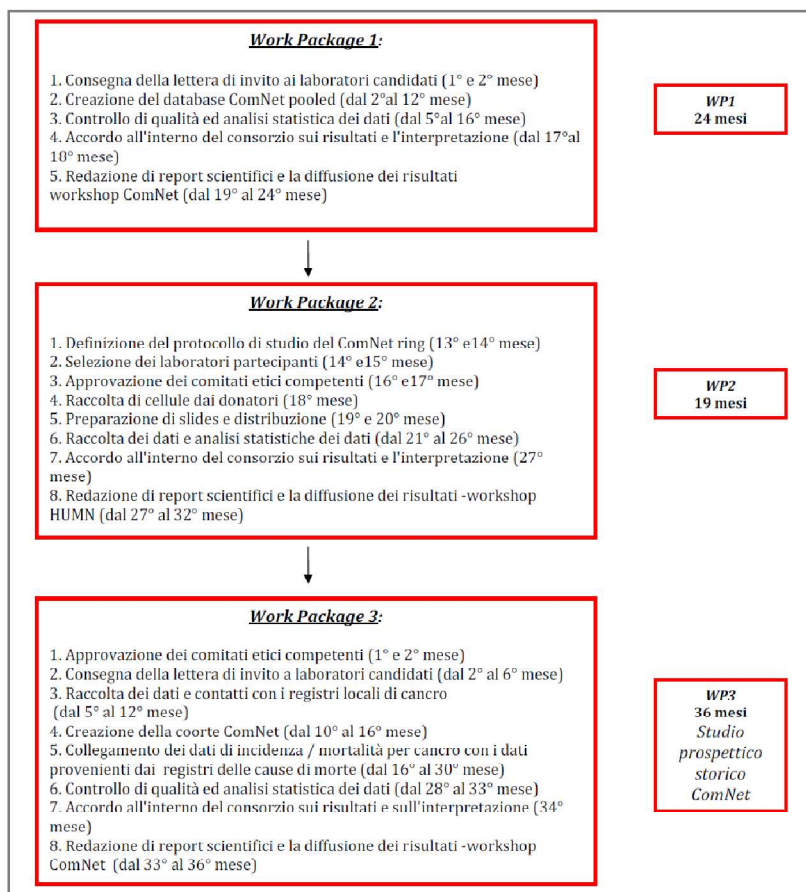
Lo scopo è quello di mettere a punto protocolli di allenamento fisico individualizzati come contromisura in grado di minimizzare gli effetti negativi della microgravità sulla funzione cardiovascolare e muscolo-scheletrica in astronauti esposti a lunghe permanenze nello spazio.

Le unità coinvolte sono: Centro di Biomedicina Spaziale, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico San Raffaele Pisana, Università degli Studi di Milano, Università Telematica San Raffaele.

**Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - AIRC**

*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 risiedono nell'accertare che il Test della Cometa sia uno strumento affidabile di biomonitoraggio per studi sull'uomo e 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 articolerà pertanto in 3 Work Packages.

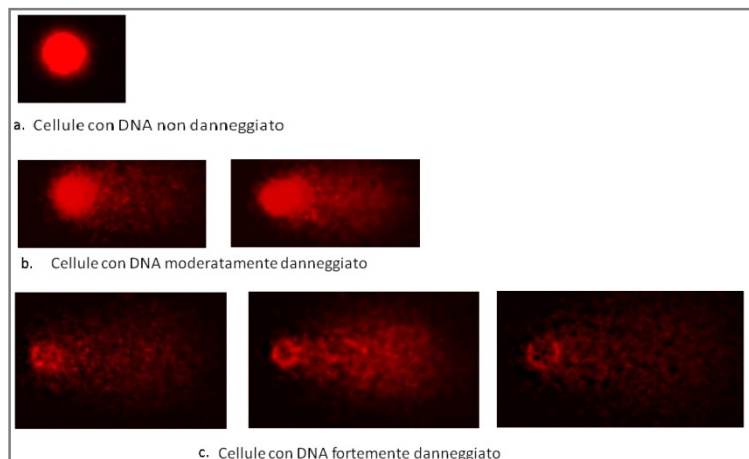


Si intende:

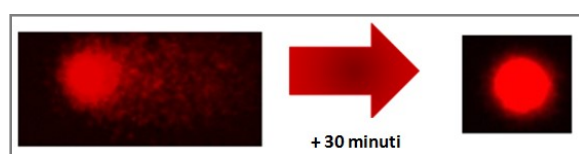
1. Creare una coorte di soggetti (partecipanti a ricerche già pubblicate) in cui è stata valutata la presenza di alterazioni del DNA con il Comet Assay (hCOMET), per stabilire i livelli basali di danno al DNA e per valutare l'associazione con il livello di danno al DNA di alcune variabili critiche quali sesso, età, fumo, occupazione, fattori nutrizionali / stile di vita;
2. Identificare le caratteristiche tecniche che riguardano la misurazione del danno al DNA e proposta di protocolli standard;
3. 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 prevede 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> per 10 minuti. La frammentazione del DNA è proporzionale alla concentrazione di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. E' stata valutata anche la capacità di riparazione del DNA dopo rimozione dell'agente ossidante.



**Figura 1** - Linfociti umani “sani” esposti a concentrazioni di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [a. 0.0; b. 50.0; c. 100  $\mu$ M] per 10 minuti.



**Figura 2** - Linfociti umani “sani” esposti a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [100  $\mu$ M per 10 min], lavati e risospesi in mezzo completo.

Obiettivi principali di hComet sono di creare un database unificato di dati di analisi della cometa relativi alla salute e alle malattie umane che costituiranno la base per l'analisi congiunta sul danno e la riparazione del DNA nell'uomo al fine di fornire informazioni definitive sui fattori che causano o impediscono il danno al DNA.

Questo contribuisce a ridurre le variazioni interlaboratorio e porta a fornire protocolli standard per studi futuri, scuole di formazione, creazione di coorti di studi epidemiologici molecolari qualificati per prove prospettive umane per testare il danno e la riparazione del DNA, come marcatori predittivi di malattia e come supporto alle piccole e medie imprese e aziende che utilizzano il saggio della cometa.

E' stato creato il sito <http://www.hcomet.org/> che mette in comunicazione i diversi partecipanti della rete ComNet e allo stesso tempo rende pubblici i risultati e le attività di studio in corso. hComet è organizzato nei seguenti Working Group:

1. WG1 Creazione di un database e analisi raggruppate. Il gruppo è responsabile della creazione dei modelli per la raccolta dei dati dai 51 laboratori in tutto il mondo che hanno accettato di partecipare e creare un database combinato. I dati saranno inseriti in un database unificato compatibile con il software di statistica da utilizzare per l'analisi. Questo gruppo di lavoro è responsabile dell'analisi aggregata dei dati di analisi della cometa al fine di ottenere informazioni definitive sui motivi della variazione interindividuale nei livelli di danno al DNA.
2. WG2 Innovazione tecnica e implementazione. Questo gruppo di lavoro è responsabile dell'innovazione e dell'implementazione dei risultati ottenuti e dei corsi di formazione, in accordo con le linee guida e SOP che ulteriormente ottimizzate e sviluppate in collaborazione con aziende, piccole e medie imprese.
3. WG3 Ring studies. Il gruppo di lavoro organizza studi per testare la robustezza dei protocolli standard.
4. WG4 Linee guida e SOP. Questo gruppo di lavoro crea nuove linee guida e SOP per minimizzare le differenze tra i laboratori.
5. WG 5 Riparazione del DNA. Il gruppo di lavoro è responsabile dello sviluppo del saggio di riparazione del DNA come strumento di biomonitoraggio.



6. WG6 Tipi di cellule differenti. Questo gruppo di lavoro valuta l'idoneità di diversi tipi di cellule umane per l'analisi del saggio della cometa.
7. WG7 Piaificazioni future

Nel corso dei primi due anni sono state effettuate le seguenti attività:

- Primo meeting "first kick"
- Primo Management Committee + Working Group meeting
- WG6 -WG8 , Core Group Meeting
- WG1/2, Core Group Meeting, WG5, WG7
- Basic Training Course for Comet assay and DNA repair
- WG5 meeting
- Working Group meetings
- WG6, WG3, WG2, Czech Academy of Sciences

Nel corso del 2017 sono stati organizzati presso IRCCS San Raffaele Pisana di Roma:

- l'incontro (WG1, WG4, WG5, WG6, WG7)
- il corso in Statistica ed Epidemiologia (Figura 3).

**COST Action CA15132- hCOMET**  
**3-day Course in Rome : Statistical and epidemiological issues in human biomonitoring studies: *An hCOMET course***

**February 28th, 1st and 2nd of March 2018, Rome, Italy, IRCCS San Raffaele Pisana, Via di Val Cannuta 247/249**

**Organiser: Prof Stefano Bonassi ([stefano.bonassi@sanraffaele.it](mailto:stefano.bonassi@sanraffaele.it))**

Applications decision list	The training course will be a combination of theoretical (lecture) and practical knowledge (hands-on training) and will cover specific topics:																																																		
<p style="text-align: center;">Number of participants will be limited (24 max)</p> <p style="text-align: center;">hCOMET participation in covering the costs of travelling and accomodation: max 500 euros</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%; text-align: center;">Country</th> <th style="width: 50%; text-align: center;">Name</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Czech Republic</td><td>Anna Alaxineová</td></tr> <tr><td>Portugal</td><td>Armanda Teixeira Gomes</td></tr> <tr><td>France</td><td>Elisa Boutet-Robinet</td></tr> <tr><td>Portugal</td><td>Carina Ladeira</td></tr> <tr><td>Czech Republic</td><td>Katarina Bányiová</td></tr> <tr><td>Spain</td><td>Vanessa Valdiglesias</td></tr> <tr><td>Spain</td><td>Bianca Laffon</td></tr> <tr><td>Croatia</td><td>Goran Gajski</td></tr> <tr><td>Norway</td><td>Kristine B. Gutzkow</td></tr> <tr><td>Norway</td><td>Lena Sareisian</td></tr> <tr><td>Hungary</td><td>Mariam Kachlek</td></tr> <tr><td>Austria</td><td>Franziska Perk</td></tr> <tr><td>Spain</td><td>Amaya Azqueta</td></tr> <tr><td>Italy</td><td>Palma Lemonaca</td></tr> <tr><td>Italy</td><td>Patrizia Russo</td></tr> <tr><td>Italy</td><td>Giulia Prinzi</td></tr> <tr><td>UK</td><td>Natassia Robinson</td></tr> <tr><td>Italy</td><td>Stefania Proietti</td></tr> <tr><td>Poland</td><td>Magdalena Mitysiak-Kucharek</td></tr> <tr><td>Czech Republic</td><td>Katerina Honkova</td></tr> <tr><td>Czech Republic</td><td>Alena Opatkova</td></tr> <tr><td>Czech Republic</td><td>Sena Vodenkova</td></tr> <tr><td>Portugal</td><td>Joana Madureira</td></tr> <tr><td>Brasil</td><td>Vanessa Moraes De Andrade</td></tr> </tbody> </table>	Country	Name	Czech Republic	Anna Alaxineová	Portugal	Armanda Teixeira Gomes	France	Elisa Boutet-Robinet	Portugal	Carina Ladeira	Czech Republic	Katarina Bányiová	Spain	Vanessa Valdiglesias	Spain	Bianca Laffon	Croatia	Goran Gajski	Norway	Kristine B. Gutzkow	Norway	Lena Sareisian	Hungary	Mariam Kachlek	Austria	Franziska Perk	Spain	Amaya Azqueta	Italy	Palma Lemonaca	Italy	Patrizia Russo	Italy	Giulia Prinzi	UK	Natassia Robinson	Italy	Stefania Proietti	Poland	Magdalena Mitysiak-Kucharek	Czech Republic	Katerina Honkova	Czech Republic	Alena Opatkova	Czech Republic	Sena Vodenkova	Portugal	Joana Madureira	Brasil	Vanessa Moraes De Andrade	<p style="text-align: center;"><b>Study design (1st day, duration: 7 hrs)</b></p> <p>Choice of the best biomarker, biological and mechanistic issues</p> <p>Literature review</p> <p>Practical arrangements in biomarkers studies (choice of the best tissue, specimen collection and storage), most common biases, liming, operators training, etc.</p> <p>Exposure assessment</p> <p>Inclusion/exclusion criteria, ethical issues (consensus, privacy, risk communication), sample size, observational or intervention studies, choice of controls (biological, exposure, and epidemiological issues)</p> <p>Questionnaires: planning, validation, alfa cronbach, quali-quantitative variables.</p> <p style="text-align: center;"><b>Data analysis (2nd day, duration: 7 hrs)</b></p> <p>Concept of sample and population, statistical significance, hypothesis testing, univariate analysis, multivariable analysis, statistics with biomarkers</p> <p>Statistical analysis of the alkaline comet assay data for DNA damage assessment, also with the use of enzymes for evaluating specific DNA damage (e.g. ENDO III, hOGG1, FPG) and the assesement of DNA repair</p> <p>Statistical packages most often used for data management and statistical analysis of biomedical data</p> <p style="text-align: center;"><b>Practical exercise (3rd day, duration 6 hrs):</b> Planning, design and statistical analysis of a hypothetically exposed population</p> <p>Participants divided into three study groups will apply - with the help of teachers - the concepts presented in the first two days, e.g. choice of the biomarker(s), organization of the study, ethical issues, sample size, exposure assessment, choice of controls, to assemble the protocol of a biomonitoring study in the population proposed. The exercise will include also basic statistical analysis of a pre-arranged dataset.</p>
Country	Name																																																		
Czech Republic	Anna Alaxineová																																																		
Portugal	Armanda Teixeira Gomes																																																		
France	Elisa Boutet-Robinet																																																		
Portugal	Carina Ladeira																																																		
Czech Republic	Katarina Bányiová																																																		
Spain	Vanessa Valdiglesias																																																		
Spain	Bianca Laffon																																																		
Croatia	Goran Gajski																																																		
Norway	Kristine B. Gutzkow																																																		
Norway	Lena Sareisian																																																		
Hungary	Mariam Kachlek																																																		
Austria	Franziska Perk																																																		
Spain	Amaya Azqueta																																																		
Italy	Palma Lemonaca																																																		
Italy	Patrizia Russo																																																		
Italy	Giulia Prinzi																																																		
UK	Natassia Robinson																																																		
Italy	Stefania Proietti																																																		
Poland	Magdalena Mitysiak-Kucharek																																																		
Czech Republic	Katerina Honkova																																																		
Czech Republic	Alena Opatkova																																																		
Czech Republic	Sena Vodenkova																																																		
Portugal	Joana Madureira																																																		
Brasil	Vanessa Moraes De Andrade																																																		

Figura 3. Presentazione del Corso di Statistica ed Epidemiologia

“HORIZON 2020” PON I&C 2014-2020

*“NET4HEALTH - NETwork for HEALTH management”*

*Ministero dello Sviluppo Economico (MISE) - Direzione Generale per gli Incentivi alle Imprese; Divisione VII – Interventi per ricerca e sviluppo F/050383/01-03/X32.*

*Ambito Tecnologico 7. Tecnologie volte a realizzare i seguenti obiettivi della priorità “Sfide per la società”*

*Sotto ambito 7.1 Migliorare la salute e il benessere della popolazione.*

Il progetto, della durata di 36 mesi ha avuto ufficialmente inizio il 01/02/2017. Obiettivo finale è la realizzazione di una piattaforma tecnologica per supportare la continuità e la personalizzazione della cura del paziente sul territorio, oltre che la definizione, lo sviluppo e l’implementazione di Percorso Diagnostico Terapeutico Assistenziale (PDTA) e Piano Assistenziale Integrato (PAI) e, più in generale, di workflow basati sull’evidenza scientifica e compliant con le linee guida e best practices. Gli elementi che caratterizzano il progetto NET4HEALTH rispetto alla tecnologia e al sotto ambito indicati possono essere sintetizzati in:

1. Miglioramento dei processi di cura e gestione di pazienti cronici sul territorio, con particolare riferimento a due domini medico-clinici: Cardiovascolare e Oncologico.
2. Fornire meccanismi efficaci per la definizione, l’attuazione e la gestione dei PDTA e dei PAI, abilitando, attraverso una piattaforma tecnologica, un paradigma di “networked health management”, in cui tutti gli stakeholders, incluso il paziente, collaborano ai fini di un incremento dell’efficacia dei processi di cura e gestione a fronte di un contenimento – e potenzialmente riduzione – dei costi associati.
3. Integrazione tra i diversi ambienti (primary, secondary e home care) e relativi stakeholders attraverso soluzioni e sistemi tecnologici (ad esempio domotica, telemedicina, monitoraggio remoto, ecc.).
4. Garantire continuità di cura e assistenza, assieme ad una continua (ri)valutazione ed eventuale ridefinizione di PAI e PDTA.
5. Fornire funzionalità di supporto decisionale attraverso diverse strategie, quali esplorazione ed analisi dei dati, “operazionalizzazione” di linea guida e best practices opportunamente codificate in basi di conoscenza ontologiche

Questo approccio di “Open Innovation” offre la possibilità di sfruttare, in modo rapido, i più recenti avanzamenti tecnologici che abbiano un potenziale impatto positivo nel migliorare i processi di cura e gestione dei pazienti cronici sul territorio e, di conseguenza, la salute ed il benessere della popolazione.

Per quanto riguarda le attività previste dalla Unità dell’IRCCS San Raffaele Pisana, è stato completato lo studio delle informazioni relative all’attuale gestione clinico-organizzativa del problema sanitario specifico. In particolare è stata effettuata un’analisi dei PDTA e dei requirements degli stakeholders per l’Area Oncologica. La definizione degli eventi e dei processi di trattamento delle cronicità per l’Area Oncologica è in fase di ultimazione.

## RICERCA TRASLAZIONALE

### LABORATORIO DI PATOFISIOLOGIA DELLA CACHESSIA E METABOLISMO DEL MUSCOLO SCHELETRICO

#### Conto Capitale

*Anno 2016-2017. Valutazione approfondita dello stato infiammatorio, dei livelli di mediatori solubili circolanti e biomarkers, e del danno tissutale in malattie disabilitanti al fine di monitorare gli effetti di terapie riabilitative sia nei pazienti che nei relativi modelli animali in studio*

L'analisi dettagliata e puntuale dello stato infiammatorio e dei livelli di mediatori solubili circolanti associati alla patologia in esame è uno strumento fondamentale per lo studio e la valutazione dell'efficacia delle terapie riabilitative nei pazienti con malattie croniche e danno funzionale. Inoltre, anche gli studi pre-clinici di nuovi strumenti e approcci terapeutici con effetto riabilitante (pratiche fisioterapiche, cellule staminali, riabilitazione molecolare, esercizio, farmaci mimetici dell'esercizio ecc...) acquistano in validità per quanto riguarda il rigore scientifico.

Coerentemente con la Linea 1 di ricerca dell'Istituto, dedicata allo studio dei determinanti cellulari, molecolari, genetici, elettrofisiologici e nutrizionali della riabilitazione motoria e sensoriale nelle malattie neurodegenerative e nel dolore. La strumentazione richiesta (Piattaforma Luminex) viene usata per studiare in maniera molto dettagliata il pattern di fattori solubili circolanti associati alla patologia nei liquidi biologici dei pazienti in esame e nei relativi modelli animali. Questo rappresenta un notevole risparmio in termini di tempo e consente di analizzare molti analiti, laddove, prima, bisognava selezionarne solo alcuni. Ciò è utile anche nel caso dei modelli pre-clinici murini, da cui si ottengono piccolissimi volumi di sangue. L'analisi dei determinanti cellulari, molecolari e genetici della risposta riabilitativa in modelli riproducenti le malattie neurodegenerative e cerebrovascolari e nel dolore cronico è infatti di interesse pivotale nella Linea 1 di ricerca, che si focalizza anche sullo studio clinico dell'efficacia dell'esercizio fisico e/o dei presidi farmacologici e nutrizionali nel recupero funzionale delle malattie neurodegenerative e del dolore cronico e sull'identificazione delle variabili molecolari che condizionano la risposta riabilitativa in pazienti affetti da patologie croniche non trasmissibili (quali, ad esempio, morbo di Parkinson, malattia di Alzheimer, malattie cerebrovascolari, nel con dolore cronico, o malattie vascolari croniche che implicano un deficit funzionale).

L'effetto dell'acquisizione di tali strumentazioni copre anche gli interessi della Linea 2 di ricerca, che si occupa dello studio dei meccanismi di recupero funzionale nelle patologie croniche, disabilitanti dell'apparato cardiovascolare e respiratorio, dei determinanti cellulari, molecolari e genetici della risposta riabilitativa al training fisico in modelli riproducenti le patologie cronico-degenerative dell'apparato cardiovascolare e respiratorio, lo studio clinico dell'efficacia della riabilitazione e/o dei presidi farmacologici e nutrizionali nel recupero funzionale delle malattie cronico-degenerative dell'apparato cardiovascolare e respiratorio, nonché lo studio delle malattie cronico-degenerative dell'apparato cardiovascolare e respiratorio come fattore di comorbilità che condiziona la risposta al trattamento riabilitativo in popolazioni fragili.

In questo contesto, l'introduzione del microscopio confocale richiesto, che sostituisce il modello attualmente in uso, consente di analizzare con maggiore efficienza il danno tissutale anche a livello subcellulare in biopsie umane, in cellule e in tessuti animali. Il microscopio confocale richiesto è all'avanguardia, ha 4 laser ed è ad alta efficienza. Il sistema di scansione più rapido del precedente con ottimizzazione del percorso ottico. Il sistema di detection del segnale è ad alta sensibilità e alta flessibilità grazie all'utilizzo del detector spettrale a tecnologia GAaSP. Grazie a questa soluzione è possibile usare fluorofori con spettri di emissione anche molto vicini separando i segnali molto accuratamente, soluzione, questa, utilissima per studi di co-localizzazione.

## **Fondazione Italiana di Ricerca per la Sclerosi Laterale Amiotrofica -ARISLA**

*Modulation of hypermetabolism and hyperexcitability as a strategy to counteract degeneration in ALS*

Unità operativa

PI Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"

La SLA è caratterizzata dalla progressiva perdita dei neuroni motori, associata ad atrofia del muscolo scheletrico, perdita di forza muscolare e, infine, paralisi. Circa due terzi dei pazienti con Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) presenta caratteristiche di ipermetabolismo, ovvero utilizzano più energia di quella necessaria per le loro attività. Allo stesso tempo, i pazienti presentano un metabolismo difettoso, in quanto utilizzano i grassi come fonte principale di energia anziché il glucosio. Queste alterazioni metaboliche, possono condurre ad un esaurimento delle riserve energetiche, e dunque essere alla base di una maggiore eccitabilità neuronale (che può causare crampi e fascicolazione) e della progressiva perdita dei neuroni motori.

L'ipotesi alla base di questo progetto è che la diminuzione simultanea dell'iperexcitabilità dei neuroni e il miglioramento del metabolismo energetico difettoso possano essere di beneficio nel modello murino di SLA SOD1-G93A. Sulla base di numerosi positivi risultati preliminari del gruppo di ricerca, obiettivo del progetto è esaminare il potenziale effetto terapeutico fornito dalla somministrazione cronica nel modello murino di SLA SOD1-G93A di un farmaco che ha due effetti principali: inibisce l'utilizzo dei lipidi e ripristina l'uso del glucosio come fonte primaria di energia e, similmente al Riluzolo nei neuroni, agisce come inibitore parziale di alcune correnti eccitatorie sia nei neuroni che nei muscoli. Per discriminare tra i due effetti della RAN, verranno somministrati separatamente altri due farmaci (GS967 e TMZ) che agiscono singolarmente sulle due vie.

I risultati ottenuti in questi animali saranno convalidati in altri modelli SLA e in cellule staminali derivanti dai pazienti e indotte a differenziarsi in motoneuroni e fibre muscolari.

Poiché la ranolazina e la trimetazidina sono farmaci già in uso per altre patologie e il GS967 è utilizzato in studi preclinici per diverse indicazioni, questo progetto potrebbe fornire un forte supporto per una rapida traduzione nella pratica clinica per il trattamento della SLA.

I ricercatori del Laboratorio di Patofisiologia della Cachessia e del Metabolismo de Muscolo ha una riconosciuta e pionieristica esperienza, in campo internazionale, sull'effetto del modulatore del metabolismo TMZ sul muscolo scheletrico, argomento sul quale abbiamo recentemente pubblicato alcuni lavori scientifici su riviste specializzate. Sulla base di questa esperienza, il laboratorio si occupa della parte del progetto relativa all'analisi dell'effetto dei farmaci utilizzati sul muscolo scheletrico dei modelli murini di SLA. Si valuterà il grado di atrofia muscolare a livello molecolare e morfologico, lo shift metabolico in termini di composizione in fibre nonché l'effetto sulle giunzioni neuromuscolari.

### Cost Action

*ADMIRE - Aldosterone and mineralocorticoid receptor: pathophysiology, clinical implication and therapeutic innovations*

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 sta finanziando 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.

**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 gli 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 riceveranno 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 anche nell'anno 2018.

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 esamina se e come l'ipossia intermittente cronica influenzi il comportamento e l'ansia. Vengono utilizzati modelli animali (ratti e topi), piloti di aerei e ragazzi e adulti con apnea da sonno.

Vengono utilizzati 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.

b) Unità operativa San Raffaele Pisana

Il reclutamento viene condotto su base volontaria tra i pazienti del Reparto di Riabilitazione Neuromotoria 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, pulsoximetria, ecc.

## **LABORATORIO DI FARMACOLOGIA CELLULARE E MOLECOLARE**

### *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 studio 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 è stato 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 nitrificazione dei residui tirosinici e inattivazione enzimatica di MnSOD, GLT1 e GS nel tratto lombare L4-L5 del midollo spinale. La somministrazione di idrossitiroso, oleuropeina e della frazione polifenolica del bergamotto (BPF) ha ridotto significativamente i livelli di nitrificazione 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'atassia di Friedreich e l'ischemia celebrale 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- $\beta$ -ciclodestrine (HP- $\beta$ -CD), data la scarsa solubilità e i problemi di nefrotossicità delle ciclodestrine naturali. I dati hanno rilevato come la formulazione idebenone-HP- $\beta$ -CD sia in grado di ridurre l'iperalgia termica e l'edema in maniera dose-dipendente rispetto all'idebenone non veicolato. Inoltre, è stato 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- $\beta$ -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.







Convenzioni:

- Sapienza Università di Roma: Dipartimento di Medicina Sperimentale e Patologia. Dipartimento di Fisiologia Umana e Farmacologia.
- Sapienza Università di Roma, Dipartimento di Scienze di Sanità Pubblica “G. Sanarelli”.
- Sapienza Università di Roma, Dipartimento di Scienze Cardiovascolari, Respiratorie e Morfologiche. Accordo scientifico per progetti di ricerca di comune interesse.
- Università degli Studi di Roma “Tor Vergata”, Dipartimento di Biologia.
- Università degli Studi di Roma “Tor Vergata”, Dipartimento di Medicina Interna.
- Istituto Superiore di Sanità.
- Università Cattolica del Sacro Cuore.
- Università Cattolica del Sacro Cuore, Istituto di Fisiologia Umana.
- Università “Magna Graecia” di Catanzaro, Dipartimento di Scienze della Salute.
- Politecnico di Milano, Dipartimento di Bioingegneria.
- Università degli Studi dell’Aquila, Dipartimento di Scienze della Salute.
- Università di Parma Dipartimento di Scienze Chirurgiche Anestesia, Rianimazione e Medicina del dolore Scuola di Specializzazione in Anestesia, Rianimazione e Terapia Intensiva.
- Agenzia nazionale per le nuove tecnologie, l'energia e lo sviluppo economico sostenibile- ENEA.
- Università Telematica San Raffaele Roma.
- Medical and Experimental Bioimaging Center – MEBIC.

Collaborazioni istituzionali:

**I-GrADE (Italian Group for Appropriate Drug prescription in the Elderly)**

Alcuni ricercatori clinici dell'Istituto fanno parte del Gruppo di Lavoro Italiano per la prescrizione appropriata dei farmaci alle persone anziane.

**Unità per la Terapia del Dolore, Dipartimento di Scienze Neurologiche, Sapienza Università di Roma**

Validazione di protocolli diagnostici e clinici (DN4) per il dolore cronico e neuropatico; studio neurofisiologico delle vie termiche e nocicettive nella regione trigeminale mediante stimolazione Nd-YAP-laser nei pazienti con dolore cefalico episodico e cronico; riabilitazione del dolore cronico.

**Centro dei Disordini del Movimento Dipartimento di Scienze Neurologiche, Policlinico Umberto I, Sapienza Università di Roma**

Collaborazione clinica e scientifica continua per i pazienti affetti da malattia di Parkinson e/o altri disturbi del Movimento.

**UTN-Unità di Trattamento Neurovascolare, Dipartimento di Scienze Neurologiche, Policlinico Umberto I, Sapienza Università di Roma**

La collaborazione scientifica e clinica con l'unità di Trattamento Neurovascolare riguarda pazienti con malattie cerebrovascolari acute-subacute per la riabilitazione neuromotoria.

**Istituto Superiore di Sanità, Roma**

La collaborazione scientifica con l'Istituto Superiore di Sanità avviene mediante valutazione ed elaborazione dati di progetti scientifici

**Dipartimento di Scienze Neurologiche, U.O. Cefalea e Disordini Vascolari IRCCS Istituto Neurologico Nazionale Carlo Besta, Milano.**

L'Unità della Cefalea e del Dolore del San Raffaele centro di riferimento per il Lazio della Associazione Neurologica Italiana per la Ricerca della Cefalea - ANIRCEF (la cui sede principale è Istituto Neurologico Nazionale Carlo Besta).

**Centro cefalee della donna del dipartimento di discipline ginecologiche dell'Università di Torino Ospedale Sant'Anna- Servizio di Agopuntura- Centro cefalee della donna. (Prof. Giovanni Battista Allais).** La collaborazione scientifica con il Prof Allais e la sua equipe mira a formulare progetti ed effettuare lavori scientifici che studiano gli effetti clinici dell'agopuntura nei pazienti affetti dalle varie forme di cefalea ad andamento cronico.

**Università degli Studi di Bari, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze e Organi di Senso (Prof. Emilio Jirillo, Prof. Gianfranco Gennarini).** Collaborazione editoriale per la stesura del libro "Mangia (bene) che ti passa: miti, scienza e novità su nutrizione e mal di testa" e scientifica per lo studio della neurogenesi e della low-grade inflammation nell'emigrania e delle possibilità di modulazione mediante nutraceutica.

**S.C.D.U. Neurologia-III Centro Cefalee, Università di Torino "Molinette" (Dr Rainero Innocenzo) e Centro Cefalee, Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi-Firenze (Prof. Pierangelo Geppetti).**

La collaborazione scientifica è mirata a definire efficacie e tollerabilità della profilassi dell'emigrania mestruale mediante stimolazione vagale non invasiva con dispositivo Gamma Core.



La biblioteca collabora attivamente con tutte le biblioteche del proprio ambito disciplinare sul territorio nazionale. Partecipa all'Organizzazione delle biblioteche scientifiche promossa e finanziata dal Ministero della Salute (Bibliosan), al Catalogo Nazionale dei Periodici (ACNP), al sistema per lo scambio di documenti (NILDE) e al Gruppo Italiano Documentalisti dell'Industria Farmaceutica e degli Istituti di Ricerca Biomedica (Gidif-Rbm). Rappresenta l'Istituto ed il gruppo Bibliosan all'interno di gruppi di lavoro d'ambito biblioteconomico.

I servizi bibliotecari si concretizzano nella consulenza, guida all'uso, consultazione e riproduzione delle risorse nonché nella consultazione e la riproduzione di copie della produzione scientifica dell'Istituto dal 1999 ad oggi.

A disposizione degli utenti si trovano anche i seguenti strumenti, materiali e risorse:

- banche dati: PubMed + LinkSource, Cinahl, Journal Citation Reports, Web of Science, Scopus, Banche Dati EBSCO, BMJ BestPractice, Cochrane Library, ProQolid, Faculty of 1000, OECD;
- più di 7.000 periodici scientifici di editori quali Elsevier ScienceDirect, Wiley, Nature, Springer ma anche New England Journal of Medicine, Stroke, Blood, Science e i più importanti periodici italiani d'ambito medico-sanitario: Assistenza Infermieristica e Ricerca, Educazione Sanitaria & Promozione della Salute, Sole 24 Ore Sanità, Mecosan, Medicina e Morale, Organizzazione Sanitaria, Panorama della Sanità, Psicoterapia cognitiva e comportamentale, Sanità Pubblica e Privata, Tecnica Ospedaliera etc.
- tutte gli anni di periodici cartacei correnti e/o interrotti sono esposti a scaffale aperto e liberamente consultabili unitamente ad enciclopedie, dizionari, repertori;
- strumenti per la gestione delle bibliografie (RefWorks);
- oltre 1.000 testi di ambito clinico, sanitario e scientifico.

La biblioteca si occupa anche dell'organizzazione di corsi volti all'approfondimento e alla formazione all'uso delle risorse disponibili.

Le risorse sono accessibili a distanza, dall'interno dei computer della rete aziendale e da remoto.

Sul portale istituzionale [www.sanraffaele.it](http://www.sanraffaele.it), è presente una area dedicata ai servizi e alle risorse della biblioteca: <http://www.sanraffaele.it/contenuti/37/biblioteca>.



## **Università Telematica San Raffaele Roma**

L'Università Telematica San Raffaele Roma, 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, 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.
- Il percorso in Nutraceutica della Laurea Magistrale LM61 ha come obiettivo quello di fornire una preparazione volta all'acquisizione di conoscenze capacità e competenze nell'ambito dell'alimentazione e nutrizione in una prospettiva funzionale alla nutraceutica. Particolare attenzione verrà quindi posta al tema degli integratori alimentari, alimenti funzionali e medicali e ai nutraceutici. Il laureato magistrale della LM61 – Nutraceutica avrà quindi conoscenze specifiche inerenti il valore nutrizionale degli alimenti, nonché le funzioni terapeutiche e le proprietà dei medesimi; anche l'impatto dei processi di

trasformazioni sulle proprietà degli alimenti verrà studiato, oltre agli aspetti fisio-biologici e microbiologici che legano nutrienti e organismo.

### **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 pragmatismo e immaginazione, managerialità e progettualità. Il percorso didattico è in grado di fornire sia concrete esperienze di progetto e conoscenza sia “*case history*” specifiche.

Il corso di Moda e Design Industriale con indirizzo moda fornisce le competenze necessarie ad acquisire gli elementi culturali, scientifici, metodologici e tecnico-strumentali che sono alla base dell'attività di progettazione sia nel campo della moda sia nel campo del design in generale.

In particolare il corso valorizza il potenziale del Design italiano proponendolo come modello d'innovazione e strategia aziendale affiancando alle nozioni di design tradizionali una serie di competenze relative all'imprenditorialità e alla gestione del prodotto dalla sua ideazione alla sua collocazione nel mercato. Il percorso didattico è in grado di fornire sia concrete esperienze di progetto e conoscenza, sia *case history* specifiche. Il percorso formativo predilige un approccio multidisciplinare che combina pragmatismo e immaginazione, managerialità e progettualità.

### **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](http://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.

Per quanto riguarda l'attività di progettazione e ricerca l'Ateneo ha perseguito la produzione e la 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 ha potenziato l'impatto della ricerca scientifica e la realizzazione di progetti di ricerca innovativi e competitivi anche a livello internazionale.

Un'importante certificazione dei risultati raggiunti nella qualità della ricerca a fronte degli sforzi profusi in tal senso nei pochi anni di vita dell'Ateneo è stata la rilevazione sulla VQR (Valutazione sulla qualità della ricerca) recentemente pubblicata dall'Anvur per il triennio 2011-2014, nella quale l'Università Telematica San Raffaele Roma viene collocata al secondo posto nella graduatoria delle piccole università in riferimento all'area delle scienze mediche.

### I MIGLIORI ATENEI (per area di ricerca)

AREA 6 - SCIENZE MEDICHE

Dimensione ateneo (nell'area)	Top 3	Ateneo	Numero di prodotti attesi	Variazione rispetto alla media (%)
Grande	1	Padova	637	+19%
	2	Torino	650	+17%
	3	Bologna	635	+10%
Medio	1	Milano Bicocca	216	+18%
	2	Verona	398	+12%
	3	Marche	233	+11%
Piccolo	1	Milano HUMANITAS	36	+49%
	2	Roma San Raffaele	12	+44%
	3	Pisa S.Anna	8	+40%

L'obiettivo principale è dunque stato quello di assegnare alla ricerca un ruolo sempre più importante nella strategia di sviluppo dell'Università, aiutando la vocazione scientifica dell'Ateneo ad esprimersi ad alto livello creando azioni di stimolo e di sostegno.

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.

Il Dipartimento delle Scienze Umane e Promozione della Qualità della Vita continuerà sulla scia delle politiche adottate dall'Ateneo al fine di garantire l'interdisciplinarietà tra i vari Corsi di Laurea.

L'Università Telematica San Raffaele Roma, fin dall'inizio della sua attività, può contare, attraverso la stipula di rapporti convenzionali, sul supporto di strutture di ricerca altamente specializzate e fornite di una idonea strumentazione scientifica, così da radicare le proprie attività su infrastrutture di particolare qualità e dimensione. Di seguito si riportano le principali convenzioni (nazionali e internazionali) con numerosi centri di ricerca tra i quali:

- MEBIC (Medical and Experimental Bioimaging Center)
- Istituto di Ricovero e cura a carattere Scientifico (IRCCS) San Raffaele Pisana
- Università degli studi di Roma Tor Vergata
- Università degli Studi di Catania
- Università di Sassari Dipartimento dell'uomo e della Formazione
- Istituto Universitario di Ricerca Scientifica e Tecnologica Santa Rita
- Scuola di Eccellenza in Flebologia
- Eurosanità Spa Casa di cura Villa Stuart
- CNR – Istituto di Bioimmagini e Fisiologia molecolare
- The George Washington University
- Diabetes Research Institute at The University Of Miami
- Pst - Parco Tecnologico Scientifico Technoscience
- Istituto Di Bioimmagini E Fisiologia Molecolare Del Cnr
- University of Hawaii Cancer Center

Tali collaborazioni prevedono scambi continui di ricercatori e tirocinanti permettendo la condivisione di strutture e di laboratori ai fini di ottimizzare la produzione scientifica.

## NOMINE, INCARICHI E RICONOSCIMENTI

### Piero Barbanti

- Tesoriere della Società Italiana di Neurogeriatria (SINeG)
- Consigliere dell'Associazione Neurologica Italiana per la Ricerca sulle Cefalee (ANIRCEF)
- Membro del Consiglio dei Soci Fondatori della 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)
- Abilitazione al ruolo di professore di II fascia di neurologia (settore concorsuale 06/D6, Bando D.D. 1532/2016)
- Membro del Comitato Scientifico della KetogenicDiet Academy

### Massimiliano Caprio

- Vincitore del Premio "Ettore Cicconetti" per l'anno 2017 – Rotary Club Golfo D'Anzio
- Membro della Commissione Scientifica della SIE (Società Italiana di Endocrinologia)
- Coordinatore del Comitato Scientifico dell'area ECM - Carocci editore SpA
- Rappresentante Italiano del Management Committee – COST (European Cooperation in Science and Technology) Action BM 1301 “Aldosterone and Mineralocorticoid Receptor” (ADMIRE), Leader del Working Group 5: "Pathophysiological roles of ALDO/MR in novel target tissues" (website: <http://www.admirecost.eu/>)
- Membro della Commissione Aggiornamento Clinico-Scientifico della Società Italiana di Andrologia e Medicina della Sessualità (SIAMS)
- Coordinatore del Club SIE della Società Italiana Endocrinologia per la Endocrinologia Cardiovascolare

### Carlo Damiani

Conferma nomina per la Segreteria del Lazio della Società Italiana di Medicina Fisica e Riabilitativa (SIMFER).

### Patrizia Ferroni

- Editorial Board Member delle riviste:
  - Thrombosis & Haemostasis: Research <http://austinpublishinggroup.com/thrombosis-haemostasis/editorialBoard.php>
  - International Journal of Oncology Research: [https://clinmedjournals.org/editorial\\_board.php?jid=ijor](https://clinmedjournals.org/editorial_board.php?jid=ijor)
- Guest Editor: Current Medicinal Chemistry Hot Topic Issue on: Non-Communicable Diseases: Gender Differences in Therapy (Vol. 24, n. 24, 2017)
- MIUR – Abilitazione Scientifica Nazionale Settore concorsuale 05/E3 – Biochimica Clinica, Professore di Prima Fascia

### 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.
- MIUR – Abilitazione Scientifica Nazionale Settore concorsuale 05/E3 – Biochimica Clinica, Professore di Prima Fascia
- MIUR – Abilitazione Scientifica Nazionale Settore concorsuale 06/A2 – Patologia Generale e Patologia Clinica, Professore di Prima Fascia

### **Palma Lamonaca**

Award per partecipazione al Corso base di formazione per test di Comet e riparazione del DNA, 8-11 marzo 2017, Norwegian Institute of Public Health, Oslo, Norvegia

### **Federica Limana**

Editor per: Plos One

### **Daniela Merlo**

Expert evaluator for Swiss Science Foundation

### **Anna Teresa Palamara**

- Presidente sezione III Consiglio Superiore di Sanità
- Membro del Comitato scientifico dell’Istituto Superiore di Sanità
- Membro della Direzione Scientifica della Fondazione “Istituto Pasteur-Cenci Bolognetti ” della “Sapienza” Università di Roma
- Presidente della Società Italiana di Microbiologia (SIM)

### **Giulia Prinzi**

Scientific and Humanistic Research Foundation Award. Antonio Meneghetti: Psychological Intervention To Improve The COPD Patient Empowerment And The Quality Of Life: A Pilot Study In Real Life Setting - <http://www.fondazionemeneghetti.ch/pages/182/Awards-Winners-2016.html>

### **Cristina Roseti**

- Membro dell’Editorial Board della Rivista Physical Medicine and Rehabilitation.
- 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;
  - Molecular and Cellular Oncology;

- Journal of Cardiology Research.

### **Maurizio Volterrani**

- Esperto Europeo SAG della European Medicine Agency (EMA)
- Membro dello Steering Committee dello studio paneuropeo RELAX
- AHF EU (A multicenter, prospective, randomized, open label study to assess the effect of serelaxin versus standard of care in acute heart failure (AHF) patients)
- Coordinatore Nazionale dello Studio RELAX AHF-EU
- Membro di due commissioni dell'Heart Failure Association (HFA), società scientifica collegata alla European Society of Cardiology (ESC): 1) Exercise and Training Committee e 2) Surveys, Registry and Epidemiology Committee;
- Membro del Comitato Scientifico dello studio paneuropeo APOLO (A Multicenter, RAndomized, Open-label, Parallel-group trial to study the safety and non-inferiority of a new therapeutic strategy (TrinOmia®) versus usual care, on LDLc and bLOod pressure reduction in patients with atherothrombotic cardiovascular disease: The APOLO trial).





## CORSI

Nel 2017 l'IRCCS San Raffaele Pisana si è classificato all'ottavo posto tra i migliori Provider per attività prodotta nel 2017 nella Categoria IRCCS entrando per la prima volta nella Classifica di riferimento registrando, al contempo, un sensibile incremento nel numero di eventi rispetto all'anno precedente.

Nell'anno 2017 l'IRCCS San Raffaele Pisana ha organizzato 36 corsi ECM, totalizzando 743,8 crediti per con un totale di 1779 partecipanti.

DATA		TITOLO	NUMERO DI CREDITI ECM
Gennaio	1	Il Trattamento antiaggregante nei pazienti con sindromi coronariche acute	16
Marzo	28	Approccio multidisciplinare al paziente con patologia respiratoria	10,4
Aprile	20	Ricerca Clinica: aspetti etici, metodologici e normativi	10
	21	Elettrocardiografia - Esecuzione ed interpretazione basilare dell'ECG in 2 edizioni	16,8
Maggio	5	Significant Event Audit (SEA): Discussione di casi clinici significativi quale strumento di governo clinico	7,8
	8	Elettrocardiografia: interpretazione di base dell'ECG (2 edizioni)	25,9
	9	Accessi venosi centrali: Linee Guida e raccomandazioni per la gestione dei dispositivi vascolari (edizioni nell'anno)	13,9
	11	Dall'anatomia palpatoria alla riabilitazione: arto inferiore, rachide e spalla	23,5
	11	Tecniche di mobilizzazione del paziente - movimentazione manuale dei carichi (4 edizioni svolte nell'anno)	19
	16	Gestione Infermieristica e Fisioterapica della Malattia di Parkinson	10,7
	17	Il Percorso Decisionale in riabilitazione: analisi di casi clinici, pragmatismo quotidiano e obiettivi riabilitativi	20,8
	18	Il Recupero dell'autonomia: dal ricovero al rientro a domicilio	5,8
	22	Gestione degli eventi avversi nelle strutture sanitarie: ruolo della funzione di coordinamento nella loro prevenzione (2 edizioni)	11,3
	27	I bisogni di salute del paziente fragile: quali risposte	4
	29	L'infermiere e l'emotrasfusione: dalla normativa alla pratica	5,2
Giugno	9	Le patologie del ginocchio nel calciatore: diagnosi, chirurgia, riabilitazione	4
	9	Patologie Cardiologiche di più Frequente Riscontro (2 edizioni)	39,6
	13	Approccio integrato nella terapia della BPCO: ruolo delle diverse figure professionali nella definizione dell'iter diagnostico-terapeutico	8

	16	La nuova legge sulla responsabilità professionale degli esercenti le professioni sanitarie. Opinioni a confronto	4
	17	Strumenti di valutazione clinica in età evolutiva	10,4
	18	Il coinvolgimento delle famiglie nel progetto riabilitativo del bambino con disabilità	10,8
	19	L'intervento Riabilitativo nell'Ictus Cerebrale alla Luce delle Linee Guida AHA/ASA 2016 e ISO/SPREAD 2016	5,2
	21	Modalità di Esecuzione dei Prelievi Venosi e Arteriosi, Gestione dei Presidi/Strumentazione	5,2
	23	I mezzi fisici nella terapia del dolore	7,8
Ottobre	26	La valutazione del paziente disfagico: gestione infermieristica e logopedica	10
Novembre	7	Sistemi robotici per la riabilitazione dell'arto inferiore: dalla statica al cammino	4,8
	8	Raccomandazioni, modalità di intervento e protocolli nella gestione delle aree riabilitativo-assistenziali di base	20,8
	10	Mobilizzazione del paziente in un reparto di terapia riabilitativa neuromotoria per la prevenzione delle piaghe da decubito (2 edizioni)	10,4
	10	La riforma della responsabilità in ambito sanitario	50
	10	Profili applicativi nella responsabilità medica	50
	29	Masterclass in Neurology	10
	30	La privacy in ambito sanitario e la comunicazione efficace	10,4
Dicembre	1	L'appropriatezza prescrittiva nella diagnostica radiologica. Aspetti etici e gestionali	4
	4	Approccio riabilitativo al paziente con lesione neurologica: da Temple-Fay ai giorni d'oggi	6
	4	Rischio Clinico: l'igiene delle mani, per una cura pulita e Sicura (10 edizioni)	6,5
	12	Gestione delle infezioni catetere correlato	6,5
	13	Strategie riabilitative nelle diverse forme di Ppatologia dello spettro autistico: implicazioni cliniche e di ricerca nel lavoro con i bambini	14

Nel 2017 è stato attivato un nuovo corso tramite Formazione a Distanza sulla Piattaforma che l'IRCCS ha attivato per i corsi ECM in collaborazione con l'Università Telematica San Raffaele. Si tratta di un Corso di Perfezionamento sulla "Dieta chetogenica nel nuovo millennio: principi biochimici e nuove indicazioni cliniche, ideato da Piero Barbanti e Massimiliano Caprio.



## 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 ATTIVITA' BIENNIO 2016-2017

Nel corso dell'anno 2017 il numero totale dei dimessi in regime di ricovero ordinario è stato di 4092, di cui 2640 pazienti per la Riabilitazione e 1452 pazienti per l'Unità Operativa di Medicina (Tabella 1).

**Tabella 1 - Dimessi IRCCS San Raffaele Pisana - anno 2017**

Discipline	N° Dimessi regione	N° Dimessi fuori regione	Totale	Degenza Media
<b>Riabilitazione in Regime di Ricovero Ordinario</b>	2422	218	<b>2640</b>	<b>30,15</b>
<b>Riabilitazione in regime di Day Hospital</b>	596	20	<b>616</b>	<b>24,07*</b>
Medicina interna	1408	44	<b>1452</b>	<b>7,30</b>
	<b>4426</b>	<b>282</b>	<b>4708</b>	<b>22,31</b>

**Nota n. 1\*:** numero medio di accessi per paziente.

Analizzando i dati per ciascuna U.O. (Tabella n. 2), si osserva che la maggior parte dei ricoveri è attribuibile all'Unità Operativa di Riabilitazione Neuromotoria (1184 pazienti sul totale dei dimessi pari al 44,85%, di cui il 92,65% residenti nella Regione Lazio) ed all'Unità Operativa di Cardiologia Riabilitativa (752 pazienti sul totale dei dimessi pari al 28,48%, di cui il 94,28% 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 22,58% (596 di cui il 95,97% residenti nella Regione Lazio) e del 4,09% (108 di cui il 40,74% residenti nella Regione Lazio).

La degenza media dei pazienti dimessi dalle Unità Operative va da un minimo di 22,91 giorni per la Riabilitazione Respiratoria ad un massimo di 37,56 giorni per la Riabilitazione Neuromotoria, con una media totale di 30,15 giorni.

**Tabella 2 - Ricoveri U.O. di Riabilitazione Anno 2017 – 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	64	44	108	3573	30,55	36,77	33,08
Riabilitazione Respiratoria	24	572	596	13655	24,83	22,83	22,91
Riabilitazione Neuromotoria	87	1097	1184	44471	31,17	38,07	37,56
Cardiologia Riabilitativa	43	709	752	17889	24,72	23,73	23,79
<b>Totale</b>	<b>218</b>	<b>2422</b>	<b>2640</b>	<b>79588</b>	<b>29,02</b>	<b>30,25</b>	<b>30,15</b>

Per quanto concerne l'attività di Day Hospital, ci sono stati 14.829 accessi, per un totale di 616 pazienti (Tabella n. 3). Dei pazienti ricoverati in regime di day hospital il 3,25% proviene da regioni diverse dalla Regione Lazio.

**Tabella 3 – Attività di DH - anno 2017**

	N° Dimessi regione	N° Dimessi fuori regione	Totale	Totale accessi	Numero medio accessi/pz
Riabilitazione dh	596	20	616	14829	24,07

L'IRCCS San Raffaele Pisana conferma la propria capacità attrattiva con ricoveri provenienti da tutte le regioni italiane. Considerando la totalità dei ricoveri, ordinari e diurni, il 5,99% dei pazienti provengono da regioni diverse dalla regione Lazio (282 su un totale di 4708 pazienti).

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.

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 dieci giorni dall'evento acuto (67,57%) e la quasi totalità (92,31%) entro quattro settimane. Il 56,08% (664/1184) sono di sesso femminile.

Gli accessi dei pazienti avvengono tramite percorsi assistenziali privilegiati con le strutture ospedaliere per acuti sul territorio, come riportato precedentemente.

Nei reparti di riabilitazione neuromotoria (ordinaria) la grande maggioranza dei pazienti viene ricoverato entro dieci giorni dall'evento acuto (67,57%) e la quasi totalità (92,31%) entro quattro settimane. Il 56,08% (664/1184) è di sesso femminile.

Dei pazienti ricoverati per la riabilitazione neuromotoria 997 (84,21%) hanno un'età da 60 anni in poi, di cui 756 (63,85%) con 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
Riab NM1	70.08	30.5	70.3
Riab NM2	72.67	34.7	79.8
Riab NM3	71.73	34.1	80.9

Nei reparti di cardiologica riabilitativa e riabilitazione respiratoria gli outcome vengono misurati anche con il test del cammino (6 minute walking test) e la Classe BORG. Mentre nella riabilitazione respiratoria si rileva quasi una equa distribuzione (51% M e 49% F), nella cardiologia riabilitativa il 63% è rappresentato da uomini.

	<b>Età media</b>	<b>Barthel ingresso media</b>	<b>Barthel dimissione media</b>	<b>SMWT ingresso media</b>	<b>SMWT dimissione media</b>
Cardiologia riabilitativa	72.39	72.9	94.6	63.0	282.5
Riabilitazione respiratoria	74.63	54.3	77.7	67.8	170.3

## INNOVAZIONE E ECCELLENZA ASSISTENZIALE

L'IRCCS è dotato di una serie di apparecchiature tecnologicamente all'avanguardia sia per la terapia riabilitativa che per la valutazione funzionale; pertanto i Percorsi Diagnostico Terapeutici (PDT) sono stati redatti allo scopo di supportare programmi di valutazione e trattamento *technology-based*, facendo riferimento a linee guida (LG) e raccomandazioni di comportamento clinico.

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) (Ekso – 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 le attività funzionali e 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.

L'elemento maggiormente innovativo è costituito dal Training del cammino over ground mediante l'esoscheletro Ekso. Nel 2017, sono stati trattati con l'Ekso oltre 60 pazienti, ottenendo risultati significativi, grazie all'elevata formazione dei fisioterapisti patentanti specificamente dalla EksoBionics (US).

Per il trattamento di neuromodulazione mirato alle cefalee, in particolare per il trattamento della cefalea a grappolo cronica farmacoresistente, è stato messo a punto lo 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'emigrania. 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.

La Cardiologia Riabilitativa dell'IRCCS San Raffaele Pisana si distingue per l'innovazione assistenziale, nell'ambito della cardiagnostica:

- RMN cardiaca per lo studio della funzionalità cardiaca, TAC (multistrato 128K) per l'indagine morfologica delle coronarie. Laboratorio di ecocardiografia centralizzato, con tre postazioni autonome e devices portatili. Monitoraggio avanzato per aritmie e fenomeni ischemici esteso a tutto l'ambito cardiovascolare. Valutazione della funzione endoteliale non invasiva. Ambulatorio per lo studio del SNA, della portata cardiaca e delle resistenze polmonari non invasive.



- 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.

Già nel 2016 è stato depositato un brevetto "cycle medical personal trainer", che nel 2017 è stato esteso a livello mondiale. Il proposito innovativo e tecnologicamente all'avanguardia del brevetto consiste nel passaggio, per pazienti con infarto cronico (CHF), dal classico esercizio al cicloergometro 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.

Inoltre per quanto concerne il Centro per lo Sviluppo Infantile, tra le **procedure diagnostiche** sviluppate, una procedura diagnostica interessante è stata il "sistema esperto", sviluppato con MAGIC2 per guidare i medici di reparto alla compilazione della diagnosi categoriale e di sviluppo in accordo alle principali classificazioni internazionali: AAIDD, system of classification and support, ICD9, ICD10, DSM IV e DSM V, ICF.

## INDIRIZZI UTILI

### **Direttore Scientifico**

### **Massimo Fini**

Via di Val Cannuta, 247  
Tel. +39 0652253406 Fax +39 06 52255668  
Email: [massimo.fini@sanraffaele.it](mailto:massimo.fini@sanraffaele.it)

### **Direttore Sanitario**

### **Ugo Luigi Aparo**

Via della Pisana, 235  
Tel. +39 06 52252337  
Email: [direzione.sanitaria@sanraffaele.it](mailto:direzione.sanitaria@sanraffaele.it)

### **Direttore Operativo**

### **Maria Fattori**

Via della Pisana, 235  
Tel. +39 06 52252380  
Email: [maria.fattori@sanraffaele.it](mailto: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](mailto:enrico.garaci@sanraffaele.it)

### **Segreteria Scientifica Grant office**

### **Astrid van Rijn**

Via di Val Cannuta, 247  
Tel. +39 06 52253405 Fax +39 06 52255668  
Email: [astrid.vanrijn@sanraffaele.it](mailto: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](mailto:segreteriascientifica@sanraffaele.it)

### **Servizi Amministrativi Ricerca**

### **Guido Poli/Elena Biagini**

Via di Val Cannuta, 247  
Tel. +39 06 52252471  
Email: [guido.poli@sanraffaele.it](mailto:guido.poli@sanraffaele.it)  
[elena.biagini@sanraffaele.it](mailto:elena.biagini@sanraffaele.it)

### **Segreteria Comitato Etico**

### **Lucia Gatta**

Via di Val Cannuta, 247  
Tel. +39 06 66130406 Fax 06/66130407  
Email: [lucia.gatta@sanraffaele.it](mailto:lucia.gatta@sanraffaele.it)

### **Biblioteca**

### **Valia Nikolova**

Via di Val Cannuta, 247  
Tel/Fax +39 06 52252466  
Email: [bibliotecapisana@sanraffaele.it](mailto:bibliotecapisana@sanraffaele.it)

### **Editorial Office**

### **Daniela Pernice**

Via di Val Cannuta, 247  
Tel. +39 06 52253404 Fax +39 06 52255668  
Email: [daniela.pernice@sanraffaele.it](mailto:daniela.pernice@sanraffaele.it)

Come raggiungerci

IRCCS San Raffaele Pisana  
Via della Pisana, 235  
00166 Roma

