

INDICE

1. Attività Scientifica

Comitato Scientifico

Pubblicazioni

Linee di Ricerca

3.2.1. Linea 1. Fattori preclinici determinanti l'efficacia della riabilitazione

3.2.2. Linea 2. Clinica della disabilità

3.2.3. Linea 3. Innovazione in medicina e riabilitazione

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

ATTIVITA' SCIENTIFICA

COMITATO TECNICO SCIENTIFICO

Il Comitato Tecnico-Scientifico, presieduto dal Prof. Enrico Garaci:

- ha funzioni di indirizzo e di supporto all'attività di ricerca;
- formula il parere sulla relazione scientifica inerente all'attività di ricerca;
- formula i criteri per la valutazione dei risultati di ricerca;
- valuta e approva il programma annuale di ricerca elaborato dal Direttore Scientifico e ne propone l'attuazione al Consiglio di Amministrazione.

Il Comitato Tecnico-Scientifico promuove inoltre la formazione professionale per incentivare la produttività scientifica e tutti gli elementi necessari per il raggiungimento e il mantenimento dell'eccellenza sia scientifica che assistenziale.

Prof. Enrico Garaci	
Lucio Annunziato	Giuseppe Novelli
Luigi Ugo Aparo	Anna Teresa Palamara
Giorgio Bernardi	Giuseppe Rotilio
Marcello Celestini	Matteo Antonio Russo
Massimo Fini	Valter Santilli
Marco Franceschini	Natale Santucci
Fiorella Guadagni	Fabrizio Stocchi
Vincenzo Mollace	Maurizio Volterrani
Giovanni Muto	

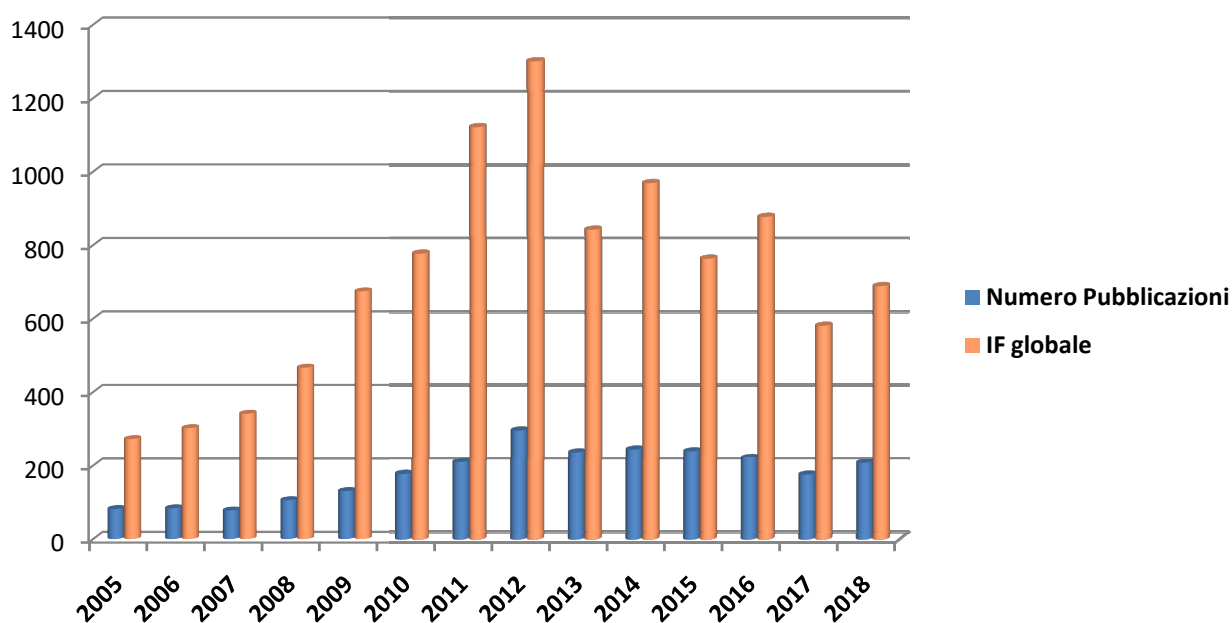
PRODUZIONE SCIENTIFICA

Nel 2018 l'attività scientifica dell'IRCCS San Raffaele è documentata da 218 pubblicazioni, che comprendono:

- 206 articoli originali su riviste recensite dal JCR
- 12 articoli originali su riviste non recensite dal JCR

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

L'impact factor totale per gli articoli pubblicati nel 2018 è 920.



Impact Factor totale degli articoli pubblicati dall' IRCCS San Raffaele Pisana nel periodo 2005-2018

Betsou F, Bilbao R, Case J, Chuaqui R, Clements JA, De Souza Y, De Wilde A, Geiger J, Grizzle W, Guadagni F, Gunter E, Heil S, Kiehntopf M, Koppandi I, Lehmann S, Linsen L, Mackenzie-Dodds J, AguilarQuesada R, Tebbakha R, Selander T, Shea K, Sobel M, Somiari S, Spyropoulos D, Stone M, Tybring G, Valyi-Nagy K, Wadhwa L.

Standard PREanalytical Code version 3.0.

Biopreserv Biobank. 2018 [Epub ahead of print]

De Marchis ML, Guadagni F, Silvestris E, Lovero D, Della-Morte D, Ferroni P, Barbanti P, Palmirota R.

Genetic bases of the nutritional approach to migraine.

Crit Rev Food SciNutr. 2018 Mar 8;1-13. [Epub ahead of print]

Hoffman RM, Guadagni F.

Expression and Targeting of Tumor Markers in Gelfoam® Histoculture: Potential Individualized Assays for Immuno-Oncology.

Methods Mol Biol. 2018;1760:29-37. 1_4.

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. 2018 Apr 20;28(12):1144-1183.

Ferroni P, Barbanti P, Spila A, Fratangeli F, Aurilia C, Fofi L, Egeo G, Guadagni F.

Circulating biomarkers in migraine. New Opportunities for precision medicine.

Curr Med Chem. 2018 Jun 22.

Anticancer Res. 2018 Aug;38(8):4705-4712.

Prognostic significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio in the framework of the 8th TNM edition for breast cancer.

Ferroni P, Roselli M, Buonomo OC, Spila A, Portarena I, Laudisi A, Valente MG, Pirillo SP, Fortunato L, Costarelli L, Cavaliere F, Guadagni F.

Ferroni P, Roselli M, Zanzotto FM, Guadagni F.

Artificial intelligence for cancer-associated thrombosis risk assessment.

Lancet Haematol. 2018 Sep;5(9):e391.

Ferroni P.

Meet Our Associate Editor

Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets, 2018, Vol. 18, No. 3 165

Raparelli V, Proietti M, Lenzi A, Basili S; EVA Collaborators.

Sex and gender differences in ischemic heart disease: Endocrine Vascular disease Approach (EVA) study design.

J CardiovascTransl Res. 2018 Dec 3. [Epub ahead of print]

Bonassi S, Prinzi G, Lamonaca P, Russo P, Paximadas I, Rasoni G, Rossi R, Ruggi M, Malandrino S, Sánchez-Flores M, Valdíglesias V, Benassi B, Pacchierotti F, Villani P, Panatta M, Cordelli E.

Clinical and genomic safety of treatment with Ginkgo biloba L. leaf extract (IDN 5933/Ginkgoselect®Plus) in elderly: a randomised placebo-controlled clinical trial [GiBiEx].

BMC Complement Altern Med. 2018 Jan 22;18(1):22.

Neri M, Sansone L, Pietrasanta L, Kisialiou A, Cabano E, Martini M, Russo MA, Ugolini D, Tafani M, Bonassi S.

Gene and protein expression of CXCR4 in adult and elderly patients with chronic rhinitis, pharyngitis or sinusitis undergoing thermal water nasal inhalations.

Immun Ageing. 2018 Feb 27;15:10. eCollection 2018.

Russo P, Prinzi G, Lamonaca P, Cardaci V, Fini M.

Flavonoids and Reduction of Cardiovascular Disease (CVD) in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD).

Curr Med Chem. 2018 May 13. doi: 10.2174/0929867325666180514100640. [Epub ahead of print]

Russo P, Lococco F, Kisialiou A, Prinzi G, Lamonaca P, Cardaci V, Fini M.

Pharmacological management of Chronic Obstructive Lung Disease (COPD). Focus on Mutations.

Curr Med Chem. 2018 May 31. [Epub ahead of print]

Russo P, Prinzi G, Proietti S, Lamonaca P, Frustaci A, Boccia S, Amore R, Lorenzi M, Onder G, Marzetti E, Valdiglesias V, Guadagni F, Valente MG, Cascio GL, Fraietta S, Ducci G, Bonassi S.

Shorter telomere length in schizophrenia: Evidence from a real-world population and meta-analysis of most recent literature.

Schizophr Res. 2018 Dec;202:37-45. Epub 2018 Jul 9.

Prinzi G, Santoro A, Lamonaca P, Cardaci V, Fini M, Russo P.

Cognitive impairment in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD): possible utility of marine bioactive compounds.

Mar Drugs. 2018 Sep 4;16(9).

Kisialiou A, Prinzi G, Lamonaca P, Cardaci V, Fini M, Bonassi S, Russo P.

Pharmacological management of Chronic Obstructive Lung Disease (COPD).Evidence from a real-world perspective.

Curr Med Chem. 2018 Oct 30. [Epub ahead of print]

Lorenzi M, Bonassi S, Lorenzi T, Giovannini S, Bernabei R, Onder G.

A review of telomere length in sarcopenia and frailty.

Biogerontology. 2018 Jul;19(3-4):209-221.

Milić M, Neri M, Ceppi M, Bruzzone M, Munnia A, Ugolini D, Cristaudo A, Bonotti A, Peluso ME, Bonassi S.

DNA damage and genomic instability among workers formerly and currently exposed to asbestos.

Scand J Work Environ Health. 2018 Jul 1;44(4):423-431.

Sánchez-Flores M, Marcos-Pérez D, Lorenzo-López L, Maseda A, Millán-Calenti JC, Bonassi S, Pásaro E, Laffon B, Valdiglesias V.

Frailty syndrome and genomic instability in older adults.Suitability of the Cytome Micronucleus Assay as a diagnostic tool.

J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2018 Jun 14;73(7):864-872.

Wazzan AAA, Tommelein E, Foubert K, Bonassi S, Onder G, Somers A, Petrovic M, Boussery K.

Development and application of the GheOP3S-Tool addendum on potentially inappropriate prescribing (PIP) of renally excreted active drugs (READs) in older adults with polypharmacy.

Drugs Aging. 2018 Apr;35(4):343-364.

- 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. 2018 Mar;10(3):488-495.
- Ruffolo G, Di Bonaventura C, Cifelli P, Roseti C, Fattouch J, Morano A, Limatola C, Aronica E, Palma, Giallonardo AT.
A novel action of lacosamide on GABAA currents sets the ground for a synergic interaction with levetiracetam in treatment of epilepsy.
Neurobiol Dis. 2018 Jul;115:59-68.
- Ruffolo G, Cifelli P, Roseti C, Thom M, van Vliet EA, Limatola C, Aronica E, Palma E.
A novel GABAergic dysfunction in human Dravet syndrome.
Epilepsia. 2018 Nov;59(11):2106-2117.
- Gentile A, Musella A, De Vito F, Fresegna D, Bullitta S, Rizzo FR, Centonze D, Mandolesi G.
Laquinimod ameliorates excitotoxic damage by regulating glutamate re-uptake.
J Neuroinflammation. 2018 Jan 5;15(1):5.
- Stampanoni Bassi M, Iezzi E, Marfia G, Simonelli I, Musella A, Mandolesi G, Fresegna D, Pasqualetti P, Furlan R, Finardi A, Mataluni G, Landi D, Gilio L, Centonze D, Buttari F.
Platelet-derived growth factor predicts prolonged relapse-free period in multiple sclerosis.
J Neuroinflammation. 2018 Apr 14;15(1):108.
- Musella A, Gentile A, Rizzo FR, De Vito F, Fresegna D, Bullitta S, Vanni V, Guadalupi L, Stampanoni Bassi M, Buttari F, Centonze D, Mandolesi G.
Interplay between age and neuroinflammation in multiple sclerosis: effects on motor and cognitive functions.
Front Aging Neurosci. 2018 Aug 8;10:238. eCollection 2018.
- Stampanoni Bassi M, Iezzi E, Landi D, Monteleone F, Gilio L, Simonelli I, Musella A, Mandolesi G, De Vito F, Furlan R, Finardi A, Marfia GA, Centonze D, Buttari F.
Delayed treatment of MS is associated with high CSF levels of IL-6 and IL-8 and worse future disease course.
J Neurol. 2018 Nov;265(11):2540-2547.
- Gentile A, De Vito F, Fresegna D, Rizzo FR, Bullitta S, Guadalupi L, Vanni V, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Chiurchiù V, Marfia GA, Mandolesi G, Centonze D, Musella A.
Peripheral t cells from multiple sclerosis patients trigger Synaptotoxic alterations in central neurons
Neuropathol Appl Neurobiol. [Epub ahead of print]
- Carresi C, Musolino V, Gliozzi M, Maiuolo J, Mollace R, Nucera S, Maretta A, Sergi D, Muscoli S, Gratteri S, Palma E, Bosco F, Giuncotta C, Muscoli C, Marino F, Aquila I, Torella D, Romeo F, Mollace V.
Anti-oxidant effect of bergamot polyphenolic fraction counteracts doxorubicin-induced cardiomyopathy: Role of autophagy and c-kit^{pos}CD45^{neg}CD31^{neg} cardiac stem cell activation.
J Mol Cell Cardiol. 2018 Jun;119:10-18. doi: 10.1016/j.yjmcc.2018.04.007. Epub 2018 Apr 12.
- Maiuolo J, Maretta A, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Bosco F, Mollace R, Scarano F, Palma E, Scicchitano M, Nucera S, Sergi D, Muscoli S, Gratteri S, Muscoli C, Mollace V.
Ethanol-induced cardiomyocyte toxicity implicit autophagy and NFkB transcription factor.

Pharmacol Res. 2018 Jul;133:141-150.

Int J Mol Sci. 2018 Sep 10;19(9).

The "Frail" Brain Blood Barrier in Neurodegenerative Diseases: Role of Early Disruption of Endothelial Cell-to-Cell Connections.

Maiuolo J, Gliozzi M, Musolino V, Scicchitano M, Carresi C, Scarano F, Bosco F, Nucera S, Ruga S, Zito MC, Mollace R, Palma E, Fini M, Muscoli C, Mollace V.

Gliozzi M, Scicchitano M, Bosco F, Musolino V, Carresi C, Scarano F, Maiuolo J, Nucera S, Maretta A, Paone S, Mollace R, Ruga S, Zito MC, Macrì R, Oppedisano F, Palma E, Muscoli C and Mollace V.

Modulation of nitric oxide synthases by oxyLDL: role in vascular inflammation and atherosclerosis development.

Preprints 2018, 2018090285 (doi: 10.20944/preprints201809.0285.v1). Received: 15 September 2018/Approved: 17 September 2018 / Online: 17 September 2018.

De Santa F, Vitiello L, Torcinaro A, Ferraro E.

The Role of Metabolic Remodeling in Macrophage Polarization and Its Effect on Skeletal Muscle Regeneration.

Antioxid Redox Signal. 2018 Oct 9. [Epub ahead of print]

Mollinari C, Zhao J, Lupacchini L, Garaci E, Merlo D, Pei G.

Transdifferentiation: a new promise for neurodegenerative diseases.

Cell Death Dis. 2018 Aug 6;9(8):830.

Espay AJ, Morgante F, Merola A, Fasano A, Marsili L, Fox SH, Bezdard E, Picconi B, Calabresi P, Lang A.

Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson disease: Current and evolving concepts.

Ann Neurol. 2018 Dec;84(6):797-811.

Front Cell Neurosci. 2018 Jan 17;12:4.

Intermittent Fasting Applied in Combination with Rotenone Treatment Exacerbates Dopamine Neurons Degeneration in Mice.

Tatulli G, Mitro N, Cannata SM, Audano M, Caruso D, D'Arcangelo G, Lettieri-Barbato D, Aquilano K.

Vegliante R, Ciriolo MR.

Autophagy and Autophagic Cell Death: Uncovering New Mechanisms Whereby Dehydroepiandrosterone Promotes Beneficial Effects on Human Health.

VitamHorm. 2018;108:273-307.

Vegliante R, Di Leo L, Ciccarone F, Ciriolo MR.

Hints on ATGL implications in cancer: beyond bioenergetic clues.

Cell Death Dis. 2018 Feb 22;9(3):316.

Lettieri-Barbato D, Cannata SM, Casagrande V, Ciriolo MR, Aquilano K.

Time-controlled fasting prevents aging-like mitochondrial changes induced by persistent dietary fat overload in skeletal muscle.

PLoS One. 2018 May 9;13(5):e0195912. eCollection 2018.

Di Leo L, Vegliante R, Ciccarone F, Salvatori I, Scimeca M, Bonanno E, Sagnotta A, Grazi GL, Aquilano K, Ciriolo MR.

Forcing ATGL expression in hepatocarcinoma cells imposes glycolytic rewiring through PPAR- α /p300-mediated acetylation of p53.

Oncogene.2018 Oct 26.doi: 10.1038/s41388-018-0545-0. [Epub ahead of print]

Ciccarone F, Castelli S, Ioannilli L, Ciriolo MR.

High Dietary Fat Intake Affects DNA Methylation/Hydroxymethylation in Mouse Heart: Epigenetic Hints for Obesity-Related Cardiac Dysfunction.

MolNutr Food Res. 2018 Dec 4:e1800970. Epub ahead of print

Marroncelli N, Bianchi M, Bertin M, Consalvi S, Saccone V, De Bardi M, Puri PL, Palacios D, Adamo S, Moresi V.

HDAC4 regulates satellite cell proliferation and differentiation by targeting P21 and Sharp1 genes.

Sci Rep. 2018 Feb 22;8(1):3448.

Feraco A, Armani A, Urbanet R, NguyenDinhCat A, Marzolla V, Jaisser F, Caprio M.

Minor role of mature adipocyte mineralocorticoid receptor in high fat induced obesity.

J Endocrinol.2018 Aug 18.pii: JOE-18-0314. [Epub ahead of print]

Gorini S, Marzolla V, Mammi C, Armani A, Caprio M.

Mineralocorticoid Receptor and Aldosterone-Related Biomarkers of End-Organ Damage in Cardiometabolic Disease.

Biomolecules. 2018 Sep 18;8(3).

Marzolla V, Armani A, Mammi C, Feraco A, Caprio M.

Induction of Atherosclerotic Plaques Through Activation of Mineralocorticoid Receptors in Apolipoprotein E-deficient Mice.

J Vis Exp. 2018 Sep 26;(139).

Infante M, Armani A, Marzolla V, Fabbri A, Caprio M

Adipocyte Mineralocorticoid Receptor

VitamHorm, 2018 in press

Matteucci C, Argaw-Denboba A, Balestrieri E, Giovinazzo A, Miele M, D'Agostini C, Pica F, Grelli S, Paci M, Mastino A, Sinibaldi Vallebona P, Garaci E, Tomino C.

Deciphering cellular biological processes to clinical application: a new perspective for T α 1 treatment targeting multiple diseases.

Expert OpinBiolTher. 2018 Jul;18(sup1):23-31.

Marcocci ME, Amatore D, Villa S, Casciaro B, Aimola P, Franci G, Grieco P, Galdiero M, Palamara AT, Mangoni ML, Nencioni L.

The Amphibian Antimicrobial Peptide Temporin B Inhibits In Vitro Herpes Simplex Virus 1 Infection.

Antimicrob Agents Chemother. 2018 Apr 26;62(5).

Prezioso C, Scribano D, Rodio DM, Ambrosi C, Trancassini M, Palamara AT, Pietropaolo V.

COS-7-based model: methodological approach to study John Cunningham virus replication cycle.

Virology. 2018 Feb 5;15(1):29.

Conte MP, Superti F, Moio M, Ammendolia MG, Longhi C, Aleandri M, Marazzato M, Goldoni P, Parisi P, Borab Z, Palamara AT, Carlesimo B.

Bacterial biofilm associated with a case of capsular contracture.

New Microbiol. 2018 Jul;41(3):238-241. Epub 2018 Jun 6.

Renga G, Moretti S, Oikonomou V, Borghi M, Zelante T, Paolicelli G, Costantini C, De Zuani M, Vilella VR, Raia V, Del Sordo R, Bartoli A, Baldoni M, Renault JC, Sidoni A, Garaci E, Maiuri L, Pucillo C, Romani L.

IL-9 and Mast Cells Are Key Players of *Candida albicans* Commensalism and Pathogenesis in the Gut.

Cell Rep. 2018 May 8;23(6):1767-1778.

Romani L, Oikonomou V, Moretti S, Iannitti RG, D'Adamo MC, Vilella 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.

Publisher Correction: Thymosin α 1 represents a potential potent single-molecule-based therapy for cystic fibrosis.

Nat Med. 2018 Sep;24(9):1482.

Limongi D, Baldelli S, Santi F, D'Agostini C, Palamara AT, Nencioni L, Ciotti M.

Redox alteration in patients infected by different HCV genotypes.

Infez Med. 2018 Sep 1;26(3):249-254.

Severa M, Zhang J, Giacomini E, Rizzo F, Etna MP, Cruciani M, Garaci E, Chopp M, Coccia EM.

Thymosins in multiple sclerosis and its experimental models: moving from basic to clinical application.

MultSclerRelatDisord. 2019 Jan;27:52-60.

Di Sotto A, Checconi P, Celestino I, Locatelli M, Carissimi S, De Angelis M, Rossi V, Limongi D, Toniolo C, Martinoli L, Di Giacomo S, Palamara AT, Nencioni L.

Antiviral and Antioxidant Activity of a Hydroalcoholic Extract from *Humulus lupulus* L.

Oxid Med Cell Longev. 2018 Jul 24;2018:5919237.

Vilella VR, Venerando A, Cozza G, Esposito S, Ferrari E, Monzani R, Spinella MC, Oikonomou V, Renga G, Tosco A, Rossin F, Guido S, Silano M, Garaci E, Chao YK, Grimm C, Luciani A, Romani L, Piacentini M, Raia V, Kroemer G, Maiuri L.

A pathogenic role for cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in celiac disease.

EMBO J. 2019 Jan 15;38(2). Epub 2018 Nov 29.

Pica F, Gaziano R, Casalnuovo I, Moroni G, Buè C, Limongi D, D'Agostini C, Tomino C, Perricone R, Palamara AT, Sinibaldi Vallebona P, Garaci E.

Serum thymosin alpha 1 levels in normal and pathological conditions.

Expert OpinBiolTher. 2018 Jul;18(sup1):13-21.

Matteucci C, Argaw-Denboba A, Balestrieri E, Giovinazzo A, Miele M, D'Agostini C, Pica F, Grelli S, Paci M, Mastino A, Sinibaldi Vallebona P, Garaci E, Tomino C.

Deciphering cellular biological processes to clinical application: a new perspective for T α 1 treatment targeting multiple diseases.

Expert OpinBiolTher. 2018 Jul;18 (sup1):23-31.

Mardente S, Mari E, Massimi I, Tafani M, Guerriero R, Morsilli O, Pulcinelli FM, Bianchi ME, Zicari A.

From Human Megakaryocytes to Platelets: Effects of Aspirin on High-Mobility Group Box 1/Receptor for Advanced Glycation End Products Axis.

Front Immunol. 2018 Jan 12;8:1946.

Magrone T, Russo MA, Jirillo E.

Antimicrobial Peptides: Phylogenic Sources and Biological Activities. First of Two Parts.
Curr Pharm Des. 2018;24(10):1043-1053.

Puddighinu G, D'Amario D, Foglio E, Manchi M, Siracusano A, Pontemezzo E, Cordella M, Facchiano F, Pellegrini L, Mangoni A, Tafani M, Crea F, Germani A, Russo MA, Limana F.

Molecular mechanisms of cardioprotective effects mediated by transplanted cardiac ckit+ cells through the activation of an inflammatory hypoxia-dependent reparative response.

Oncotarget. 2017 Dec 6;9(1):937-957. doi: 10.18632/oncotarget.22946. eCollection 2018 Jan 2.

Frustaci A, Verardo R, Grande C, Galea N, Piselli P, Carbone I, Alfarano M, Russo MA, Chimenti C.

Immune-Mediated Myocarditis in Fabry Disease Cardiomyopathy.

J Am Heart Assoc. 2018 Sep 4;7(17):e009052.

C. Chimenti , R. Verardo , C. Grande , M.A. Russo , A. Frustaci

Hypertrophy of unaffected cardiomyocytes concurs to severity of cardiomyopathy in female patients with fabry disease

European Heart Journal (2018) 39 (Supplement), 459

Mardente S1, Mari E1, Massimi I1, Tafani M1,2, Guerriero R3, Morsilli O3, Pulcinelli FM1, Bianchi ME4, Zicari A1.

From Human Megakaryocytes to Platelets: Effects of Aspirin on High-Mobility Group Box 1/Receptor for Advanced Glycation End Products Axis.

Front Immunol. 2018 Jan 12;8:1946.

Magrone T, Russo MA, Jirillo E.

Antimicrobial Peptides: Phylogenic Sources and Biological Activities. First of Two Parts.
Curr Pharm Des. 2018;24(10):1043-1053.

Puddighinu G, D'Amario D, Foglio E, Manchi M, Siracusano A, Pontemezzo E, Cordella M, Facchiano F, Pellegrini L, Mangoni A, Tafani M, Crea F, Germani A, Russo MA, Limana F.

Molecular mechanisms of cardioprotective effects mediated by transplanted cardiac ckit+ cells through the activation of an inflammatory hypoxia-dependent reparative response.

Oncotarget. 2017 Dec 6;9(1):937-957.

Puddighinu G, D'Amario D, Foglio E, Manchi M, Siracusano A, Pontemezzo E, Cordella M, Facchiano F, Pellegrini L, Mangoni A, Tafani M, Crea F, Germani A, Russo MA, Limana F.

Molecular mechanisms of cardioprotective effects mediated by transplanted cardiac ckit+ cells through the activation of an inflammatory hypoxia-dependent reparative response.

Oncotarget. 2017 Dec 6;9(1):937-957. doi: 10.18632/oncotarget.22946. eCollection 2018 Jan 2.

Chimenti C, Verardo R, Grande C, Russo MA, Frustaci A

Hypertrophy of unaffected cardiomyocytes concurs to severity of cardiomyopathy in female patients with fabry disease

European Heart Journal 39(suppl_1) August 2018

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.

EndocrMetab Immune Disord Drug Targets. 2018;18(1):85-93.

Magrone T, Spagnoletta A, Magrone M, Russo MA, Corriero A, Jirillo E, Passantino L.

Effects of polyphenol administration to European farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax* L): Special focus on hepatopancreas morphology.

EndocrMetab Immune Disord Drug Targets. 2018 Oct 9 [Epub ahead of print]

Pellegrini L1, Foglio E2, Pontemezzo E2, Germani A3, Russo MA4, Limana F5.

HMGB1 and repair: focus on the heart.

PharmacolTher. 2018 Dec 6.pii: S0163-7258(18)30221-30223. [Epub ahead of print]

Magrone T, Russo MA, Jirillo E.

Dietary approaches to attain fish health with special reference to their immune system.

Curr Pharm Des. [Epub ahead of print]

Area di Ricerca Riabilitazione Neuromotoria

Franceschini M, Fugazzaro S, Agosti M, Sola C, Di Carlo A, Cecconi L, Ferro S; Italian Study Group on Implementation of Stroke Care (ISC Study).

Acute Phase Predictors of 6-Month Functional Outcome in Italian Stroke Patients Eligible for In-Hospital Rehabilitation.

Am J Phys Med Rehabil. 2018 Jul;97(7):467-475.

Franceschini M, Goffredo M, Pournajaf S, Paravati S, Agosti M, De Pisi F, Galafate D, Posteraro F.
Predictors of activities of daily living outcomes after upper limb robot-assisted therapy in subacute stroke patients.

PLoS One. 2018 Feb 21;13(2):e0193235. eCollection 2018.

Di Carlo A, Lamassa M, Franceschini M, Bovis F, Cecconi L, Pournajaf S, Paravati S, Biggeri A, Inzitari D, Ferro S; Italian Study Group on Implementation of Stroke Care.

Impact of acute-phase complications and interventions on 6-month survival after stroke. A prospective observational study.

PLoS One. 2018 Mar 23;13(3):e0194786. eCollection 2018.

Gasparini G, Gaffuri M, E. Guanziroli1, Goffredo M, Pournajaf S, Galafate D, Russo E, Filoni S, Franceschini M, Molteni F.

Recovery of gait function with a wearable powered exoskeleton in sub-acute stroke patients using SEMG for fine tuning: Preliminary results

Annals of Physical and Rehabilitation Medicine 61S (2018) e1–e102

Franceschini M, Fugazzaro S, Agosti M, Sola C, Di Carlo A, Cecconi L, Ferro S; Italian Study Group on Implementation of Stroke Care (ISC Study).

Acute Phase Predictors of 6-Month Functional Outcome in Italian Stroke Patients Eligible for In-Hospital Rehabilitation.

Am J Phys Med Rehabil. 2018 Jul;97(7):467-475.

Pournajaf S, Goffredo M, Agosti M, Massucci M, Ferro S, Franceschini M; Italian Study Group on Implementation of Stroke Care (ISC Study).

Community ambulation of stroke survivors at 6 months follow-up: an observational study on sociodemographic and sub-acute clinical indicators.

Eur J Phys Rehabil Med. 2018 Dec 13. [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. 2018 Feb;48:88-96.

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

Functional cortical source connectivity of resting state electroencephalographic alpha rhythms shows similar abnormalities in patients with mild cognitive impairment due to Alzheimer's and Parkinson's diseases.

Clin Neurophysiol. 2018 Apr;129(4):766-782.

Hempel H, Toschi N, Babiloni C, Baldacci F, Black KL, Bokde ALW, Bun RS, Cacciola F, Cavedo E, Chiesa PA, Colliot O, Coman CM, Dubois B, Duggento A, Durrleman S, Ferretti MT, George N, Genthon R, Habert MO, Herholz K, Koronyo Y, Koronyo-Hamaoui M, Lamari F, Langevin T, Lehericy S, Lorenceau J, Neri C, Nisticò R, Nyasse-Messene F, Ritchie C, Rossi S, Santarnecchi E, Sporns O, Verdooner SR, Vergallo A, Villain N, Younesi E, Garaci F, Lista S; Alzheimer Precision Medicine Initiative (APMI).

Revolution of Alzheimer Precision Neurology. Passageway of Systems Biology and Neurophysiology.

J Alzheimers Dis. 2018;64(s1):S47-S105.

Neurobiol Aging. 2019 Jan 24;77:112-127. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2019.01.013. [Epub ahead of print]

Abnormalities of functional cortical source connectivity of resting-state electroencephalographic alpha rhythms are similar in patients with mild cognitive impairment due to Alzheimer's and Lewy body diseases.

Babiloni C, Del Percio C, Pascarelli MT, Lizio R, Noce G, Lopez S, Rizzo M, Ferri R, Soricelli A, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Salvetti M, Cipollini V, Franciotti R, Onofri M, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Aarsland D, Parnetti L, Farotti L, Marizzoni M, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Yener G, Emek-Savaş DD, Triggiani AI, Taylor JP, McKeith I, Stocchi F, Vacca L, Hempel H, Frisoni GB, De Pandis MF, Bonanni L.

Chou KL, Stacy M, Simuni T, Miyasaki J, Oertel WH, Sethi K, Fernandez H, Stocchi F.

The spectrum of "off" in Parkinson's disease: What have we learned over 40 years?

Parkinsonism Relat Disord. 2018 Jun;51:9-16.

Galli M, Vicidomini C, Rozin Kleiner AF, Vacca L, Cimolin V, Condoluci C, Stocchi F, De Pandis MF.

Peripheral neurostimulation breaks the shuffling steps patterns in Parkinsonian gait: a double blind randomized longitudinal study with automated mechanical peripheral stimulation.

Eur J Phys Rehabil Med. 2018 Dec;54(6):860-865.

Pagnussat AS, Kleiner AFR, Rieder CRM, Frantz A, Ehlers J, Pinto C, Dorneles G, Netto CA, Peres A, Galli M.

Plantar stimulation in parkinsonians: From biomarkers to mobility - randomized-controlled trial.

Restor Neurol Neurosci. 2018;36(2):195-205.

Pinto C, Pagnussat AS, Rozin Kleiner AF, Marchese RR, Salazar AP, Rieder CRM, Galli M.

Automated Mechanical Peripheral Stimulation Improves Gait Parameters in Subjects With Parkinson Disease and Freezing of Gait: A Randomized Clinical Trial.

Am J Phys Med Rehabil. 2018 Jun;97(6):383-389.

de Melo GEL, Kleiner AFR, Lopes JBP, Dumont AJL, Lazzari RD, Galli M, Oliveira CS.
Effect of virtual reality training on walking distance and physical fitness in individuals with Parkinson's disease.

NeuroRehabilitation. 2018;42(4):473-480.

Kleiner AFR, Pacifici I, Condoluci C, Sforza C, Galli M.

Slip avoidance strategies in children with bilateral spastic cerebral palsy and crouch gait.

Clin Biomech (Bristol, Avon).2018 Jun; 55:36-39.

Babiloni C, Del Percio C, Lizio R, Noce G, Lopez S, Soricelli A, Ferri R, Pascarelli MT, Catania V, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Aarsland D, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Onofrj M, Stocchi F, Vacca L, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Garn H, Fraioli L, 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, Taylor JP, De Pandis MF, Bonanni L.

Abnormalities of Resting State Cortical EEG Rhythms in Subjects with Mild Cognitive Impairment Due to Alzheimer's and Lewy Body Diseases.

J Alzheimers Dis. 2018;62(1):247-268.

Zago M, Sforza C, Bonardi DR, Guffanti EE, Galli M.

Gait analysis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review.

Gait Posture. 2018 Mar;61:408-415.

Warren Olanow C., Stocchi F, Poewe W, Ellenbogen A, Djaldetti R, Rachmilewitz Minei T, Cohen Y, Oren S, Kieburtz K.

Efficacy and safety of subcutaneous L-dopa/carbidopa (ND0612H) infusion in fluctuating PD patients (S26.003)

April 10, 2018; 90 (15 Supplement) APRIL 24, 2018

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

Timed Up and Go evaluation with wearable devices: Validation in Parkinson's disease.

J Body Mov Ther. 2018 Apr;22(2):390-395.

Delasta Lazzaria R, RozinKleinerbc AF, PalmaLopes JB, LopesDumonta AJ, BraunFerreira LA, Galli M, SantosOliveira C, MalosaSampaio LM.

P 081 - Required friction curve patterns in a child with unilateral spastic cerebral palsy and true equinus gait

Gait & Posture, Volume 65, Supplement 1, September 2018, 363-364.

Cau N, Galli M, Cimolin V, Grossi A, Battarin I, Puleo G, Balzarini A, Caraceni A.

Quantitative comparison between the laser scanner three-dimensional method and the circumferential method for evaluation of arm volume in patients with lymphedema.

J Vasc Surg Venous Lymphat Disord. 2018 Jan;6(1):96-103.

de Almeida Carvalho Duarte N, Collange Grecco LA, Delasta Lazzari R, Pasini Neto H, Galli M, Santos Oliveira C.

Effect of Transcranial Direct Current Stimulation of Motor Cortex in Cerebral Palsy: A Study Protocol.

Pediatr Phys Ther. 2018 Jan;30(1):67-71.

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. 2018 Jan;40(2):144-151.

Zago M, Sforza C, Pacifici I, Cimolin V, Camerota F, Celletti C, Condoluci C, De Pandis MF, Galli M.

Gait evaluation using inertial measurement units in subjects with Parkinson's disease.

J Electromyogr Kinesiol. 2018 Oct;42:44-48.

J Brooks D, Calabresi P, Fox S, Müller T, Poewe W, Rascol O, Stocchi F.

Expert Perspectives – Parkinson's Disease Pathophysiology and Management

European Neurological Review. 2018;13(Suppl. 2):3–13.

Babiloni C, Del Percio C, Lizio R, Noce G, Lopez S, Soricelli A, Ferri R, Pascarelli MT, Catania V, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Bonanni L, Franciotti R, Onofri M, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Fraioli L, Parnetti L, Farotti L, Pievani M, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Yener G, Emek-Savaş DD, Triggiani AI, Taylor JP, McKeith I, Stocchi F, Vacca L, Frisoni GB, De Pandis MF.

Levodopa may affect cortical excitability in Parkinson's disease patients with cognitive deficits as revealed by reduced activity of cortical sources of resting state electroencephalographic rhythms.

Neurobiol Aging. Epub 2018 Aug 30.

Ferreira LAB, Cimolin V, Neto HP, Grecco LAC, Lazzari RD, Dumont AJ, Galli M, Oliveira CS.

Effect of postural insoles on gait pattern in individuals with hemiparesis: A randomized controlled clinical trial.

J Bodyw Mov Ther. 2018 Jul;22(3): 792-797.

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 Bodyw Mov Ther. 2018 Jul;22(3):747-751.

Area di Ricerca Parkinson e Disturbi del Movimento

Torti M, Vacca L, Stocchi F.

Istradefylline for the treatment of Parkinson's disease: is it a promising strategy?

Expert Opin Pharmacother. 2018 Nov;19(16):1821-1828.

Olivola E, Brusa L, Rocchi C, Schillaci O, Liguori C, Cerroni R, Pierantozzi M, Chiaravalloti A, Stefani A, Stocchi F.

Does fatigue in Parkinson's disease correlate with autonomic nervous system dysfunction?

Neurol Sci. 2018 Dec;39(12):2169-2174..

Fabbi M, Ferreira JJ, Lees A, Stocchi F, Poewe W, Tolosa E, Rascol O.

Opicapone for the treatment of Parkinson's disease: A review of a new licensed medicine.

Mov Disord. 2018 Oct;33(10):1528-1539.

Eur J Phys Rehabil Med. 2018 Oct 10. [Epub ahead of print]

Comparison of three scales to evaluate personality traits in Parkinson's disease: which one to use?

Gison A, Bonassi S, Rizza F, Giaquinto S.

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. 2018 Sep;30(9):1137-1142.

Stocchi F, Vacca L, Stirpe P, Torti M.

Pharmacokinetic drug evaluation of CVT-301 for the treatment of Parkinson's disease.

Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2018 Dec;14(12):1189-1195.

Stocchi F, Coletti C, Bonassi S, Radicati FG, Vacca L.

Early-morning OFF and levodopa dose failures in patients with Parkinson's disease attending a routine clinical appointment using Time-to-ON Questionnaire.

Eur J Neurol. 2018 Dec 26. [Epub ahead of print]

Babiloni C, Del Percio C, Pascarelli MT, Lizio R, Noce G, Lopez S, Rizzo M, Ferri R, Soricelli A, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Salvetti M, Cipollini V, Franciotti R, Onofri M, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Aarsland D, Parnetti L, Farotti L, Marizzoni M, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Yener G, Emek-Savaş DD, Triggiani AI, Taylor JP, McKeith I, Stocchi F, Vacca L, Hampel H, Frisoni GB, De Pandis MF, Bonanni L.

Abnormalities of functional cortical source connectivity of resting-state electroencephalographic alpha rhythms are similar in patients with mild cognitive impairment due to Alzheimer's and Lewy body diseases.

Neurobiol Aging. 2019 Jan 24;77: 112-127.

Tassorelli C, Grazzi L, De Tommaso M, Pierangeli G, Martelletti P, Rainero I, Geppetti P, Ambrosini A, Sarchielli P, Liebler E, Barbanti P.

Randomized Controlled Study of Non-invasive Vagus Nerve Stimulation (nVNS) for the Acute Treatment of Migraine: The PRESTO Trial (S43.005)

Neurology, April 10, 2018; 90 (15 Supplement) APRIL 26, 2018

Covelli V, Guastafierro E, Raggi A, Grazzi L, Leonardi M, Scaratti C, Bartolini M, Viticchi G, Cevoli S, Pierangeli G, Tedeschi G, Russo A, Barbanti P, Aurilia C, Lovati C, Giani L, Frediani F, Di Fiore P, Bono F, Rapisarda L, D'Amico D.

The evaluation of difficulties with work-related activities caused by migraine: towards a specific questionnaire.

Neurol Sci. 2018 Jun;39(Suppl 1):131-133.

Tassorelli C, Grazzi L, de Tommaso M, Pierangeli G, Martelletti P, Rainero I, Dorlas S, Geppetti P, Ambrosini A, Sarchielli P, Liebler E, Barbanti P; PRESTO Study Group.

Noninvasive vagus nerve stimulation as acute therapy for migraine: The randomized PRESTO study.

Neurology. 2018 Jul 24;91(4):e364-e373. doi: 10.1212/WNL.0000000000005857. Epub 2018 Jun 15.

J Headache Pain. 2018 Sep 10;19(1):85. doi: 10.1186/s10194-018-0914-7.

Validation of a self-reported instrument to assess work-related difficulties in patients with migraine: the HEADWORK questionnaire.

Raggi A, Covelli V, Guastafierro E, Leonardi M, Scaratti C, Grazzi L, Bartolini M, Viticchi G, Cevoli S, Pierangeli G, Tedeschi G, Russo A, Barbanti P, Aurilia C, Lovati C, Giani L, Frediani F, Di Fiore P, Bono F, Rapisarda L, D'Amico D.

J Headache Pain. 2018 Oct 19;19(1):98.

Practical and clinical utility of non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS) for the acute treatment of migraine: a post hoc analysis of the randomized, sham-controlled, double-blind PRESTO trial.

Grazzi L, Tassorelli C, de Tommaso M, Pierangeli G, Martelletti P, Rainero I, Geppetti P, Ambrosini A, Sarchielli P, Liebler E, Barbanti P; PRESTO Study Group.

Martelletti P, Barbanti P, Grazzi L, Pierangeli G, Rainero I, Geppetti P, Ambrosini A, Sarchielli P, Tassorelli C, Liebler E, de Tommaso M; PRESTO Study Group.

Consistent effects of non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS) for the acute treatment of migraine: additional findings from the randomized, sham-controlled, double-blind PRESTO trial.

J Headache Pain. 2018 Nov 1;19(1):101.

Barbanti P, Grazzi L, Egeo G.

Pharmacotherapy for acute migraines in children and adolescents.

Expert Opin Pharmacother. Epub 2018 Dec 7.

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. 2018 Jan;41(1):3-19.

Infante M, Sears B, Rizzo AM, Mariani Cerati D, Caprio M, Ricordi C, Fabbri A.

Omega-3 PUFAs and vitamin D co-supplementation as a safe-effective therapeutic approach for core symptoms of autism spectrum disorder: case report and literature review.

Nutr Neurosci. 2018 Dec 13:1-12.[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. 2018 Jan;74(1):119-129.

Coats AJS.

Cardiac Cachexia - A Window to the Wasting Disorders
Cardiac cachexia: perspectives for prevention and treatment
Skeletal muscle aging: influence of oxidative stress and physical exercise
Cancer-induced muscle wasting: latest findings in prevention and treatment
Cancer-induced cardiac cachexia: pathogenesis and impact of physical activity (Review)
Muscle wasting and cachexia in heart failure: mechanisms and therapies
Effects of growth hormone on cardiac remodeling and soleus muscle in rats with aortic stenosis-induced heart failure.

Arq Bras Cardiol. 2018 Jan;110(1):102-103.

Yeoh EK, Wong MCS, Wong ELY, Yam C, Poon CM, Chung RY, Chong M, Fang Y, Wang HHX, Liang M, Cheung WWL, Chan CH, Zee B, Coats AJ.

Benefits and limitations of implementing Chronic Care Model (CCM) in primary care programs: A systematic review.

Int J Cardiol. 2018 May 1;258: 279-288.

Anker SD, von Haehling S, Coats AJS.

More variety with the Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle: JCSM Clinical Reports and JCSM Rapid Communications have both gone live.

J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2018 Apr;9(2):217-219.

Doehner W, Ural D, Haesusler KG, Čelutkienė J, Bestetti R, Cavusoglu Y, Peña-Duque MA, Glavas D, Iacoviello M, Laufs U, Alvear RM, Mbakwem A, Piepoli MF, Rosen SD, Tsigvoulis 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. 2018 Feb;20(2):199-215.

Barbanti P, Egeo G.

Predictors of response to onabotulinumtoxin A in chronic migraine.

Eur J Neurol. 2018 Mar;25(3):e40.

Vera Regitz-Zagrosek (Chairperson) (Germany), Jolien W. Roos-Hesselink (Co-Chairperson) (The Netherlands), Johann Bauersachs (Germany), Carina Blomström-Lundqvist (Sweden), Renata Cifkova (Czech Republic), Michele De Bonis (Italy), Bernard Jung (France), Mark Richard Johnson (UK), Ulrich Kintscher (Germany), Peter Krankel (Germany), Irene Marthe Lang (Austria), Joao Morais (Portugal), Petronella G. Pieper (The Netherlands), Patrizia Presbitero (Italy), Susanna Price (UK), Giuseppe M. C. Rosano (UK/Italy), Ute Seeland (Germany), Tommaso Simoncini² (Italy), Lorna Swan (UK), Carole A. Warnes (USA)

2018 ESC Guidelines for the management of cardiovascular diseases during pregnancy

European Heart Journal (2018) 00, 1–83

Botto F, Obregon S, Rubinstein F, Scuteri A, Nilsson PM, Kotliar C.

Frequency of early vascular aging and associated risk factors among an adult population in Latin America: the OPTIMO study.

J Hum Hypertens. 2018 Mar;32(3):219-227.

Gorini S, De Angelis A, Berrino L, Malara N, Rosano G, Ferraro E.

Chemotherapeutic drugs and mitochondrial dysfunction: focus on Doxorubicin, Trastuzumab, and Sunitinib.

Oxid Med Cell Longev. 2018 Mar 18;2018:7582730. eCollection 2018.

Liguori I, Curcio F, Russo G, Cellurale M, Aran L, Bulli G, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P.

Risk of malnutrition evaluated by Mini Nutritional Assessment and sarcopenia in noninstitutionalized elderly people.

Nutr Clin Pract. 2018 Dec;33(6):879-886.

Liguori I, Russo G, Curcio F, Sasso G, Della-Morte D, Gargiulo G, Pirozzi F, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P, Testa G.

Depression and chronic heart failure in the elderly: an intriguing relationship.

J Geriatr Cardiol. 2018 Jun;15(6):451-459.

Lund LH, Claggett B, Liu J, Lam CS, Jhund PS, Rosano GM, Swedberg K, Yusuf S, Granger CB, Pfeffer MA, McMurray JJV, Solomon SD.

Heart failure with mid-range ejection fraction in CHARM: characteristics, outcomes and effect of candesartan across the entire ejection fraction spectrum.

Eur J Heart Fail. 2018 Aug;20(8):1230-1239. doi: 10.1002/ejhf.1149. Epub 2018 Feb 12.

Eur J Clin Pharmacol. 2018 May;74(5):637-643.

NSAIDs utilization for musculoskeletal indications in elderly patients with cerebro/cardiovascular disease.

Roberto G, Bartolini C, Rea F, Onder G, Vitale C, Trifirò G, Kirchmayer U, Chinellato A, Lucenteforte E, Corrao G, Mugelli A, Lapi F, Gini R; Italian Group for Appropriate Drug prescription in the Elderly (I-GrADE).

Savarese G, Orsini N, Hage C, Vedin O, Cosentino F, Rosano GMC, Dahlström U, Lund L.

Utilizing NT-proBNP for Eligibility and Enrichment in Trials in HFpEF, HFmrEF, and HFrEF.

JACC Heart Fail. 2018 Mar;6(3):246-256.

Seferović PM, Petrie MC, Filippatos GS, Anker SD, Rosano G, Bauersachs J, Paulus WJ, Komajda M, Cosentino F, de Boer RA, Farmakis D, Doehner W, Lambrinou E, Lopatin Y, Piepoli MF, Theodorakis MJ, Wiggers H, Lekakis J, Mebazaa A, Mamas MA, Tschöpe C, Hoes AW, Seferović JP, Logue J, McDonagh T, Riley JP, Milinković I, Polovina M, van Veldhuisen DJ, Lainscak M, Maggioni AP, Ruschitzka F, McMurray JJV.

Type 2 diabetes mellitus and heart failure: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2018 May;20(5):853-872.

Savarese G, Orsini N, Hage C, Dahlström U, Vedin O, Rosano GMC, Lund LH.

Associations with and prognostic and discriminatory role of N-Terminal pro-B-Type f.

J Card Fail. 2018 Jun;24(6):365-374.

Severino P, D'Amato A, Netti L, Pucci M, De Marchis M, Palmirotta R, Volterrani M, Mancone M, Fedele F.

Diabetes Mellitus and ischemic heart disease: the role of Ion channels.

Int J Mol Sci. 2018 Mar 10;19(3).

Bossone E, Arcopinto M, Iacoviello M, Triggiani V, Cacciatore F, Maiello C, Limongelli G, Masarone D, Perticone F, Sciacqua A, Perrone-Filardi P, Mancini A, Volterrani M, Vriz O, Castello R, Passantino A, Campo M, Modesti PA, De Giorgi A, Monte I, Puzzo A, Ballotta A, Caliendo L, D'Assante R, Marra AM, Salzano A, Suzuki T, Cittadini A; TOSCA Investigators.

Multiple hormonal and metabolic deficiency syndrome in chronic heart failure: rationale, design, and demographic characteristics of the T.O.S.C.A. Registry.

Intern Emerg Med. 2018 Aug;13(5):661-671.

Savarese G, Carrero JJ, Pitt B, Anker SD, Rosano GMC, Dahlström U, Lund LH.

Factors associated with underuse of mineralocorticoid receptor antagonists in heart failure with reduced ejection fraction: an analysis of 11 215 patients from the Swedish Heart Failure Registry.

Eur J Heart Fail. 2018 Sep;20(9):1326-1334.

Biffi A, Scotti L, Rea F, Lucenteforte E, Chinellato A, Vetrano DL, Vitale C, Agabiti N, Sultana J, Roberto G, Mugelli A, Corrao G; Italian Group for Appropriate Drug prescription in the Elderly (I-GrADE).

Adherence to Antidepressants and Mortality in Elderly Patients with Cardiovascular Disease.

Clin Drug Investig. 2018 Jul;38(7):593-602.

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

Polypill, hypertension and medication adherence: The solution strategy?

Int J Cardiol. 2018 Feb 1;252:181-186.

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. 2018 Mar;20(3):548-556.

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, Hjalmarsen Å, Wikstrand J, Kotecha D; Beta-blockers in Heart Failure Collaborative Group.

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. 2018 Jan 1; 39(1):26-35.

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. 2018 Jan 1;47(1):82-88.

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. 2018 Feb;15(2):120-132.

Savarese G¹, Orsini N², Hage C³, Dahlström U⁴, Vedin O⁵, Rosano GMC⁶, Lund LH⁷.

Associations with and prognostic and discriminatory role of N-Terminal pro-B-Type natriuretic peptide in heart failure with preserved versus mid-range versus reduced ejection fraction.

J Card Fail. 2018 Jun;24(6):365-374.

Rosano GMC, Tamargo J, Kjeldsen KP, Lainscak M, Agewall S, Anker SD, Ceconi C, Coats AJS, Drexel H, Filippatos G, Kaski JC¹, Lund L, Niessner A, Ponikowski P, Savarese G, Schmidt TA, Seferovic P, Wassmann S, Walther T, Lewis BS.

Expert consensus document on the management of hyperkalaemia in patients with cardiovascular disease treated with RAAS-inhibitors - Coordinated by the Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy of the European Society of Cardiology.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2018 Jul 1;4(3):180-188.

Coats AJ, Rosano G.

Foreword.

Card Fail Rev. 2019 Feb;5(1):4.

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

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

Curr Drug Targets. 2018;19(6):585-592.

Vitale C, Ilaria S, Rosano GM.

Pharmacological interventions effective in improving exercise capacity in heart failure.

Card Fail Rev. 2018 May;4(1):25-27.

Canepa M, Fonseca C, Chioncel O, Laroche C, Crespo-Leiro MG, Coats AJS, Mebazaa A, Piepoli MF, Tavazzi L, Maggioni AP; ESC HF Long Term Registry Investigators.Collaborators (641)

Performance of prognostic risk scores in chronic heart failure patients enrolled in the European Society of Cardiology Heart Failure Long-Term Registry.

JACC Heart Fail. 2018 Jun;6(6):452-462.

Marazzi G, Campolongo G, Pelliccia F, Quattrino S, Cacciotti L, Miano M, Volterrani M, Calabrò P, Rosano G.

Bisopropol better than atenolol as add on therapy to ACE inhibitors in blood pressure control

Journal of Hypertension: June 2018 - Volume 36 - Issue - p e43

Anker MS, von Haehling S, Landmesser U, Coats AJS, Anker SD.

Cancer and heart failure-more than meets the eye: common risk factors and co-morbidities.

Eur J Heart Fail. 2018 Oct;20(10):1382-1384.

Volterrani M, Iellamo F, Alberto C, Pasquale A, Salvatore P, Massimo P, Marco M, Lucia U, Cesare P, Bruno R, Enrico P; SICOA (Società Italiana Cardiologia Ospedalità Accreditata) Investigators.

NOAC in "real world" patients with atrial fibrillation in Italy: results from the ISPAF-2 (Indagine Sicoa Paziente Con Fibrillazione Atriale) survey study.

Intern Emerg Med. 2018 Oct;13(7):1069-1075.

Banach M1, Patti AM2, Giglio RV2, Cicero AFG3, Atanasov AG4, Bajraktari G5, Bruckert E6, Descamps O7, Djuric DM8, Ezhov M9, Fras Z10, von Haehling S11, Katsiki N12, Langlois M13, Latkovskis G14, Mancini GBJ15, Mikhailidis DP16, Mitchenko O17, Moriarty PM18, Muntner P19, Nikolic D2, Panagiotakos DB20, Paragh G21, Paulweber B22, Pella D23, Pitsavos C24, Reiner Ž25, Rosano GMC26, Rosenson RS27, Rysz J28, Sahebkar A29, Serban MC30, Vinereanu D31, Vrablik M32, Watts GF33, Wong ND34, Rizzo M2; International Lipid Expert Panel (ILEP).

The role of nutraceuticals in statin intolerant patients.

J Am Coll Cardiol. 2018 Jul 3;72(1):96-118.

Anker MS, Coats AJS, Anker SD.

The importance of registries in today's heart failure therapies.

Kardiol Pol. 2018;76(7):1029-1030.

Rosano GMC, Seferovic P.

2017 ESC guidelines focus on dual antiplatelet therapy.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother.2018 Jul 1;4(3):131-132.

Di Mario C, Mugelli A, Perrone Filardi P, Rosano G, Rossi F.

Long-term dual antiplatelet therapy: pharmacological and clinical implications.

J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2018 Aug;19(8):399-410.

Nilsson PM, Laurent S, Cunha PG, Olsen MH, Rietzschel E, Franco OH, Rylisškytė L, Strazhesko I, Vlachopoulos C, Chen CH, Boutouyrie P, Cucca F, Lakatta EG, Scuteri A; Metabolic syndrome, Arteries REsearch (MARE) Consortium.

Characteristics of healthy vascular ageing in pooled population-based cohort studies: the global Metabolic syndrome and Artery REsearch Consortium.

J Hypertens. 2018 Dec;36(12):2340-2349.

Vonbank A, Drexel H, Agewall S, Lewis BS, Dopheide JF, Kjeldsen K, Ceconi C, Savarese G, Rosano G, Wassmann S, Niessner A, Schmidt TA, Saely CH, Baumgartner I, Tamargo JI.

Reasons for disparity in statin adherence rates between clinical trials and real-world observations: a review.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2018 Oct 1;4(4):230-236.

Arcari L, Limite LR, Cacciotti L, Sclafani M, Russo D, Passaseo I, Marazzi G, Ansalone G, Volpe M, Autore C, Musumeci MB.

Admission heart rate and in-hospital course of patients with Takotsubo syndrome.

Int J Cardiol. 2018 Dec 15;273:15-21.

Regitz-Zagrosek V, Roos-Hesselink JW, Bauersachs J, Blomström-Lundqvist C, Cífková R, De Bonis M, Iung B, Johnson MR, Kintscher U, Kranke P, Lang IM, Morais J, Pieper PG, Presbitero P, Price S, Rosano GMC, Seeland U, Simoncini T, Swan L, Warnes CA; ESC Scientific Document Group

2018 ESC Guidelines for the management of cardiovascular diseases during pregnancy.

Eur Heart J. 2018 Sep 7;39(34):3165-3241.

Ferrari R, Pavasini R, Camici PG, Crea F, Danchin N, Pinto F, Manolis A, Marzilli M, Rosano GMC, Lopez-Sendon J, Fox K.

Anti-anginal drugs-beliefs and evidence: systematic review covering 50 years of medical treatment.

Eur Heart J. 2019 Jan 7;40(2):190-194.

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

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

Eur J Heart Fail. 2018 Jan;20(1):149-151.

Vitale C, Spoletini I, Rosano GM.

Frailty in Heart Failure: Implications for Management.

Card Fail Rev. 2018 Aug;4(2):104-106.

Rosano GM, Vitale C.

Metabolic Modulation of Cardiac Metabolism in Heart Failure.

Card Fail Rev. 2018 Aug;4(2):99-103.

Caminiti G, Massaro R, Fossati C, Gatta L, Selli S, Sposato B, Volterrani M.

Glyco-metabolic Effects of Ranolazine: A truly Multifaceted Drug?

Journal of Cardiol Ther 2018 September; 5(1): 742-746.

Vitale C, Fini M, Rosano GM.

Trimetazidine in the frail patient

Heart Metab.(2018) 76:23-26.

Maack C, Lehrke M, Backs J, Heinzl FR, Hulot JS, Marx N, Paulus WJ, Rossignol P, Taegtmeyer H, Bauersachs J, Bayes-Genis A, Brutsaert D, Bugger H, Clarke K, Cosentino F, De Keulenaer G, Dei Cas A, González A, Huelsmann M, Iaccarino G, Lunde IG, Lyon AR, Pollesello P, Rena G, Riksen NP, Rosano G, Staels B, van Laake LW, Wanner C, Farmakis D, Filippatos G, Ruschitzka F, Seferovic P, de Boer RA, Heymans S.

Heart failure and diabetes: metabolic alterations and therapeutic interventions: a state-of-the-art review from the Translational Research Committee of the Heart Failure Association-European Society of Cardiology.

Eur Heart J. 2018 Dec 21;39(48):4243-4254.

Pelliccia F, Moretti A, Marazzi G, Gaudio C.

Dying from takotsubo syndrome at a young age: the crucial role of brain-heart interactions.

Postepy Kardiol Interwencyjnej. 2018;14(3):221-224.

Eur Heart J. 2018 Dec 21;39(48):4277-4284. doi: 10.1093/eurheartj/ehy626.

Prognostic implications of atrial fibrillation in heart failure with reduced, mid-range, and preserved ejection fraction: a report from 14 964 patients in the European Society of Cardiology Heart Failure Long-Term Registry.

Zafir B1, Lund LH2,3, Laroche C4, Ruschitzka F5, Crespo-Leiro MG6, Coats AJS7, Anker SD8,9, Filippatos G10, Seferovic PM11, Maggioni AP4,12, De Mora Martin M13, Polonski L14, Silva-Cardoso J15, Amir O16,17; ESC-HFA HF Long-Term Registry Investigators.

Marazzi G, Campolongo G, Pelliccia F, Calabrò Md P, Cacciotti L, Vitale C, Massaro R, Volterrani M, Rosano G.

Usefulness of Low-Dose Statin Plus Ezetimibe and/or Nutraceuticals in Patients With Coronary Artery Disease Intolerant to High-Dose Statin Treatment.

Am J Cardiol. Epub 2018 Oct 19.

Čelutkienė J, Plymen CM, Flachskampf FA, de Boer RA, Grapsa J, Manka R, Anderson L, Garbi M, Barberis V, Filardi PP, Gargiulo P, Zamorano JL, Lainscak M, Seferovic P, Ruschitzka F, Rosano GMC, Nihoyannopoulos P.

Innovative imaging methods in heart failure: a shifting paradigm in cardiac assessment. Position statement on behalf of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2018 Dec;20(12):1615-1633. doi: 10.1002/ejhf.1330. Epub 2018 Nov 9.

RosanoGMC, Vitale C.

Diabetes and heart failure

Dialogues in Cardiovascular Medicine, January 2018, 23(2):60-62.

Arcari L, Limite LR, Cacciotti L, Sclafani M, Russo D, Passaseo I, Marazzi G, Ansalone G, Volpe M, Autore C, Musumeci MB.

Response to letter from Madias regarding our article "Admission heart rate and in-hospital course of patients with Takotsubo syndrome".

Int J Cardiol. 2019 Jan 1;274:64.

◇

Adamopoulos S, Corrà U, Laoutaris ID, Pistono M, Agostoni PG, Coats AJS, Crespo Leiro MG, Cornelis J, Davos CH, Filippatos G, Lund LH, Jaarsma T0, Ruschitzka F, Seferovic PM, Schmid JP, Volterrani M, Piepoli MF.

Exercise training in patients with ventricular assist devices: a review of the evidence and practical advice. A position paper from the Committee on Exercise Physiology and Training and the Committee of Advanced Heart Failure of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2019 Jan;21(1):3-13.

Derosa G, Maffioli P, Scelsi L, Bestetti A, Vanasia M, Cicero AFG, Spinardi L, Bentivenga C, Esposti DD5, Caprio M, Borghi C, Pitt B, Cosentino E.

Canrenone on cardiovascular mortality in congestive heart failure CanrenOne eFFects on cardiovascular mortality in patiEnts with congEstIve hearT failure: The COFFEE-IT study.
Pharmacol Res. Epub 2018 Nov 28.

Iellamo F, Volterrani M, Di Gianfrancesco A, Fossati C, Casasco M.

The effect of exercise training on autonomic cardiovascular regulation: from cardiac patients to athletes.

Curr Sports Med Rep. 2018 Dec;17(12):473-479.

Pavasini R, Camici PG, Crea F, Danchin N, Fox K, Manolis AJ, Marzilli M, Rosano GMC, Lopez-Sendon JL, Pinto F, Balla C, Ferrari R.

Anti-anginal drugs: systematic review and clinical implications.

Int J Cardiol. 2018 Dec 4. [Epub ahead of print]

Lena A, Coats AJS, Anker MS.

Metabolic disorders in heart failure and cancer.

ESC Heart Fail. 2018 Dec;5(6):1092-1098.

Pelliccia F, Pasceri V, Patti G, Marazzi G, De Luca G, Tanzilli G, Viceconte N, Speciale G, Mangieri E, Gaudio C.

Uric acid and contrast-induced nephropathy: an updated review and meta-regression analysis.

Postepy Kardiol Interwencyjne. 2018;14(4):399-412.

Peluso I, Raguzzini A, Catasta G, Cammisotto V, Perrone A, Tomino C, Toti E, Serafini M.

Effects of high consumption of vegetables on clinical, immunological, and antioxidant markers in subjects at risk of cardiovascular diseases.

Oxid Med Cell Longev. 2018 Oct 8;2018:5417165.

Borg JJ, Melchiorri D, Sepodes B, Caramella CM, Tomino C, Micallef B, Serracino-Inglott A, Nistico R.

Optimising bench science to withstand regulatory scrutiny.

Pharmacol Res. Epub 2018 Oct 12.

Galli M1, Cimolin V2, Stella G3, De Pandis MF4, Ancillao A5, Condoluci C6.

Quantitative assessment of drawing tests in children with dyslexia and dysgraphia.

Hum Mov Sci. 2018 May 7. [Epub ahead of print]

Galli M1, Cimolin V, Stella G, De Pandis MF, Ancillao A5, Condoluci C.

Quantitative assessment of drawing tests in children with dyslexia and dysgraphia.

Hum Mov Sci. 2018 May 7. pii: S0167-9457(18)30017-4.

Pilloni G, Pau M, Costici F, Condoluci C, Galli M.

Use of 3D gait analysis as predictor of achilles tendon lengthening surgery outcomes in children with cerebral palsy.

Eur J Phys Rehabil Med. 2018 Aug 27. [Epub ahead of print]

Romano A, Moraschi M, Cornia R, Bozzao A, Rossi-Espagnet MC, Giove F, Albertini G, Pierallini A.

White matter involvement in young non-demented Down's syndrome subjects: a tract-based spatial statistic analysis.

Neuroradiology. 2018 Dec;60(12):1335-1341.

Cimolin V, Germiniasi C, Galli M, Condoluci C, Beretta E, Piccinini L.

Robot-Assisted Upper Limb Training for Hemiplegic Children with Cerebral Palsy

J. Dev. Phys. Disabil, in press

Pau M, Condoluci C, Zago M, Galli M.

Men and women with Down syndrome exhibit different kinematic (but not spatio-temporal) gait patterns.

J Intellect Disabil Res. Epub 2018 Oct 29.

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

A proposal for a kinetic summary measure: the Gait Kinetic Index.

Comput Methods Biomech Biomed Engin. 2018 Nov 16:1-6.

Ferro A, Morais S, Rota M, Pelucchi C, Bertuccio P, Bonzi R, Galeone C, Zhang ZF, Matsuo K, Ito H, Hu J, Johnson KC, Yu GP, Palli D, Ferraroni M, Muscat J, Malekzadeh R, Ye W, Song H, Zaridze D, Maximovitch D, Aragonés N, Castaño-Vinyals G, Vioque J, Navarrete-Muñoz EM, Pakseresht M, Pourfarzi F, Wolk A, Orsini N, Bellavia A, Håkansson N, Mu L, Pastorino R, Kurtz RC, Derakhshan MH, Lagiou A, Lagiou P, Boffetta P, Boccia S, Negri E, La Vecchia C, Peleteiro B, Lunet N.

Tobacco smoking and gastric cancer: meta-analyses of published data versus pooled analyses of individual participant data (StoP Project).

Eur J Cancer Prev. 2018 May;27(3):197-204.

Corponi F, Bonassi S, Vieta E, Albani D, Frustaci A, Ducci G, Landi S, Boccia S, Serretti A, Fabbri C.

Genetic basis of psychopathological dimensions shared between schizophrenia and bipolar disorder.

Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2019 Mar 8;89:23-29.

Valdiglesias V, Marcos-Pérez D, Lorenzi M, Onder G, Gostner JM, Strasser B, Fuchs D, Bonassi S.

Immunological alterations in frail older adults: a cross sectional study.

Exp Gerontol. 2018 Oct 2;112:119-126.

Rea F, Calusi G, Franchi M, Vetrano DL, Roberto G, Bonassi S, Kirchmayer U, Chinellato A, Bettiol A, Sultana J, Mugelli A, Corrao G; I-GrADE Investigators.

Adherence of elderly patients with cardiovascular disease to statins and the risk of exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: evidence from an Italian real-world investigation.

Drugs Aging. 2018 Dec;35(12):1099-1108.

di Biase L, Summa S, Tosi J, Taffoni F, Marano M, Cascio Rizzo A, Vecchio F, Formica D, Di Lazzaro V, Di Pino G, Tombini M.

Quantitative Analysis of Bradykinesia and Rigidity in Parkinson's Disease.

Front Neurol. 2018 Mar 6;9:121. eCollection 2018.

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

Transcranial direct current stimulation generates a transient increase of small-world in brain connectivity: an EEG graph theoretical analysis.

Exp Brain Res. 2018 Apr;236(4):1117-1127.

Granata G, Di Iorio R, Romanello R, Iodice F, Raspopovic S, Petrini F, Strauss I, Valle G, Stieglitz T, Čvančara P, Andreu D, Divoux JL, Guiraud D, Wauters L, Haiarrassary A, Jensen W, Micera S, Rossini PM.

Phantom somatosensory evoked potentials following selective intraneural electrical stimulation in two amputees.

ClinNeurophysiol. 2018 Jun;129(6):1117-1120.

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.

Granata G, Rossini PM

T156. Restoration of somatosensory feedback and bidirectional real-time control of a prosthetic hand using peripheral nervous system signals

Clinical Neurophysiology, Volume 129, Supplement 1, May 2018, Page e62

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

T155. Brain reactions following the use of robotic hand prosthesis in human amputees

Clinical Neurophysiology, Volume 129, Supplement 1, May 2018, Page e62

Vecchio F, Miraglia F, Rossini PM.

Tracking Neuronal Connectivity from Electric Brain Signals to Predict Performance.

Neuroscientist.Epub 2018 May 20.

Vecchio F, Miraglia F, Iberite F, Lacidogna G, Guglielmi V, Marra C, Pasqualetti P, Tiziano FD, Rossini PM.

Sustainable method for Alzheimer dementia prediction in mild cognitive impairment: electroencephalographic connectivity and graph theory combined with apolipoprotein E.

AnnNeurol. 2018 Aug;84(2):302-314.

Miraglia F, Vecchio F, Rossini PM.

Brain electroencephalographic segregation as a biomarker of learning.

Neural Netw. 2018 Oct;106:168-174.

Rognini G, Petrini FM, Raspopovic S, Valle G, Granata G, Strauss I, Solcà M, Bello-Ruiz J, Herbelin B, Mange R, D'Anna E, Di Iorio R, Di Pino G, Andreu D, Guiraud D, Stieglitz T, Rossini PM, Serino A, Micera S, Blanke O.

Multisensory bionic limb to achieve prosthesis embodiment and reduce distorted phantom limb perceptions.

J NeurolNeurosurg Psychiatry.2018 Aug 12. [Epub ahead of print]

Vecchio F, Miraglia F, Quaranta D, Lacidogna G, Marra C, Rossini PM.

Learning processes and brain connectivity in acognitive-motor task in neurodegeneration: evidence from EEG network analysis.

J Alzheimers Dis. 2018;66(2):471-481.

Alù F, Vecchio F, Miraglia F, GorgoniM, FerraraM, De GennaroL, RossiniPM.

Connectivity modulation during sleep onset, reduction of movement: study via graph theory application to EEG data.

Clinical Neurophysiology, Volume 130, Issue 1, January 2019, Page e5

Caggianese G, Cuomo, S, Esposito M, Franceschini M, Gallo L, Infarinato F, Minutolo A, Piccialli F, Romano P.

Serious games and in-cloud data analytics for the virtualization and personalization of rehabilitation treatments

IEEE Transactions on Industrial Informatics, July 2018

Bragazzi NL, Aparo von Flüe A, Aparo UL.

Systems medicine and complexity: rethinking health management and hospital modelling.

RecentiProg Med. 2018 Sep;109(9):417-420.

Rosano GMC.

Clinical benefits of trimetazidine in heart failure.

Heart and Metabolism 2017;74:24-28.

Rosano GMC, Tamargo J, Kjeldsen KP, Lainscak M, Agewall S, Anker SD, Ceconi C, Coats AJS, Drexel H, Filippatos G, Kaski JC, Lund L, Niessner A, Savarese G, Schmidt TA, Seferovic P, Wassmann S, Walther T, Lewis BS.

Expert consensus document on the management of hyperkalaemia in patients with cardiovascular disease treated with RAAS-inhibitors - Coordinated by the Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy of the European Society of Cardiology.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother 2018 Epub ahead of print 10.1093/ehjcvp/pvy015.

Coats AJ, Rosano G.

Foreword.

Cardiac failure review 2018; 4 (1):4-5.

Vitale C, Spoletini I, Rosano GM.

Pharmacological interventions effective in improving exercise capacity in Heart Failure.

Cardiac failure review 2018;4(1): 25-27.

Rosano GMC, Seferovic P.

2017 ESC guidelines focus on dual antiplatelet therapy.

European Heart Journal - Cardiovascular Pharmacotherapy 2018;4(3):131-132.

Vonbank A, Drexel H, Agewall S, Lewis BS, Dopheide JF, Kjeldsen K, Ceconi C, Savarese G, Rosano G, Wassmann S, Niessner A, Andersen Schmidt T, Saely CH, Baumgartner I, Tamargo J.
Reasons for Disparity in Statin Adherence Rates between Clinical Trials and Real World Observations. A Review European Heart Journal

Cardiovascular Pharmacotherapy 2018 Epub ahead of print Aug10.1093

Vitale C, Spoletini I, Rosano GM.

Frailty in Heart Failure: Implications for Management

Cardiac failure review 2018;4(2): 104–106.

Rosano GM, Vitale C

Metabolic Modulation of Cardiac Metabolism in Heart Failure.

Cardiac failure review 2018;4(2):99-103.

Vitale C, Fini M, Rosano, G.M.C.

Trimetazidine in the frail patient.

Heart and Metabolism 2018Jan; 76:23-26.

Rosano GMC, Vitale C.

Diabetes and heart failure.

Dialogues in Cardiovascular Medicine 2018;23(2):60-62.

Vitale C, Spoletini I, Rosano GM.

Pharmacological Interventions Effective in Improving Exercise Capacity in Heart Failure.

Cardiac failure review 2018;4(1):25-27.

Vitale C, Spoletini I, Rosano GM

Frailty in Heart Failure: Implications for Management
Cardiac failure review 2018; 4(2):104–106.

Rosano GM, Vitale C

Metabolic Modulation of Cardiac Metabolism in Heart Failure.
Cardiac failure review 2018; 4(2): 99-103.

PARTECIPAZIONI A CONGRESSI NAZIONALI ED INTERNAZIONALI

- Franceschini M. Chairman “*Clinical Sciences & Research Committee*”, 12th International Society of Physical and Rehabilitation Medicine (ISPRM); Parigi Luglio 2018
- Gasperini G, Gaffuri M, Guanziroli E, Goffredo M, Pournajaf S, Galafate D, Russo E. & Molteni F. Poster: “*Recovery of gait function with a wearable powered exoskeleton in sub-acute stroke patients using SEMG for fine tuning: Preliminary results*”. 12th International Society of Physical and Rehabilitation Medicine (ISPRM); Parigi Luglio 2018
- Franceschini M. Invited speaker: “*Robotics and Gait Rehabilitation in Stroke Patients*”, 21th European Society of Physical and Rehabilitation Medicine (ESPRM) Congress, Vilnius, Maggio 2018
- Franceschini M, Pournajaf S. “*Robotic session - Exoskeleton-assisted gait training in stroke patients: feasibility and effectiveness*”, 21th European Society of Physical and Rehabilitation Medicine (ESPRM) Congress, Vilnius, Maggio 2018
- Franceschini M, Goffredo M, Pournajaf S, Romano P, Galafate D, Infarinato F. Labs Session “*PRM with robotic systems: research at IRCCS San Raffaele Pisana Rome*”, 21th European Society of Physical and Rehabilitation Medicine (ESPRM) Congress, Vilnius, Maggio 2018
- Franceschini M. Invited speaker “*Esoscheletri indossabili nella riabilitazione dello stroke*”, 46° Congresso Nazionale Società Italiana Nazionale di Medicina Fisica e Riabilitativa (SIMFER), Settembre 2018
- Franceschini M, Sasso D’Elia T, Goffredo M, Pournajaf S, Filoni S, Befani S, Guanziroli E, Santilli V, Damiani C. “*La riabilitazione del cammino con esoscheletro indossabile EKSO nei pazienti con ictus: studio osservazionale sulla tollerabilità e l’efficacia*”, 46° Congresso Nazionale Società Italiana Nazionale di Medicina Fisica e Riabilitativa (SIMFER), Settembre 2018
- Damiani C, Agostini F, Pournajaf S, Goffredo M, Criscuolo S, Santilli V, Franceschini M. Poster: “*La riabilitazione in pazienti con protesi totale di ginocchio mediante l’utilizzo della realtà virtuale: Risultati preliminari*”, 46° Congresso Nazionale Società Italiana Nazionale di Medicina Fisica e Riabilitativa (SIMFER), Settembre 2018
- Iacovelli C, Franceschini M, Cruciani A, Simbolotti C, Goffredo M, Pecchioli M, Padua L, Galafate D, Pournajaf S, Aprile I. Poster: “*Efficacy of Robotic-Assisted Gait Training in sub-acute stroke patients: an italian bi-centre study*”, XIX Congresso Società Italiana di Analisi del Movimento in Clinica (SIAMOC), Firenze, Ottobre 2018
- Infarinato F, Romano P, Pournajaf S, Goffredo M, Caggianese G, Gallo L, Marchese N, Adinolfi Franceschini M. Poster: “*An usability evaluation of an advanced home-based telerehabilitation platform for stroke survivors*”, Sixth National Congress of Bioengineering, Milano, Giugno 2018
- Iacovelli C, Franceschini M, Cruciani A, Simbolotti C, Goffredo M, Pecchioli C, Padua L, Galafate D, Pournajaf S, Aprile I. Poster: “*Efficacia di un training robotico per la deambulazione in pazienti stroke in fase sub-acute: studio bicentrico italiano*”, Sixth National Congress of Bioengineering, Milano, Giugno 2018
- Goffredo M, Mazzoleni S, Gison A, Infarinato F, Pournajaf S, Galafate D, Posteraro F, Franceschini M. Poster: “*Kinematic monitoring of upper limb Robot-Assisted Therapy in sub-acute stroke patients*”, Sixth National Congress of Bioengineering, Milano, Giugno 2018
- Fofi L. “*Neurotrasmettitori: quali il Killer*”, IX Congresso Nazionale ANIRCEF, Milano, Giugno 2018
- Fofi L. “*The Italian Chronic Migraine (IRON) Registry: primo report di 28 Centri Cefalee*”, XLIX Congresso Società Italiana di Neurologia, Roma, Ottobre 2018
- Fofi L. “*The Italian Chronic Migraine (IRON) Registry: primo report di 28 Centri Cefalee*”, XII European Headache Federation (EH) Congress, Firenze, Settembre 2018
- Aurilia C. “*Percorso Diagnostico Terapeutico Assistenziale ambulatoriale*”, IX Congresso Nazionale ANIRCEF. Le cefalee alla svolta verso il futuro, Milano, Giugno 2018

- Aurilia C. “*Dopaminergic symptoms in migraine: a case series on 1148 patients*”, 12th European Headache Federation Congress, Firenze, Settembre 2018
- Aurilia C. “*Dopaminergic symptoms in migraine: a case series on 1148 patients*”, XLIX Congresso Società Italiana di Neurologia, Roma, Ottobre 2018
- Egeo G. “*Ketogenica. Seminario di formazione avanzata sulle Cefalee*”, XVI corso ASC, Roma, Novembre 2018
- Barbanti P. “*Emicrania e cefalea di tipo tensivo: entità distinte o continuum fenotipico*” Cefalea, Napoli, maggio 2018
- Barbanti P. “*La VLCKD nelle patologie neurologiche: focus su epilessia ed emicrania*”. KetogenicDiet Academy, Bologna, Aprile 2018
- Barbanti P. “*Cefalee croniche*”, Seminario di formazione avanzata sulle cefalee, Roma, Marzo 2018
- Barbanti P. “*Cefalee nell’anziano*”, Seminario di formazione avanzata sulle cefalee, Roma, Marzo 2018
- Barbanti P. “*La rivoluzione degli anticorpi monoclonali anti CGRP*”, VIII Congresso Nazionale SNO, Riccione, Maggio 2018
- Barbanti P. “*Emicrania e cefalea di tipo tensivo: entità distinte o continuum fenotipico*”, Cefalea, Napoli, Maggio 2018
- Barbanti P. “*Fisiopatologia della cronicizzazione*”, IX Congresso Nazionale ANIRCEF: Le Cefalee alla svolta verso il futuro, Milano, Maggio 2018
- Barbanti P. “*Nutraceutici e diete: cosa di nuovo?*”, IX Congresso Nazionale ANIRCEF: Le Cefalee alla svolta verso il futuro, Milano, maggio 2018
- Barbanti P. “*Biomarkers dell’emicrania*”, Sclerosi Multipla e Cefalee: i nuovi marcatori biologici e le prospettive terapeutiche a confronto, Ravenna, Settembre 2018
- Barbanti P. “*Gli anticorpi monoclonali: nuove prospettive terapeutiche per l’emicrania*”, Sclerosi Multipla e Cefalee: i nuovi marcatori biologici e le prospettive terapeutiche a confronto, Ravenna, Settembre 2018
- Barbanti P. “*Le bioterapie: bufala, speranza o rivoluzione*”, Cefalee Update, VI Edizione, Gallarate, Settembre 2018
- Barbanti P. “*Nutraceutica: bufala, speranza o rivoluzione*”, Cefalee Update, VI Edizione, Gallarate, Settembre 2018
- Barbanti P. “*Cefalee con sintomi autonomici locali*”, 32° Congresso Nazionale SISC, Firenze, Settembre 2018
- Barbanti P. “*Emicrania refrattaria alle terapie di profilassi*”, 32° Congresso Nazionale SISC, Firenze, Settembre 2018
- Barbanti P. “*L’importanza della terapia di precisione nell’attacco acuto di emicrania*”, XLIX Congresso Nazionale SIN, Roma, Ottobre 2018
- Barbanti P. “*Il nuovo paradigma di cura per la profilassi dell’emicrania*”, XLIX Congresso Nazionale SIN, Roma Roma, Ottobre 2018
- Barbanti P. “*Verso nuovi orizzonti nella gestione terapeutica dell’emicrania*”, XLIX Congresso Nazionale SIN, Roma Roma, Ottobre 2018
- Barbanti P. “*Anticorpi anti-CGRP: quali sviluppi e quali prospettive?*”, XLIX Congresso Nazionale SIN, Roma Roma, Ottobre 2018
- Barbanti P. “*Inquadramento clinico ed impatto dell’emicrania*”, Emicrania malattia di genere, Roma Ottobre 2018
- Barbanti P. “*Anti-CGRP/CGRP-R mAbs, the first migraine preventative treatment: from RCTs to the new guideline. What will the clinical practice add?*”, Workshop Teva, Milano, Novembre 2018
- Barbanti P. “*CGRP*”, Seminario di formazione avanzata sulle cefalee, Roma, Novembre 2018
- Barbanti P. “*Cefalee in pronto soccorso: dal prima al dopo*”, Seminario di formazione avanzata sulle cefalee, Roma, Novembre 2018.

- Barbanti P. “*Una svolta nella prevenzione dell’emicrania: gli anticorpi anti-CGRP*”, 13° Forum Risk Management in Sanità, Firenze, Novembre 2018
- Barbanti P. “*Ruolo Ab CGRP- monoclonali nella profilassi*”, II Convegno Regionale AINAT, Roma Novembre, 2018
- Barbanti P. “*Antagonisti del CGRP ed anticorpi anti-CGRP: le nuove frontiere nel trattamento dell’emicrania*”, VII Congresso della Sezione Interregionale Lazio-Molise SISC, Pozzilli, Dicembre 2018
- Barbanti P. “*Erenumab: la svolta nella prevenzione dell’emicrania*”, Moving first: emicrania, il primato della prevenzione, Pavia, Dicembre 2018
- Mollinari C, Zhao J, Lupacchini L, Merlo D, Pei G. Poster: “*Transdifferentiation: a new promise for neurodegenerative diseases*”, Settimana Italia-Cina della Scienza, della Tecnologia e dell’Innovazione, Milano, Dicembre 2018
- Guadagni F. Moderatore: “*Session 1: Human Fluid Biospecimens*”, International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER) 2018 Symposium: Biospecimen Research: Quality Matters, Lussemburgo, Febbraio 2018
- Guadagni F. Moderatore: “*Nanoscience and Nanotechnology*”, Biomedicine, Frascati (RM), Dicembre 2018
- Barbanti P, Ferroni P, Egeo G, Fofi L, Aurilia C. Poster: “*Dopaminergic symptoms in migraine: a case series on 1148 patients*”, 12th European Headache Federation Congress, J. Headache pain 2018, 19(S1):Meeting Abstract, Firenze, Settembre 2018
- Miraglia F, Vecchio F, Gorgoni M, Ferrara M, Iberite F, De Gennaro L, Rossini PM. Poster: “*Cortical connectivity modulation during sleep onset: a study via graph theory on EEG data*”, 31st International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN), 2018 Washington DC (USA), Maggio
- Alù F, Vecchio F, Miraglia F, Gorgoni M, Ferrara M, De Gennaro L, Rossini P.M. Poster: “*Connectivity modulation during sleep onset, reduction of movement: study via graph theory application to EEG data*”, 63 congress of the Italian society of Clinical Neurophysiology (SINC), Bari, Giugno 2018
- Miraglia F. Invited speaker “*EEG measures of distributed cortical activity and individual case analysis*”, 19th World Congress of Psychophysiology, Lucca, Settembre 2018
- Miraglia F. Invited speaker “*Functional Brain Connectivity as Revealed by EEG/MEG*”, 31st International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN), Washington DC, (USA), Maggio 2018
- Vecchio F. Organizer and Chairman “*Human Brain Connectome from Physiology to Disease*” 31st International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN), Washington, Maggio 2018
- Vecchio F. Invited speaker “*Functional Connectivity in Physiological and Pathological Aging from EEG Network Analysis During Rest and Task*”, 31st International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN), Washington DC, (USA), Maggio 2018
- Vecchio F. Organizer: Special Interest Group of International Federation of Clinical Neurophysiology (IFCN): “*Functional Brain Connectivity as Revealed by EEG/MEG*”, 31st International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN), Washington DC, (USA), Maggio 2018
- Vecchio F. Invited speaker “*La connettività cerebrale nella neurodegenerazione*”, 63 congress of the Italian society of Clinical Neurophysiology (SINC), Bari, Giugno 2018
- Ruffolo G. “*A novel GABAergic dysfunction in Dravet syndrome*”, 3rd Synanet meeting, Lisbona (Portogallo), Dicembre 2018
- Caprio M. “*Adrenal steroid control of adipose tissue*”, Endocrine Society 100th Annual Meeting, Chicago (USA), Marzo 2018
- Feraco A. “*Minor role of mature adipocyte Mineralocorticoid Receptor in obesity*”, IX Congresso Nazionale SIO, Milano, Ottobre 2018

- Morena E, Renié R, Romano C, Pellicciari G, Pesole G, Manfrè G, Umeton R, Mechelli R, Salvetti M, Chiara M. Poster: “*Multiple sclerosis: Epstein-Barr virus variants’ role to understand the etiology*”, 34 th Congress of the European Committee for treatment and research in multiple sclerosis (ECTRIMS), Berlino (Germania), Ottobre 2018
- Gentile A, Bullitta S, Fresegna D, Musella A, De Vito F, Rizzo FR, Vanni V, Guadalupi L, Centonze D, Mandolesi G. Poster: “*Voluntary exercise attenuates myelin loss and inflammation in experimental Multiple Sclerosis*”, 11th FENS Forum of Neuroscience, Berlino (Germania),Luglio 2018
- Rizzo FR, Stampanoni Bassi M, Musella A, Gentile A, Mori F, De Vito F, Bullitta S, Fresegna D, Guadalupi L, Vanni V, Centonze D, Mandolesi G. Poster: “*Interleukin-6 affects clinical course and brain plasticity in Multiple Sclerosis patients*”,11th FENS Forum of Neuroscience, Berlino(Germania), Luglio 2018
- Bullitta S, Gentile A, Fresegna D, Musella A, De Vito F, Rizzo FR, Vanni V, Guadalupi L, Centonze D, Mandolesi G. Poster: “*Effects of exercise on demyelination and inflammation in experimental Multiple Sclerosis*”,XXVII AINI Congress and 17th ESNI Course, Trieste, Maggio 2018
- Fresegna D, Rizzo FR, Musella A, Gentile A, De Vito F, Bullitta S, Guadalupi L, Vanni V, Centonze D, Mandolesi G. Poster: “*Effects of immunomodulatory drugs on T lymphocyte-dependent synaptic excitotoxicity in multiple sclerosis*”, XXVII AINI Congress and 17th ESNI Course, Trieste, Maggio 2018
- Rizzo FR, Stampanoni Bassi M, Musella A, Gentile A, Mori F, De Vito F, Bullitta S, Fresegna D, Guadalupi L, Vanni V, Centonze D, Mandolesi G. “*Interleukin-6 affects clinical course and brain plasticity in Multiple Sclerosis patients*”, Brayn Conference, Genova,Giugno 2018
- Musella A, Rizzo FR, Stampanoni Bassi M, Gentile A, De Vito F, Bullitta S, Mori F, Fresegna D, Vanni V, Centonze D, Mandolesi G. “*Interleukin-6 affects clinical course and brain plasticity in Multiple Sclerosis patients*”,XXVII AINI Congress and 17th ESNI Course, Trieste, Maggio 2018
- Checconi P, Limongi D, Baldelli S, De Angelis M, Celestino I, Ciriolo MR, Nencioni L, Palamara AT. Poster: “*Replication ability of influenza A viruses in macrophages: possible correlation with intracellular redox state*”, 46° Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Palermo, Settembre 2018
- Rodio DM, Limongi D, Checconi P, Scribano D, Ambrosi C, Cardaci V, Conti V, Pietropaolo V, Trancassini M, Garaci E, Palamara AT. Poster: “*Study of bacterial contamination of oxygen medical devises in chronic obstructive pulmonary disease patients*”, 46° Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Palermo, Settembre 2018
- De Angelis M, Amatore D, Checconi P, Cicchetti A, Palamara AT, Nencioni L. Poster: “*G6PD deficiency and the redox imbalance: new insights into the susceptibility and the immune response to influenza A virus*”, 46° Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Palermo , settembre 2018.
- De Chiara G, Fabiani M, Marcocci ME, Napoletani G, Limongi D, Piacentini R, Li Puma DD, Tramutola A, Di Domenico F, Grassi C, Palamara AT. Poster: “*Recurrent Herpes Simplex Virus-1 infection induces molecular hallmarks of neurodegeneration and cognitive deficits in mice*”, 46° Congresso Nazionale Società Italiana di Microbiologia, Palermo , settembre 2018
- Checconi P, De Angelis M, Di Sotto A, Celestino I, Locatelli M, Carissimi S, Limongi D, Di Giacomo S, Palamara AT, Nencioni L. Poster: “*Humulus lupulus inflorescence extract as promising antiviral remedy against influenza infection*”, Società Italiana di Microbiologia Farmaceutica –SIMIF, Camerino, Giugno 2018
- Palamara A.T. “*Recurrent Herpes Simplex Virus -1 (HSV-1) Infection causes neurodegenerative signs and cognitive deficits in mice. Role of protein oxidation*”, Summer School on Workplace Health Promotion, Università di Padova, Sede didattica di Bressanone, Giugno 2018

- Palamara A.T. “*Malattie sistemiche, microbiota orale, una storia tutta da scrivere*”, 25° Congresso Nazionale Collegio dei docenti universitari di discipline odontostomatologiche, Roma, aprile 2018
- Palamara A.T. “*Ricerca e innovazione in tema di microbiota*”, Microbiota: la medicina clinica e la medicina di laboratorio si parlano, Roma, Novembre 2018
- Palamara A.T. “*Innovazione nella Medicina di Laboratorio*”, 50° Congresso Nazionale SIBIOC-Medicina di Laboratorio, Napoli, Ottobre 2018
- Palamara A.T. “*Diagnosi e gestione clinica della sepsi*”, Giornata Mondiale della sepsi, Roma, settembre 2018
- Palamara A.T. “*Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and neurodegeneration: a side effect of cell response to infection?*”, 4th International Course – Persistent viral infections and immune evasion, Roma, Luglio 2018
- Palamara A.T. “*La microbiologia: crocevia di saperi «funzionali»*”, IV Workshop della Microbiologia Veterinaria di Napoli, Napoli, Maggio 2018
- Palamara A.T. “*La Microbiologia tra diagnostica di laboratorio e clinica nella Sepsis: modelli italiani e ruolo della fast microbiology*”, Progetto sepsi Regione Sicilia e Rete Ospedaliera Emergenza e Urgenza, Palermo, Settembre 2018
- Palamara A.T. “*L’antibiotico resistenza in un’ottica One Health*”, XII Congresso Società Italiana di Microbiologia Farmaceutica, Camerino, Giugno 2018
- Palamara A.T. Coordinamento Scientifico 2ND National Congress of Italian Society for virology, Roma, Novembre 2018
- Palamara A.T. “*Giornata di informazione sui vaccini dedicata agli studenti delle scuole medie superiori. Vaccini a mente aperta*”, Univax day, Roma, Febbraio 2018

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

CENTRO RICERCHE IRCCS SAN RAFFAELE PISANA
RICERCA DI BASE - TRASLAZIONALE

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF
Endocrinologia Cardiovascolare	Massimiliano Caprio	Andrea Armani, Alessandra Feraco, Stefania Gorini, Caterina Mammi, Vincenzo Marzolla
Citofluorimetria	Laura Vitiello	
Neurobiologia molecolare e cellulare	Daniela Merlo	Chiara De Dominicis, Leonardo Lupacchini
Patologia molecolare, cellulare e ultra strutturale	Matteo Antonio Russo	Federica Limana, Francesca Molinari, Luigi Sansone, Enza Vernucci, Marco Tafani
Elettrofisiologia	Eleonora Palma	Cristina Roseti, Gabriele Ruffolo
Biochimica dell'Invecchiamento	Maria Rosa Ciriolo	Sara Baldelli, Fabio Ciccarone, Serena Castelli
Brain Connectivity	Fabrizio Vecchio	Francesca Alù, Francesca Miraglia
Bioingegneria della Riabilitazione	Francesco Infarinato	Paola Romano Tirocinanti: Annalisa Maluccio, Valeria Cesarò, Alessandro Pesci, Gabriella D'Albenzio, Claudia Montoni, Agnese Martini, Alessandro Galassi, Sara Ferretti, Luca Rinaldi Poli.
Epidemiologia Molecolare	Patrizia Russo	Palma Lamonaca, Giulia Prinzi, Emilio Rojas
Patologie cronico-degenerative	Anna Teresa Palamara	Paola Checconi, Dolores Limongi
Farmacologia Cellulare e Molecolare	Carolina Muscoli	Luigino Antonio Giancotti, Sara Ilari, Filomena Lauro, Valentina Malafoglia
Neurofisiologia Sperimentale	Barbara Picconi	Valeria Calabrese, Antonella Cardinale, Antonio de Iure
Immunopatologia sinaptica	Georgia Mandolesi	Silvia Bullitta, Francesca De Vito, Diego Fresegna, Antonietta Gentile, Livia Guadalupi, Rosella Mechelli, Alessandra Musella, Francesca Romana Rizzo, Valentina Vanni.

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

Linea 1: Fattori preclinici determinanti l'efficacia della riabilitazione.

A. Descrizione

- Determinanti cellulari, molecolari, genetici della risposta riabilitativa al training fisico in modelli riproducenti le malattie neurodegenerative, neuromotorie, cerebrovascolari, metaboliche, cronico-degenerative dell'apparato cardiovascolare, respiratorio e nel dolore.
- Determinanti preclinici nello studio dei percorsi riabilitativi dei pazienti multimorbidi.
- Individuazione e valutazione di biomarcatori predittivi per il trattamento riabilitativo.
- Imaging pre-clinica.

B. Premessa/Background

La medicina riabilitativa ha necessità di superare l'empirismo che in passato ha caratterizzato il suo agire per dotarsi di solide evidenze precliniche misurabili.

Lo studio dei meccanismi patogenetici preclinici permette di individuare i meccanismi del recupero funzionale consentendo di realizzare un percorso personalizzato e realmente traslazionale.

La creazione di solidi modelli che permettano di realizzare l'analisi del soggetto sano e di quello con disabilità è di supporto alla valutazione oggettiva dello stato clinico, alla comprensione dei fenomeni di recupero funzionale, alla personalizzazione dell'approccio terapeutico.

L'integrazione genotipo-fenotipo-ambiente è la base della riabilitazione del futuro.

C. Razionale

L'identificazione dei meccanismi eziopatogenetici alla base delle malattie disabilitanti permetterà lo sviluppo di strategie terapeutiche innovative.

La conoscenza approfondita dei meccanismi patogenetici delle malattie cronico-degenerative, con l'identificazione di molecole endogene rilasciate da parte dei tessuti danneggiati, possono costituire un utile strumento per la scoperta di biomarkers utili per monitorare la progressione della malattia e l'efficacia della riabilitazione.

La conoscenza degli eventi precoci che determinano la progressione delle malattie disabilitanti è fondamentale per identificare marker di rischio e nuovi determinanti di out-come.

E' importante quindi poter: identificare le alterazioni reciproche del metabolismo bioenergetico e suggerire approcci nutrizionali/farmacologici e riabilitativi; analizzare i determinanti preclinici mediante indagini di imaging preclinico; individuare la presenza di danno ossidativo pre e post riabilitazione in malattie disabilitanti.

D. Obiettivi globali

Identificazione di modelli riproducenti i determinanti cellulari, molecolari, genetici, nutrizionali e microbici nella risposta riabilitativa in malattie neurodegenerative, neuromotorie, cerebrovascolari, ortopediche, cardiovascolari, respiratorie e nel dolore cronico. Identificazione di biomarkers per predire l'efficacia di tale risposta.

E. Risultati attesi e misurabili nel triennio

- Identificazione di nuovi marcatori di diagnosi e di progressione traslazionale per le malattie disabilitanti.
- Identificazione di nuovi modelli nutrizionali e farmacologici preclinici specifici per la riabilitazione nelle malattie disabilitanti.
- Identificazione di modelli integrati genotipo-fenotipo-ambiente favorenti/sfavorenti il risultato riabilitativo.

Linea 2: Clinica della disabilità.

A. Descrizione

- Realizzare e sperimentare nuovi percorsi terapeutici riabilitativi specifici per patologia.
- Perfezionare nuove tecniche di riabilitazione e plasticità neuronale in persone con esiti di ictus cerebrale, malattia di Parkinson, Parkinsonismo e altra disabilità neurologica.
- Studio clinico dell'efficacia dell'esercizio riabilitativo e/o dei presidi farmacologici e nutrizionali nel recupero funzionale delle malattie disabilitanti.
- Analisi qualitativa e quantitativa del cammino e dei movimenti in pazienti adulti e pediatrici.
- Analisi dei correlati neurali della riabilitazione in pazienti adulti e pediatrici.
- Analisi del ruolo della multimorbilità nel raggiungimento dell'outcome riabilitativo

B. Premessa/Background

Nella visione bio-psico-sociale di una moderna riabilitazione diviene fondamentale la presa in carico globale del paziente con disabilità onde ottenere la miglior qualità di vita possibile favorendo inoltre un corretto reinserimento nella vita lavorativa e sociale.

L'attività riabilitativa non può prescindere dalla conoscenza dei meccanismi patogenetici delle malattie disabilitanti. In questa ottica diviene necessario lo studio dei meccanismi di lesione e di recupero post-lesionale. Particolare attenzione va posta allo studio dei clusters di patologia (complessità) in grado di determinare il risultato riabilitativo. Necessitano inoltre nuovi studi epidemiologici e di coorti di popolazioni verso le patologie disabilitanti onde attuare una efficace politica di prevenzione.

Va inoltre garantito un costante aggiornamento delle procedure e delle tecniche attuate in ambito riabilitativo.

C. Razionale

Il trattamento riabilitativo intensivo determina l'entità e la qualità del recupero della persona affetta da patologia disabilitante, soprattutto quando il percorso riabilitativo viene attuato il più precocemente possibile dall'evento acuto. Nell'ambito delle patologie disabilitanti neurologiche ad esempio la neuroplasticità è fortemente stimolata da un efficace trattamento intensivo riabilitativo. Analogamente in ambito cardiorespiratorio l'attività riabilitativa consente di ottenere un buon recupero delle funzioni. I moderni trattamenti riabilitativi devono quindi essere realizzati attraverso lo studio e l'analisi delle reali possibilità di recupero del Paziente (piano riabilitativo individuale) che discendono da una efficace presa in carico biopsicosociale dell'individuo. Da qui la necessità di effettuare una completa analisi dello stato di salute del Paziente, individuando e correttamente gestendo le comorbilità.

D. Obiettivi globali

- Identificare fattori e indici multivariabili che influenzano la risposta al trattamento riabilitativo, il recupero e la qualità di vita di pazienti con patologie disabilitanti.
- Sperimentare e valutare nuovi trattamenti, farmacologici, nutraceutici, per migliorare il recupero funzionale nelle specifiche popolazioni.

E. Risultati attesi e misurabili nel triennio

- Messa a punto di nuovi e più efficaci sistemi di valutazione clinica e tecnologica.
- Individuazione di predittori di recupero che possano facilitare e rendere più mirato il progetto riabilitativo.
- Nuove procedure per valutare il guadagno funzionale, la previsione della risposta al trattamento, il miglioramento e la personalizzazione dell'approccio terapeutico.
- Realizzazione di modelli integrati di trattamento interdisciplinare e multifattoriale delle patologie disabilitanti nel Paziente complesso.
- Realizzazione di Linee guida di riabilitazione in patologia specifica.

Linea 3: Innovazione in medicina e riabilitazione.

A. Descrizione

- Utilizzazione di sistemi telemedicali e di nuove tecnologie ICT per garantire la continuità assistenziale nel territorio in pazienti con patologie disabilitanti e per proporre nuovi processi per la valutazione precoce del declino funzionale.
- Systems medicine e riabilitazione.
- Formazione del paziente, del caregiver, del personale medico e del medico di medicina generale per la gestione del paziente con disabilità in riabilitazione.
- Attuazione di Governo Clinico della riabilitazione attraverso il monitoraggio dell'outcome e della qualità di vita.

B. Premessa/Background

L'invecchiamento della popolazione, l'aumentata incidenza di patologie croniche stanno facendo emergere nuovi bisogni di salute che richiedono percorsi assistenziali e terapeutici personalizzati. In questo scenario, la validazione di trattamenti innovativi (ad esempio la teleriabilitazione) può rappresentare una risposta efficace e efficiente.

Le malattie croniche non trasmissibili sono multifattoriali e causate da complesse interazioni gene-ambiente che agiscono lungo l'intero corso della vita. La systems medicine ha come obiettivo l'integrazione di dati preclinici, clinici, ambientali facilitando quindi la comprensione dei meccanismi delle malattie e migliorandone la diagnosi, il trattamento e la prognosi.

Le nuove tecnologie dell'informazione e della comunicazione hanno dimostrato di essere lo strumento strategico più promettente per garantire la continuità della gestione clinica e la conservazione del benessere.

C. Razionale

La riabilitazione consiste in un intervento globale e multidisciplinare basato sull'evidenza dei benefici sui pazienti in base a parametri di efficacia oggettivi e quantificabili, volto a ridurre i sintomi, ottimizzare lo stato funzionale, aumentare la partecipazione e ridurre il consumo di risorse sanitarie attraverso la stabilizzazione o il miglioramento della malattia.

La letteratura ha evidenziato l'utilità dell'intervento con teleriabilitazione, dimostrandone la validità sia in termini economici che assistenziali. Attualmente, sono state sviluppate un elevato numero di piattaforme per la teleriabilitazione che richiedono nuove evidenze scientifiche.

Le tecnologie dell'Informazione e della comunicazione, di concerto con le nuove possibilità date dai sistemi di sensing pervasivo, Internet of Things, Intelligenza Ambientale, Machine Learning e Computazione Ubiqua, pongono nuove sfide nell'implementazione di sistemi integrati complessi per la gestione e il trattamento di pazienti.

D. Obiettivi globali

- Percorsi di teleriabilitazione.
- Tecniche innovative di neuroimaging funzionale.
- Nuove tecnologie quali network di sensori, algoritmi avanzati, robotica applicata per il ripristino della funzionalità sensoriale o motoria.
- Criteri di HTA per determinare un congruo accesso alle moderne procedure riabilitative e terapeutiche ad alto costo.

E. Risultati attesi e misurabili nel triennio

- Attivazione di programmi riabilitativi a domicilio altrimenti non consentiti in altra modalità organizzativa.
- Definizione di nuovi percorsi riabilitativi scientificamente certi, socialmente utili ed economicamente sostenibili.

- Implementazione e sviluppo di sistemi avanzati di riabilitazione, nuovi algoritmi per la somministrazione di trattamenti, tecnologia assistiva per facilitare il contatto tra paziente e terapeuta.
- Validazione di nuove tecnologie riabilitative rendendole accessibili.

LINEA 1

Fattori preclinici determinanti l'efficacia della riabilitazione.

AREA DI RICERCA PARKINSON E DISTURBI DEL MOVIMENTO

Caratterizzazione del pattern del microbiota in pazienti con malattia di Parkinson (PD) naive, con differente fenotipo clinico e valutazione prospettica del microbiota dopo trattamento farmacologico

La malattia di Parkinson (PD) è una malattia neurodegenerativa caratterizzata da sintomi motori e non motori. Dal punto di vista anatomopatologico la malattia è caratterizzata da depositi di Alpha-synucleina che sono stati identificati in pazienti PD a tutti i livelli dell'asse intestino-cervello, inclusi il sistema autonomo centrale ed il sistema nervoso enterico.

Le interazioni dell'asse intestino-cervello sono significativamente modulate dal microbiota, attraverso meccanismi neuroimmunoendocrini ed immunologici, ed attraverso una via neurale diretta. La disregolazione dell'asse intestino-cervello in PD potrebbe essere associata con disfunzioni gastro-intestinali che frequentemente precedono i sintomi motori, supportando l'ipotesi che il processo patologico si diffonda dall'intestino al cervello. Scheperjans et al. hanno infatti riportato alterazioni nella composizione del microbiota nel PD e la sua associazione con fenotipi clinici diversi (prevalentemente tremorigeni o acinetico-rigidi).

Un importante componente del microbiota è rappresentata dai batteri del piccolo intestino e recenti studi hanno mostrato una crescita eccessiva dei batteri del piccolo intestino (SIBO) nei pazienti parkinsoniani.

La disbiosi intestinale ed i SIBO potrebbero determinare un aumento della permeabilità intestinale, causando di conseguenza un'eccessiva stimolazione del sistema immunologico e dei meccanismi di infiammazione, portando alla formazione dei depositi di alfa-sinucleina.

L'alterazione quantitativa e qualitativa del microbiota potrebbe influenzare la progressione e la severità della malattia.

Nella malattia di Parkinson, ricerche recenti mostrano un'alterazione sia quantitativa che qualitativa nella composizione del microbiota intestinale. Uno studio di Scheperjans e collaboratori ha evidenziato un'associazione tra il fenotipo acinetico-rigido e l'abbondanza di Enterobacteriaceae.

Nella malattia di Parkinson potrebbe essere presente uno specifico pattern di microbiota intestinale, presente già nelle fasi prodromiche della malattia. Stabilire la tipologia di microbiota nel PD appena diagnosticato consentirebbe non solo la diagnosi preclinica, ma anche una tipizzazione fenotipica con importanti conseguenze dal punto di vista diagnostico e terapeutico. E' inoltre importante stabilire come si modifica il microbiota nel corso della malattia e la relazione tra terapie farmacologiche utilizzate, risposta alle terapie e sviluppo di eventuali complicanze.

Il progetto di ricerca prevede l'arruolamento di 40 pazienti PD naive (20 con fenotipo tremorigeno e 20 con fenotipo acinetico rigido) e l'analisi del microbiota verso controlli sani di pari età e sesso, al fine di confermare il pattern differente tra i due fenotipi clinici ed i controlli sani.

Successivamente si ripete l'analisi del microbiota negli stessi pazienti dopo introduzione della terapia farmacologica:

- a 12 mesi con IMAO-B+ dopamino agonisti
- a 24 mesi con IMAO-B + dopamino agonisti ed eventuale introduzione L-Dopa.

Tutti i pazienti vengono sottoposti inoltre a valutazione clinica specifica per malattia di Parkinson nelle tre visite previste (T0, 12 e 24 mesi).

Nel corso del primo anno a partire da una revisione della letteratura, si è ritenuto necessario avviare una prima attività di ricerca sul pattern del microbiota su pazienti parkinsoniani fluttuanti con e senza perdita di peso, al fine di caratterizzare le eventuali differenze tra pazienti Naive e pazienti fluttuanti.

In questa fase preliminare sono stati analizzati campioni di feci in 10 pazienti che hanno perso peso e 10 pazienti che non hanno perso peso (appaiati per età, sesso e durata di malattia) e 8 controlli sani (appaiati per età e sesso).

Lo studio ha messo in evidenza un differente pattern del microbiota tra controlli sani e pazienti affetti da Malattia di Parkinson, e tra gli stessi pazienti (con un incremento dei biomarkers pro

infiammatori nei pazienti che non hanno perso peso). Questo studio preliminare è stato svolto in collaborazione con l'Unità di ricerca di Microbioma Umano dell'Ospedale Pediatrico Bambino. Presso i laboratori dell'IRCCS San Raffaele sono conservati (in frigoriferi a -80°) campioni di feci dei 20 pazienti affetti da Malattia di Parkinson e degli 8 controlli sani, per eventuali comparazioni e valutazioni qualitative e quantitative tra pazienti fluttuanti e Naive.

Dopo questa prima fase è iniziata la raccolta dei campioni di feci nei pazienti Naive; sono stati raccolti 9 campioni (5 femmine e 4 maschi): 7 con Parkinson tremorigeno e 2 con forma acinetico rigida.

Nel corso del 2019 si continueranno a raccogliere campioni dei pazienti Naive, al fine di arrivare al Target previsto di 40 pazienti. Sarà effettuata una analisi del microbiota negli stessi pazienti dopo introduzione della terapia farmacologica:

- a 12 mesi con IMAO-B+ dopamino agonisti

- a 24 mesi con IMAO-B + dopamino agonisti ed eventuale introduzione L-Dopa

Tutti i pazienti verranno sottoposti inoltre a valutazione clinica specifica per m. di Parkinson nelle tre visite previste (T0, 12 e 24 mesi).

Ci si attende di poter effettuare una tipizzazione pre-clinica del microbiota, di poter avere una conferma del pattern del microbiota correlato al fenotipo in fase precoce di malattia e di poter effettuare una analisi delle modificazioni del microbiota sia nelle varie fasi della malattia, sia in relazione alle terapie farmacologiche.

Indagine retrospettiva sulle persone con amputazione di arto inferiore con protesizzazione presso le Officine Ortopediche ITOP di Palestrina

L'amputazione di arto, soprattutto a carico dell'arto inferiore, costituisce ancora un grave problema sanitario, nonostante i progressi della medicina interna, ed in particolare della diabetologia.

L'incidenza di amputazione degli arti inferiori varia da 46,1 a 9600 per 100000 abitanti nei pazienti diabetici rispetto a 5,8 – 31 per 100000 abitanti nella popolazione generale. I dati epidemiologici sono dunque molto eterogenei, probabilmente condizionati da parametri come l'etnia, la condizione sociale, le caratteristiche e la gravità della patologia di base. Non esistono, inoltre, protocolli standardizzati di presa in carico riabilitativa del paziente amputato, soprattutto per quel che concerne il controllo del dolore del moncone e l'arto fantasma.

L'outcome riabilitativo dei pazienti con amputazione è molto variabile e non sono disponibili fattori predittivi che supportino il medico riabilitatore nella scelta del percorso da intraprendere. Si ritiene utile una valutazione osservazionale su un vasto numero di pazienti amputati di arto inferiore di provenienza regionale, al fine di stabilire se vi sono fattori che possano influenzare l'outcome riabilitativo.

Sono oggetto di indagine le correlazioni tra dati epidemiologici (età, sesso, diagnosi di base), livello dell'amputazione, presenza di dolore ed i risultati riabilitativi, come ad esempio lo scarso o assente utilizzo della protesi, la presenza o assenza di un cammino funzionale. La finalità è quella di stabilire se esiste una valutazione multi-parametrica di questo insieme di fattori che possa determinare il successo o meno del progetto riabilitativo di protesizzazione. Inoltre ci si propone di individuare sottogruppi di pazienti non idonei alla protesizzazione.

L'obiettivo primario è quello di verificare le possibili correlazioni tra gli indicatori socio-clinico-anagrafici e l'utilizzo della protesi con cammino domiciliare o extradomiciliare in comunità. L'obiettivo secondario consiste nel verificare la presenza di dolore e della sindrome dell'arto fantasma, verificando le eventuali correlazioni con gli altri dati in possesso; infine selezionare una popolazione di pazienti con arto fantasma disponibili ad eseguire un training riabilitativo in realtà virtuale, per verificare la fattibilità di un trattamento specifico innovativo (eventualmente in tele-riabilitazione).

Ci si attende di poter verificare l'esistenza di una valutazione multi-parametrica che possa predire il successo o meno del progetto riabilitativo di protesizzazione e che consenta di individuare sottogruppi di pazienti non idonei alla protesizzazione.

Si ritiene utile una valutazione osservazionale su un vasto numero di pazienti amputati di arto inferiore di provenienza regionale, al fine di stabilire se vi siano fattori che possano influenzare l'outcome riabilitativo.

Sono reclutati pazienti con amputazione di arto inferiore a livello di coscia o gamba, afferenti alle Officine Ortopediche ITOP; vengono invece esclusi i pazienti con amputazione di arto superiore e del piede.

Lo studio è di tipo osservazionale retrospettivo con l'integrazione dei dati raccolti tramite questionario proposto per via telefonica. I dati sono trattati da un database presente presso le Officine Ortopediche ITOP Palestrina (RM), che rispecchia le normative per la privacy ed include dati socio-demografici, diagnosi e livello di amputazione. Il questionario telefonico è composto da un set di domande che comprendono: il tipo di amputazione subita, la data dell'intervento, la causa che ha condotto all'amputazione, la presenza o meno dell'arto fantasma, la presenza o meno di dolore al moncone. Vengono inoltre somministrate telefonicamente la modified Rankin Scale e la Walking Handicap Scale.

Nel corso del 2018 è stata effettuata una revisione della letteratura esistente sugli indici di outcome riabilitativo funzionale nei pazienti amputati e dell'arto fantasma. Sono stati selezionati 360 pazienti amputati afferenti alle officine ortopediche Itop; tra questi 348 soddisfacevano i criteri di inclusione e sono stati sottoposti al questionario telefonico. Sono stati inoltre estratti i dati demografici, clinici e strumentali ed analizzati in ambiente MatLab ed Excel. È in corso l'analisi statistica per la discriminazione delle caratteristiche significative, che proseguirà nel 2019.

L'individuazione dei fattori predittivi di successo o meno del progetto riabilitativo di protesizzazione, che consentano di individuare sottogruppi di pazienti non idonei alla protesizzazione, permette di supportare il medico riabilitatore nella decisione di prescrivere o meno la protesi d'arto e stabilire il percorso riabilitativo più idoneo. Inoltre consente di evitare la prescrizione ed il confezionamento di protesi di arto che non verranno utilizzate, prevenendo un eccessivo carico funzionale e contenendo i costi per il Sistema Sanitario Nazionale.

RES&REYBARTHEL - Indagine retrospettiva sui pazienti in regime di ricovero presso l'IRCCS San Raffaele-Pisana in fase sub-acuta.

Le unità di riabilitazione post-acuzie (cod. 56) hanno lo scopo di trattare e riabilitare i pazienti nel periodo immediatamente successivo alla dimissione dalle strutture ospedaliere per acuti. Esse costituiscono i capisaldi dei percorsi riabilitativi. Il ricovero in ambiente riabilitativo post-acuzie, infatti, risulta fondamentale per il raggiungimento di un miglior recupero funzionale. L'ottimizzazione di questi percorsi rappresenta un obiettivo primario in tutte le strutture riabilitative. Uno dei parametri funzionali più importanti raccolti durante il ricovero nelle unità riabilitative è il Barthel Index (BI), che misura l'autonomia del paziente nelle attività di vita quotidiana di base. Il BI è quindi considerato una misura diretta delle condizioni funzionali del paziente e costituisce un indice di idoneità valido per l'accesso alle unità riabilitative intensive. Accanto alla misura dell'autonomia, durante i ricoveri vengono raccolte moltissime informazioni circa il percorso riabilitativo, le comorbidità e le modalità di dimissione attraverso le Schede di Dimissione Ospedaliera (SDO), che presentano caratteristiche specifiche regionali. Il punteggio BI alla dimissione consente di sintetizzare l'esito dell'ospedalizzazione riabilitativa. Negli ultimi 10 anni sono stati sviluppati indici di impatto della riabilitazione sempre più complessi in risposta alla necessità di creare misure composte che controllino lo stato funzionale pre-morboso, pre-abililitazione ed il tasso di miglioramento funzionale. Il Rehabilitation Effectiveness (RES) è la percentuale di potenziale miglioramento funzionale effettivamente raggiunto. Il Rehabilitation Efficiency (REY) è il tasso di recupero funzionale ottenuto durante un lasso di tempo in riabilitazione (Shah et al, 1989).

Questo studio si propone di valutare in maniera retrospettiva i dati SDO di tutti i pazienti ammessi ai reparti di riabilitazione neuromotoria A,B e C IRCSS San Raffaele Pisana dal Gennaio 2006 al Dicembre 2017.

Lo studio intende verificare l'esistenza di correlazioni tra RES e REY con gli items disponibili nella SDO ed utilizzare tecniche di machine learning per l'individuazione di pattern di dati presenti nelle SDO, utilizzabili come dati predittivi in termini di efficienza ed efficacia.

Ci si attende di poter individuare nei dati presenti nelle Schede di Dimissione Ospedaliera correlazioni tra RES e REY del Barthel Index che permettano di predire l'andamento riabilitativo dei pazienti ed individuare dei fattori predittivi di successo o meno del progetto riabilitativo in pazienti in riabilitazione intensiva post-acuzie (codice 56).

Si ritiene utile una valutazione osservazionale su un vasto numero di pazienti afferenti alla riabilitazione intensiva (codice 56), al fine di stabilire se vi siano fattori in grado di influenzare l'outcome riabilitativo, ed applicare tecniche di machine learning.

Sono stati analizzati i dati demografici e clinici, nonché le scale disponibili nelle SDO. Le misure di outcome primarie durante la degenza riabilitativa sono RES e REY.

Vengono inclusi nello studio i pazienti affetti da emisindrome piramidale, malattia di Parkinson, patologie di interesse ortopedico, mentre vengono esclusi quei pazienti le cui SDO risultino non complete o non correttamente compilate.

L'attività del 2018 ha avuto come obiettivo la revisione della letteratura esistente sull'utilizzo di RES e REY. Sono state analizzate 4056 Schede di Dimissione, 3426 SDO soddisfacevano i criteri di inclusione. Sono quindi stati estratti i dati demografici, clinici e strumentali ed analizzati in ambiente MatLab ed Excel. È stata quindi eseguita l'analisi statistica per la discriminazione delle caratteristiche significative. È stato osservato che un punteggio basso al BI all'ingresso nelle unità di riabilitazione intensiva (cod. 56) era correlato ad una bassa efficacia in termini di potenziale miglioramento funzionale effettivamente raggiunto (RES), però correlato anche ad un alto tasso di recupero funzionale ottenuto durante il lasso di tempo in riabilitazione (REY). In altre parole un paziente con uno stato funzionale peggiore all'ingresso otteneva un recupero funzionale più rapido, ma una bassa percentuale di guadagno funzionale rispetto ad un paziente che all'ingresso presentava uno stato funzionale migliore. Inoltre la lunghezza del ricovero è stata associata ad una migliore efficacia e ad una peggiore efficienza, rispetto ai ricoveri brevi. È in corso l'interpretazione dei dati ottenuti alla luce di quelli presenti in letteratura.

Studio osservazionale sulla complessità clinica in riabilitazione

Le unità di riabilitazione post-acuzie (cod. 56) hanno lo scopo di trattare e riabilitare i pazienti nel periodo immediatamente successivo alla dimissione dalle strutture ospedaliere per acuti. All'interno delle riabilitazioni intensive vengono ricoverati un gruppo eterogeneo di pazienti sia dal punto di vista della diagnosi di base (ad eziologia neurologica o ortopedica), sia dal punto di vista delle condizioni cliniche generali e del livello di autonomia.

Uno dei parametri funzionali più importanti raccolti durante il ricovero nelle unità riabilitative è il Barthel Index (BI), che misura l'autonomia del paziente nelle attività di vita quotidiana di base. Il BI è considerato una misura diretta delle condizioni funzionali del paziente e costituisce un indice di idoneità valido per l'accesso alle unità riabilitative intensive. I bisogni riabilitativi dei pazienti sono quindi estrapolati dallo stato di autonomia del paziente, attraverso il BI. La scala di Barthel, però, non consente di stabilire i reali bisogni riabilitativi, correlati alle comorbidità e allo stato clinico generale. Inoltre, venendo fornita per legge in ingresso, non riesce a discriminare i pazienti a rapida risoluzione di disautonomia da quelli con disautonomia persistente.

È stata quindi recentemente proposta una scala che permette di valutare la complessità clinico-riabilitativa: la Rehabilitation Complexity Scale – Extended (version 13th) (RCS-E) (Turner-Stokes et al 2012). L'RCS-E è stata tradotta e validata in italiano (Roda et al., 2017); essa valuta 5 domini: cura o rischio (ovvero il livello di assistenza necessaria al paziente per la cura personale e per mantenere un'adeguata sicurezza), bisogni infermieristici (necessità di essere accudito da un infermiere specializzato), bisogni di cure mediche (necessità della presenza di un medico), bisogni terapeutici (valuta il numero di discipline coinvolte nel progetto riabilitativo e l'intensità di trattamento), necessità di ausili. Attraverso questa scala è possibile valutare i reali bisogni riabilitativi del paziente in relazione alla complessità del quadro clinico, riabilitativo, cognitivo e

funzionale. Rispetto alla Barthel Index la RCS-E è in grado di discriminare la severità e la complessità di un paziente rispetto ad un altro, pur tenendo conto del suo livello di autonomia. In un recente lavoro di Hoffman et al. è stato osservato che nei pazienti con esiti di trauma l'RCS ed il BI erano in grado di correlare con la severità del trauma, ma solo RCS era in grado di discriminare il livello di necessità riabilitativa di questi pazienti. Inoltre lo score dell'RCS era correlato con la durata del ricovero riabilitativo e con le modalità di dimissione (Hoffman et al., 2013).

Questo studio si propone di valutare le necessità riabilitative correlate alla complessità, attraverso la somministrazione della scala Rehabilitation Complexity Scale – Extended (version 13th) (RCS-E). Gli score ottenuti sono messi in correlazione al sesso e all'età dei pazienti, al tipo di patologia oggetto della riabilitazione, al delta tra l'inizio della riabilitazione e l'evento acuto, allo stato funzionale e di autonomia registrato attraverso il Barthel Index ed al numero di comorbidità presenti. E' inoltre valutata la correlazione tra lo score RCS-E e la necessità di prolungare il ricovero riabilitativo oltre i termini stabiliti e la modalità di dimissione (a domicilio o presso altra struttura ospedaliera).

Lo studio intende:

- Verificare l'esistenza di correlazioni tra l'RCS-E in ogni singolo dominio della scala ed i dati epidemiologici e diagnostici;
- Stabilire fattori prognostici che permettano di prevedere le modalità di dimissione;
- Monitorare l'efficienza riabilitativa attraverso il confronto della complessità all'ingresso nella struttura riabilitativa, a 10 giorni ed in fase di dimissione.

Ci si attende di poter valutare, attraverso una scala, le correlazioni tra la complessità riabilitativa e l'outcome dei pazienti.

Vengono analizzati i dati demografici e clinici, nonché le scale disponibili nelle Schede di Dimissione Ospedaliera. Vengono somministrati la scala RCS-E ed il BI ai pazienti ammessi al reparto di riabilitazione neuromotoria B IRCSS San Raffaele – Pisana, con diagnosi di ictus ischemico ed emorragico, malattia di Parkinson, sclerosi multipla, postumi di intervento chirurgico ortopedico realizzato in elezione o post-traumatico, amputazione. La somministrazione delle scale avviene all'ingresso del reparto di riabilitazione (T0), dopo 10 ± 2 giorni dall'ingresso (T1) e alla dimissione (T2).

Nel corso del 2018 è stata effettuata la revisione della letteratura esistente sull'utilizzo della scala RCS-E e sugli indici di complessità clinica. Lo studio proseguirà nel 2019.

Biomarker discovery e implementazione di modelli di rischio per la definizione di protocolli di medicina predittiva.

Le malattie cronic-degenerative rappresentano uno dei problemi più visibili di salute pubblica, a causa degli elevati valori di prevalenza ed incidenza nella popolazione e per la notevole complessità della loro gestione clinica, dovuta anche alla possibile contemporanea presenza di comorbidità. Per tali motivi, si sente sempre più forte l'esigenza di introdurre nella pratica clinica nuovi strumenti di medicina predittiva che permettano, da una parte, la valutazione del rischio individuale, dall'altra, l'adozione di protocolli diagnostici-terapeutici-riabilitativi che migliorino la qualità e l'appropriatezza della gestione clinica della malattia e delle sue complicanze. In questo complesso ed articolato contesto, l'innovazione nei processi clinici (caratterizzata dalla personalizzazione dei processi di cura per diagnosticare precocemente eventi avversi e per ottimizzare il trattamento), e l'innovazione nei sistemi e nelle metodologie per l'integrazione, gestione ed elaborazione dei dati biomedici e clinici rappresentano le basi fondamentali per lo sviluppo e l'implementazione di programmi assistenziali innovativi. A ciò si aggiunga la rapida crescita a cui si è assistito negli ultimi anni della quantità di dati biologici, biomedici ed epidemiologici prodotti non solo mediante le tecnologie "omics", ma anche attraverso l'impiego di fascicoli sanitari elettronici e strumenti di telemedicina, che rappresentano una fonte generosa di informazioni per una medicina predittiva (big-data).

Il progetto si basa sull'ipotesi che l'applicazione di nuove tecniche di apprendimento automatico (machine learning) possa facilitare analisi descrittive e predittive in maniera retrospettiva e generare ipotesi future, al fine di ottenere il massimo valore (conoscenza) dai dati disponibili (strutturati o non strutturati), trasformandoli in una solida base su cui costruire approcci di medicina precisione. Il progetto si pone all'interno del programma del Laboratorio BioDAT, che 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 cronic-degenerative. La scoperta di nuovi biomarcatori (biomarker discovery) è, infatti, essenziale nel disegno di sistemi decisionali clinici in grado di predire in maniera personalizzata il rischio di insorgenza di una specifica patologia e/o delle sue complicanze, nonché la mancata risposta ad un trattamento o la possibile insorgenza di effetti indesiderati, al fine di sviluppare nuovi approcci di medicina precisione in ambito terapeutico e/o riabilitativo.

Gli obiettivi specifici del progetto di ricerca corrente del Laboratorio BioDAT sono finalizzati, pertanto, all'individuazione di biomarcatori innovativi in grado di favorire la promozione di programmi di medicina individualizzati in pazienti con malattie cronic-degenerative, grazie anche alla realizzazione di approcci innovativi di analisi dei dati utili alla diagnosi, prognosi e trattamento delle patologie di interesse e delle comorbidità associate al fine di sviluppare soluzioni integrate per il processo decisionale medico.

Ci si aspetta pertanto di mettere a punto e validare nuovi strumenti decisionali di supporto ai professionisti sanitari per la pianificazione del management clinico di pazienti con malattie cronic-degenerative.

Il progetto, in coerenza con i programmi Nazionali e Comunitari, dedica una forte attenzione alla conversione delle nuove conoscenze/tecnologie in processi e servizi innovativi, che offrano opportunità ai professionisti sanitari per una migliore pianificazione del management clinico e, al tempo stesso, contribuiscano al miglioramento della vita dei cittadini.

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 in generale il progetto Biomarker Discovery e Banca Biologica, è stato effettuato un aggiornamento del codice SPREC, un sistema di classificazione dei campioni biologici che favorisce non solo l'adozione di procedure operative standard (SOP), ma permette anche di soddisfare le richieste da parte delle autorità di accreditamento o certificazione. Inoltre, è stato analizzato un nuovo metodo di istocultura Gelfoam® tridimensionale in grado non solo di mantenere l'espressione in vivo di antigeni specifici, ma anche di valutare la sensibilità di protocolli di immunoterapia in un contesto di medicina personalizzata.

Studi specifici sono stati eseguiti in collaborazione con gruppi di ricerca interni ed esterni all'IRCCS. In particolare, in collaborazione con il Centro Cefalee dell'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma, è stata condotta un'analisi dettagliata del ruolo di alcune varianti geniche nella genesi delle WMH (white matter hyperintensities), un marcatore neuroradiologico recentemente associato con un rischio aumentato di ictus, demenza e morte. La rielaborazione finale dei dati evidenzia il coinvolgimento di uno specifico aplotipo nella formazione di WMH. Sulla base di questi risultati e a supporto di alcune delle evidenze sperimentali ottenute, sono state effettuate alcune revisioni della letteratura al fine di: 1) analizzare il coinvolgimento dello stress ossidativo nella patogenesi dell'emicrania e nella sua progressione verso la cronicizzazione; 2) analizzare la presenza di alcune varianti geniche coinvolte nel metabolismo di micro e macronutrienti, nonché le loro interazioni con alcune sostanze nutraceutiche; 3) identificare possibili biomarcatori circolanti utili al monitoraggio dell'attività di malattia e/o alla predizione della risposta a trattamenti innovativi.

In collaborazione con i Dipartimenti di Medicina dei Sistemi e di Ingegneria delle Imprese dell'Università di Roma Tor Vergata sono proseguiti gli studi di realizzazione/validazione di modelli decisionali clinici la cui architettura possa essere adattata a vari contesti sanitari e quesiti clinici. In particolare è stata effettuata la validazione esterna di un nomogramma recentemente proposto per la definizione del rischio di tromboembolismo venoso in corso di trattamento chemioterapico in comparazione con il modello decisionale clinico sviluppato dal nostro gruppo di ricerca e basato su tecniche di intelligenza artificiale.

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 tissutale della proteina Brachyury (un fattore di trascrizione all'interno del complesso di geni T-box, induttore di transizione epitelio-mesenchimale), al fine di verificarne l'idoneità quale bersaglio molecolare in protocolli di immunoterapia.

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 attive, si prevede di ampliare gli studi in corso allo scopo di individuare e validare l'applicabilità clinica di nuovi parametri biologici e dell'algoritmo implementato per la definizione di nuovi protocolli di medicina predittiva. Gli studi eseguiti in questi anni, infatti, hanno preso in considerazione il paziente oncologico, quale paradigma di una condizione di fragilità nella quale è necessario garantire una presa in carico globale del malato attraverso un approccio multidisciplinare e multidimensionale, che garantisca un

inserimento precoce delle cure di supporto e della riabilitazione per la prevenzione ed il controllo dei sintomi legati alla malattia e/o alle terapie specifiche. Tuttavia, il modello implementato si è già dimostrato applicabile anche a quesiti diagnostici differenti, che necessitano di un'accurata previsione del rischio per la realizzazione di nuovi percorsi diagnostico-terapeutici assistenziali e/o per l'applicazione di programmi terapeutici/riabilitativi individuali. Tra le attività previste si prevede, in particolare, la customizzazione del modello algoritmico in pazienti con emicrania allo scopo di verificarne l'applicabilità quale strumento decisionale clinico nella predizione della risposta farmacologica e per l'applicazione di programmi terapeutici personalizzati.

L'esperienza maturata attraverso le attività di ricerca sopra descritte, sostenuta dalle piattaforme tecnologiche sviluppate nel corso degli anni e dalla disponibilità di una Banca Biologica Interistituzionale Multidisciplinare (Progetto BioBIM), dotata di procedure operative standardizzate e delle più moderne tecniche ICT, sono una garanzia per l'esecuzione di studi specifici di biomarker discovery utili per la definizione di protocolli di medicina predittiva per il management clinico di pazienti con patologie cronic-degenerative. L'esteso campionamento in atto presso la BioBIM rappresenta, infatti, una fonte importante di numerose tipologie di matrici biologiche, in grado di favorire in tempi rapidi lo sviluppo di progetti di ricerca traslazionale, nei quali affiancare alle indagini diagnostiche tradizionali le metodiche più innovative su cui si basa la disciplina della "Biomarker Discovery".

Nella sua globalità il progetto potrebbe avere delle ricadute importanti sul SSN, soprattutto attraverso la messa a punto e validazione di strumenti decisionali clinici per la realizzazione di nuovi percorsi diagnostico-terapeutici assistenziali e/o per l'applicazione di programmi terapeutici/riabilitativi individuali in un contesto di medicina personalizzata.

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 (AD) 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, i danni del doppio filamento (Double-Strand-Break -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 con Alzheimer (AD) ed il trattamento con beta-amiloide di cellule neuronali causa l’inibizione dell’attività e della funzione della DNA-PK. La beta-amiloide esercita il suo effetto citotossico attraverso l’induzione di stress ossidativo e la generazione di ROS. I mitocondri rappresentano sia la fonte che il target principale dei ROS, la cui eccessiva produzione danneggia il DNA mitocondriale (mtDNA). La disfunzione mitocondriale è infatti uno dei primi segni osservati nei cervelli AD ma il ruolo causale nella patogenesi è tutt’ora poco chiaro. Studi recenti hanno inoltre rivelato la fondamentale importanza dei mitocondri nel differenziamento delle cellule staminali neurali (NSC), suggerendo che il mantenimento delle funzioni mitocondriali è essenziale anche per la neurogenesi. Infatti, è stato dimostrato un maggiore differenziamento delle NSC verso un fenotipo gliale in seguito all’accumulo di danno al mtDNA.

L’obiettivo principale del progetto è identificare il ruolo della riparazione del DNA nella patogenesi di AD, e di proporre l’aumento dell’attività della DNA-PK come nuovo approccio terapeutico per l’AD utilizzando un modello cellulare umano innovativo quale le colture cellulari neuronali umane derivanti da cellule somatiche mediante transdifferenziamento.

La preparazione dei mitocondri e la misurazione dei ROS mitocondriali sono state condotte usando kit commerciali (Beyotime e PerkinElmer, rispettivamente). In particolare, le immagini per la determinazione dei ROS nei mitocondri sono state analizzate utilizzando il software Harmony. L’analisi quantitativa delle proteine mediante Western blot, la localizzazione delle proteine mediante immunofluorescenza e il saggio in vitro di riparazione del DNA mediante NHEJ, sono stati condotti come descritto in De Chiara et al., Front Aging Neurosci. 2016 Oct 18; 8:242

Nel presente progetto è stato dimostrato che il trattamento di progenitori neurali umani con la beta-amiloide è in grado di indurre il danno del mtDNA e di modificare il differenziamento delle cellule staminali neurali verso il fenotipo gliale. In particolare, è stato dimostrato che i componenti della Non Homologous End Joining (NHEJ), il principale meccanismo di riparazione dei danni del doppio filamento del DNA (DSBs), quali Ku70, Ku80, DNA-PKcs, XRCC4, sono localizzati nei mitocondri e sono in grado di riparare il mtDNA. La riduzione dell’espressione di XRCC4 e l’inibizione della riparazione del mtDNA accresce gli effetti del trattamento con beta-amiloide sul differenziamento delle cellule staminali neurali. Al contrario, la stimolazione della attività della DNA-PKcs e quindi della riparazione del DNA mediante inositolo-6 fosfato (IP6) è in grado di ripristinare il differenziamento delle NSC e quindi, potenzialmente, la neurogenesi.

Nel complesso questi risultati indicano che la stimolazione della riparazione del mtDNA potrebbe contrastare la tossicità indotta da beta-amiloide e suggeriscono la riparazione del mtDNA come potenziale target terapeutico per le malattie neurodegenerative e per la neurogenesi.

Neuroni chimicamente derivati da fibroblasti di pazienti affetti da demenza: nuovo modello per effettuare diagnosi differenziale

Le demenze hanno un impatto considerevole in termini socio-sanitari sia perché un sempre maggior numero di famiglie ne è drammaticamente coinvolto, sia perché richiedono una qualificata rete integrata di servizi sanitari e socio-assistenziali per poter essere fronteggiate.

Le demenze, inoltre, rappresentano una delle maggiori cause di disabilità nella popolazione generale, ed in quella anziana in particolare. In Italia, il numero totale dei pazienti con demenza è stimato in oltre un milione, mentre l'attuale numero di malati affetti da malattia di Alzheimer si aggira intorno ai 600.000. Secondo alcune proiezioni, questi numeri potrebbero raddoppiare nei prossimi 30 anni.

Attualmente per le demenze le terapie farmacologiche, riabilitative e psico-educazionali consentono di gestire al meglio la crescente disabilità fisica e cognitiva associata alla progressione della malattia, ma si è ancora molto lontani dal raggiungimento di una buona assistenza ai pazienti ed ai loro familiari. Poiché attualmente non sono conosciuti trattamenti terapeutici risolutivi, l'identificazione di nuove strategie terapeutiche in grado di prevenire/modificare il corso di tali patologie è attualmente uno dei maggiori obiettivi della ricerca. In questo contesto è di fondamentale importanza identificare biomarcatori e sviluppare test diagnostici per seguire il decorso della patologia e, eventualmente, l'efficacia di nuove terapie.

Sulla base dei dati precedentemente ottenuti, l'obiettivo del progetto è confermare che la riduzione e la diversa distribuzione intracellulare delle proteine del complesso della DNA-PK siano associate ad una riduzione dell'efficienza di riparazione dei danni del doppio filamento del DNA ((Double-Strand-Break -DSB)) ed una diminuzione delle cinetiche di riparazione dei DSBs in cellule di pazienti con malattia di Alzheimer (AD) rispetto a cellule di soggetti di controllo. L'obiettivo è quello di valutare il sistema di riparazione del DNA mediante Non Homologous End Joining (NHEJ) come possibili biomarcatori in neuroni umani chimicamente indotti (ciNs), derivanti da cellule somatiche mediante transdifferenziamento.

Le cellule neuronali umane indotte chimicamente, neuroni (ciNs) derivanti da fibroblasti di pazienti affetti da malattia di Alzheimer familiare (FAD) sono state preparate come descritto in Hu et al., 2015.

I livelli extracellulari dei conformeri di Abeta sono stati misurati attraverso saggio ELISA (Hu et al., 2015). Gli studi di cinetica di riparazione del DNA sono stati effettuati come riportato in Narciso et al., 2006.

Sono stati effettuati studi di cinetica di riparazione del DNA in colture neuronali chimicamente indotte, derivanti da pazienti FAD e soggetti di controllo. E' stato riscontrato che la riduzione e la diversa distribuzione intracellulare delle proteine del complesso della DNA-PK, precedentemente identificate, sono associate ad una riduzione dell'efficienza di riparazione dei danni del doppio filamento del DNA (DSBs) ed una diminuzione delle cinetiche di riparazione dei DSBs in cellule FAD rispetto a cellule di soggetti di controllo. I ciNs provenienti da pazienti FAD mostrano rispetto ai controlli un aumento dei foci di gamma H2AX (noto marker del danno del DNA), indicando un difetto di riparazione dei DSBs.

E' stata valutata la relazione causale tra l'accumulo di beta-amiloide e l'inibizione del sistema di riparazione del DNA in ciNs, derivanti da pazienti FAD e da soggetti di controllo, misurando i livelli extracellulari di beta-amiloide mediante saggio ELISA. I ciNs provenienti da pazienti FAD mostrano rispetto ai controlli una elevata produzione di beta-amiloide extracellulare che potrebbe essere responsabile, almeno in parte, della ridotta capacità di queste cellule di riparare i danni del DNA mediante il sistema DNA-PK-dipendente.

Questi studi hanno la potenzialità di valutare il sistema di riparazione del DNA mediante Non Homologous End Joining (NHEJ) in neuroni umani derivati da pazienti come possibile marcatore di patologia e inoltre di testare sostanze in grado di stimolare la riparazione del DNA nei ciNs come possibile approccio terapeutico per l'AD.

Laboratorio di Neurofisiologia Sperimentale

Analisi morfologica ed elettrofisiologica degli effetti neurodegenerativi dell'applicazione di alpha-sinucleina su colture neuronale animali e cellule staminali pluripotenti indotte (Induced Pluripotent Stem Cells- iPSCs)umane

La Malattia di Parkinson (MP) è una delle principali malattie neurodegenerative, caratterizzata bradicinesia, rigidità, tremore a riposo. Le caratteristiche neuropatologiche sono la progressiva perdita di neuroni dopaminergici nella Substantia Nigra pars compacta (SNc) e la presenza di inclusioni multiproteiche immunoreattive alla alpha-sinucleina (α -syn) denominati corpi di Lewy (LB) (Spillantini et al., Nature 1997).

Un problema irrisolto rimane la valutazione delle prime alterazioni sinaptiche (early) che possono intervenire sui neuroni nigrostriatali e che probabilmente sono causate dall'accumulo di α -syn. Per ottenere una migliore comprensione della sequenza patogenica di eventi che si verificano nella MP familiare e sporadica, un certo numero di modelli di roditori sono stati sviluppati negli anni passati. Purtroppo, la maggior parte dei modelli genetici in topi non presenta un fenotipo morfologico e comportamentale evidente (Dawson et al., Neuron 2010). Il gruppo dei ricercatori condotto dalla Professoressa Maria Grazia Spillantini nel 2006 ha sviluppato un modello transgenico overesprimente α -syn nella SNc di topo utile per valutare aspetti specifici della patogenesi della malattia (Tofaris et al., J Neurosci 2006). Recentemente il gruppo del laboratorio di Neurofisiologia Sperimentale ha studiato in vitro su fettine corticostriatali di topi α -syn le alterazioni specifiche della plasticità sinaptica striatale in diversi sottotipi neuronali nelle fasi iniziali della malattia (Tozzi et al., Biol Psychiatry 2015).

Nonostante la MP sia considerata un disordine sporadico, esistono sempre maggiori evidenze del link tra la MP e diverse alterazioni genetiche (Obeso et al., 2017). Nell'ultimo decennio, oltre all' α -syn, anche il gene LRRK2 ha attirato l'interesse della comunità scientifica perchè associato alle forme di Parkinson Late-Onset autosomiche dominanti. Mutazioni del gene LRRK2 sono presenti fino al 13% di MP familiare 1-2% di quelli sporadici (Berg et al., Brain 2005).

E' di notevole interesse che sia la proteina α -syn che l'attività LRRK2 siano implicate nella regolazione delle attività sinaptiche a livello delle spine dendritiche alterati nella MP, e potrebbero quindi rappresentare agenti molecolari target di possibili nuovi approcci terapeutici per la malattia.

E' stato ampiamente dimostrato dal nostro gruppo e da altri che l'accumulo di α -syn in vitro ed in vivo può portare ad alterazioni neurone specifico della plasticità sinaptica corticostriatale nelle fasi iniziali di malattia.

In questo studio ci si propone di comprendere a livello cellulare, mediante l'uso di diverse linee neuronali in coltura, i meccanismi molecolari, elettrofisiologici e morfologici alla base delle alterazioni causate da accumulo di α -syn o dalla manipolazione del gene LRRK2. Il progetto è diviso in due parti: uno studio su neuroni dopaminergici in colture immortalizzate e colture primarie di topo; e uno studio mediante cellule staminali pluripotenti indotte iPSCs da pazienti Parkinsoniani (Reinhardt et al., Plos-One 2013, Cell Stem Cell 2013).

Gli obiettivi del seguente progetto sono:

- 1) Studio delle alterazioni morfologiche e sinaptiche indotte dall'applicazione in vitro di α -syn, nelle diverse forme di aggregazione, monomeriche, oligomeri e protofibrille, su colture neuronali dopaminergiche immortalizzate e primarie.
- 2) Analisi elettrofisiologica e morfologica di colture primarie dopaminergiche di topi controllo e overesprimenti α -syn mediante applicazione a vari dosaggi di differenti forme di α -syn.
- 3) Studio delle alterazioni morfologiche ed elettrofisiologiche di neuroni in colture primarie di topi mutanti per LRRKs.
- 4) Studio elettrofisiologico di neuroni iPSCs derivanti da pazienti MP con e senza mutazioni LRRKs.
- 5) Misurazioni della concentrazione di dopamina, prima e dopo l'incubazione con α -syn, sia su colture primarie dopaminergiche che in iPSCs con diverse mutazioni LRRKs.

Si intende procedere con:

- 1) Messa a punto colture neuronali stabilizzate e primarie di topo
- 2) Analisi morfologica di base
- 3) Analisi elettrofisiologica di base mediante registrazioni Patch-clamp whole cell (proprietà di firing, attività sinaptica, analisi canali NMDA/AMPA, Ca²⁺ e Na⁺ dipendenti) in colture dopaminergiche con e senza diverse concentrazioni di α -syn.
- 4) Analisi elettrofisiologica neuroni dopaminergici con mutazioni LRRKs e interazioni con α -syn.
- 5) Analisi morfologica dei neuroni sIPSC da pazienti MP con mutazioni LRRKs.

Sono state messe a punto le colture neuronali primarie di topo. E' stato messo a punto un metodo ottimale per l'allestimento di colture neuronali primarie partendo da tessuto cerebrale mesencefalico di embrioni di topi CD1, in collaborazione con l'IBCN-CNR "A. Buzzati-Traverso", Monterotondo (Roma) (n° protocollo 446/2015PR). In questa prima fase sperimentale ci si è occupati soprattutto di individuare i giusti time-points per ottenere le condizioni ideali per condurre gli studi elettrofisiologici e morfologici prefissati nelle colture primarie mesencefaliche. Nuovi accorgimenti, per migliorare le metodologie utilizzate, sono stati adottati durante la sperimentazione.

I Fase – Accoppiamento

Sono state predisposte due gabbie di accoppiamento (per ciascuna un maschio e due femmine), ad intervallo quindicinale. Per il corretto calcolo dei giorni embrionali, si è scelto di lasciare in accoppiamento i topi, per circa 12 ore (dalla sera alla mattina successiva), trascorse le quali le femmine sono state separate dal maschio. Al 10° giorno dall'accoppiamento, tramite palpazione ed osservazione, sono state individuate le femmine gravide. La mattina successiva all'accoppiamento è stata definita come E0 (giorno embrionale 0). Al momento della palpazione i giorni embrionali saranno E10; mentre per il prelievo degli embrioni si dovrà attendere E13.

II Fase – Protocollo dissezione di tessuto embrionale mesencefalico

Ad E13 gli embrioni, sono stati sottoposti al prelievo del mesencefalo, che è stato successivamente conservato in soluzione HBSS (Invitrogen, 24020-091, Gibco 24020; due campioni per falcon da 15ml).

III Fase – Protocollo per la Preparazione di Cellule primarie mesencefaliche attraverso digestione enzimatica

- Aspirato l'HBSS i mesencefali sono stati incubati in una soluzione enzimatica (Cystein 2mg, DMEM 10ml, CaCl₂ 100mM, EDTA 50mM, Papain e DNAsi 100x), per 15-20 minuti a 37°C all'interno di un incubatore (5% di CO₂).
- Successivamente, è stata effettuata dissociazione tissutale meccanica, ed in seguito è stato prelevato il surnatante, eliminando quindi il tessuto non dissociato. Sono stati centrifugati i campioni per 5 minuti a 200rpm.
- Dopo aver aspirato la soluzione enzimatica, è stata aggiunta una soluzione inattivante (Albumin 25mg, Trypsin-Inhibitor 25mg, FCS-Medium al 10% e DNAsi 100x), dissociato ulteriormente il pellet e lasciato riposare per 15-20 minuti a 37°C (5% di CO₂) in un incubatore e successivamente centrifugato nuovamente per 5 minuti a 200rpm.
- A questo punto, la soluzione inattivante è stata aspirata e i pellet sono stati risospesi in una soluzione di lavaggio (DMEM, FBS al 10% e DNAsi). Anche in questo caso il pellet è stato dissociato e centrifugato per 5 minuti a 200rpm.
- Aspirata la soluzione di lavaggio, sono stati aggiunti 2ml di mezzo DMEM/F12, (contenente Glutamax 1x, Pen/Strep 1x, B27) per ogni falcon ed è stato nuovamente attuato il passaggio di dissociazione tissutale.
- I campioni cellulari, così ottenuti, sono stati piastrati su vetrini copri oggetto (12mm Ø) polilisinati (polilisin 15ug/ml in H₂O, lasciata a riposo per un'ora a 37°C) in una multiwell da 24. La piastra è stata quindi incubata a 37°C (5% di CO₂) all'interno di un incubatore.
- Il mezzo cellulare DMF12 è stato cambiato il giorno dopo e ogni due giorni per 14 giorni.

IV Fase – Osservazione Colture Cellulari

Al 7°, al 10° e al 14° giorno delle colture cellulari, sono state osservate le cellule al microscopio (Olympus IX2-SLP, obiettivo 20x) per verificare la confluenza cellulare. In questa fase è stata valutata la variabilità di crescita cellulare in base al numero di cellule che è stato piastrato, in modo da scegliere i vetrini con una confluenza cellulare adatta per gli esperimenti di elettrofisiologia e di morfologia. Durante le prime osservazioni, però, alcuni di essi sono risultati più confluenti rispetto ad altri, si è quindi deciso di suddividere tutti i campioni in due gruppi (vetrini con colture più confluenti vs. vetrini meno confluenti).

V Fase – Esperimenti di Elettrofisiologia

Per effettuare le prime analisi elettrofisiologiche sono stati scelti diversi time-points per la loro valutazione a 7, 10 e 14 giorni. Per ogni singola coltura neuronale le procedure sono state le stesse: il vetrino copri oggetto, su cui erano stati piastrati i neuroni, è stato rapidamente rimosso dalla multiwell e posto nella cameretta di registrazione, costantemente perfuso con liquido cerebrospinale sintetico (ACSF) e mantenuto a 32-34°C. L'elettrodo di registrazione è stato riempito con una soluzione intracellulare (120 K β -gluconate, 0.1 CaCl₂, 2 MgCl₂, 0.1 EGTA, 10 HEPES, 0.3 Na-GTP, and 2 Mg-ATP portato a pH 7.3 con KOH). Per le prove di registrazione di patch-clamp whole cell è stato utilizzato l'amplificatore Multiclamp 700B. Tutti i campioni osservati di entrambi i gruppi (vetrini con colture più confluenti vs. vetrini meno confluenti), sin dal 7° giorno in coltura, si sono rivelati essere troppo confluenti per completare una registrazione di patch-clamp. Si è osservata una diffusa morte cellulare ed una mancata maturazione neuronale, completa e diffusa, molto probabilmente dovuta all'eccessiva confluenza. Erano, infatti, presenti agglomerati di cellule indifferenziate pluristratificate. Ogni tentativo di registrazione è stato vanificato dall'instabilità dell'ancoraggio dei neuroni al substrato e dallo stato di salute stessa delle cellule. Si è quindi deciso di ridurre il numero di cellule piastrate. Questa attività sperimentale iniziale, anche se non ha prodotto per le ragioni addotte, risultati concreti, ha permesso di testare protocolli e parametri di registrazione.

VI Fase – Esperimenti di Morfologia

Le cellule in coltura, piastrate su vetrini copri oggetto, sono state fissate con una soluzione di Paraformaldeide al 4% a diversi time-points (7°, 10° e 14° di coltura) e sono stati incubati con i diversi anticorpi primari ed in seguito con gli opportuni anticorpi secondari, mentre i nuclei sono stati contromarcati con DAPI. Gli anticorpi primari utilizzati sono i seguenti: TUJ1 (class III- β -tubulin), Dcx (Doublecortin), e Map2 che rappresentano specifici marker neuronali. Inoltre, per discriminare la popolazione neuronale che caratterizzava le colture primarie allestite sono state effettuate immunofluorescenze con i seguenti anticorpi: tirosina idrossilasi (TH) (neuroni dopaminergici), GAD67 (neuroni GABAergici), Chat (interneuroni Cholinergici), vGLUT (neuroni Glutammatergici), TPH e/o SERT (neuroni Serotoninergici) (Hu et al., 2015). Queste valutazioni morfologiche di marcatori neuronali e neurotrasmettitoriali sono state effettuate per capire e analizzare meglio gli esperimenti di elettrofisiologia condotti di pari passo ed agli stessi time-points; inoltre forniranno informazioni utili per le fasi successive del progetto mediante incubazione dei neuroni con α -syn in forma monomeric, oligomeric e protofibrillare, per valutare i meccanismi molecolari e sinaptici sottostanti il danno causato da questa proteina.

Ultimata questa prima fase di messa a punto delle condizioni ottimali sia per le registrazioni elettrofisiologiche di neuroni mesencefalici in coltura che per l'analisi morfologica (Punti 1 e 2 delle expected activities), si passerà alla applicazione in vitro di diverse forme conformazionali di proteina α -syn per studiare le proprietà elettrofisiologiche dei neuroni in assenza e presenza di danno neurodegenerativo causato dalla proteina misfolded. L'analisi elettrofisiologica sarà accompagnata da una dettagliata analisi morfologica che aiuterà a capire come e dove il danno da accumulo di α -syn andrà a concentrarsi.

Laboratorio di Biochimica dell'Invecchiamento

Identificazione di determinanti cellulari e molecolari di malattia o di risposta alle terapie in modelli di patologie degenerative

Il tessuto adiposo rappresenta un organo centrale nella regolazione metabolica dell'omeostasi energetica di tutto l'organismo. Morfologia e ruolo metabolico sono alla base della diversa denominazione del tessuto adiposo bianco e del bruno. Il primo altamente ricco in trigliceridi funziona principalmente da deposito e, in seguito a richiesta di energia, fonte di acidi grassi per gli altri tessuti; il secondo, utilizza gli acidi grassi per regolare la temperatura, dissipando energia. Inoltre, gli adipociti hanno funzione endocrina sintetizzano ormoni, citochine e adipochine in grado di regolare il bilancio energetico a livello sistemico, integrando segnali multidirezionali tra il sistema nervoso centrale e gli organi periferici. Queste funzioni sono correlate a una dinamica capacità del tessuto adiposo di rimodellare la grandezza, il numero e il tipo di adipociti in risposta alla richiesta metabolica, anche grazie ad un'attiva presenza di cellule staminali adipocitarie. Pertanto, alterazioni dell'omeostasi del tessuto adiposo possono risultare in dis-metabolismo energetico dell'intero organismo attraverso diversi meccanismi:

- a. aumento/diminuzione dell'attività termogenica del tessuto adiposo bruno che risulta in variazioni della spesa energetica;
- b. aumento della differenziazione del tessuto adiposo bianco in bruno;
- c. alterato potenziale differenziativo delle cellule staminali in adipociti;
- d. alterata produzione di ormoni, citochine e adipochine.

Recentemente, il ruolo dell'omeostasi del tessuto adiposo è stato ridisegnato e reinterpretato dalla scoperta di nuovi mediatori della segnalazione specialmente da/verso il sistema nervoso centrale e da/verso il tessuto muscolare. Queste ricerche aprono nuove prospettive terapeutiche per la cura e la riabilitazione di diverse patologie, alcune strettamente connesse con il metabolismo lipidico (metaboliche, cerebrovascolari, cronico degenerative dell'apparato cardiovascolare), altre inesplorate sotto questo aspetto (neurodegenerative, neuromotorie) ma fortemente connesse con alterazioni del metabolismo energetico a livello sistemico.

Si intende effettuare uno studio delle alterazioni dell'omeostasi del tessuto adiposo e ricadute metaboliche sulla bioenergetica, stress ossidativo e infiammazione di tessuti periferici

Ci si aspetta di individuare nuove prospettive terapeutiche per la cura e la riabilitazione di diverse patologie alcune strettamente connesse con il metabolismo lipidico (metaboliche, cerebrovascolari, cronico degenerative dell'apparato cardiovascolare), altre inesplorate sotto questo aspetto (neurodegenerative, neuromotorie) ma fortemente connesse con alterazioni del metabolismo energetico a livello sistemico.

Il progetto di ricerca è altamente innovativo in quanto, ad esempio, le malattie neurodegenerative sono spesso associate a perdita della massa grassa oltre alla massa muscolare; tuttavia gli aspetti correlati alla perdita o al malfunzionamento del tessuto adiposo sono solo marginalmente studiate o completamente inesplorate.

Relativamente alla metodologia, nello studio sono utilizzate cellule dopaminergiche di neuroblastoma umano SH-SY5Y, preadipociti (3T3-L1) e mioblasti murini (C2C12). Le cellule sono trattate con tossine mitocondriali ampiamente impiegate nei modelli sperimentali di PD (rotenone, MPTP, 6-OHDA) oppure over-esprimono la proteina SOD1 mutata responsabile delle forme familiari di SLA.

Per mimare il regime di restrizione calorica, è 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 proteine target in dipendenza del modello sperimentale (ad esempio, ATGL, NAT8L, SOD1 wt e mutata)

Modelli in vivo: Topi C57BL/6 WT, topi KO per ATGL, topi transgenici alpha-synA53T per PD, SOD1-G93A per SLA e trattati per indurre encefalomielite autoimmune sperimentale (EAE) per studi di SM.

Trattamenti: Rotenone (tossina PD), Dieta ad alto contenuto di grassi a catena corta o ricca in piruvato, restrizione calorica, EAE.

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. Determinazione di NAA tramite HPLC. Metodi genetici: genotipizzazione (SNPs). Biologia cellulare: microscopia confocale, citofluorimetria. Analisi istologiche. Lipidomica e trascrittomica di diversi tessuti in relazione al tipo di neurodegenerazione e di trattamento.

Laboratorio di Elettrofisiologia

Valutazione degli effetti della stimolazione magnetica neuromuscolare sul deficit muscolare in pazienti con Sclerosi Laterale Amiotrofica(SLA)

La SLA è una patologia caratterizzata da progressiva degenerazione dei motoneuroni che portano i pazienti ad atrofia muscolare e morte per insufficienza respiratoria. Uno dei meccanismi biologici principali presenti nella SLA è la perdita di una efficace connessione tra muscolo e nervo. Da anni infatti, è motivo di discussione se la denervazione muscolare preceda la morte neuronale o se l'atrofia muscolare derivi dalla degenerazione del motoneurone e degli assoni. Tuttavia, indipendentemente dal fatto che si verifichi presto o tardi nella malattia, la denervazione muscolare e l'alterazione della giunzione neuromuscolare sono caratteristiche ineluttabili della progressione della malattia della SLA (Palma et al., 2011).

È stato precedentemente riportato che l'espressione muscolare di un gene mutante SOD1 induca atrofia muscolare, significativa riduzione della forza muscolare, disfunzione mitocondriale, microgliosi (Dobrowolny et al., 2008) e degenerazione neuronale (Wong e Martin 2010), suggerendo che i segnali retrogradi dal muscolo al nervo possono contribuire al danno assonale. Il muscolo scheletrico è anche una fonte di segnali che influenzano la sopravvivenza del neurone, la crescita assonale e il mantenimento delle connessioni sinaptiche (Musrò, 2012). Inoltre, precedenti lavori del gruppo di ricerca su muscoli di pazienti SLA hanno evidenziato che i recettori dell'acetilcolina (AChR) sono meno sensibili al neurotrasmettitore di quelli presenti in muscoli di controllo da pazienti con denervazione da trauma (Palma et al., 2011). Questo suggerisce che il muscolo scheletrico è un importante obiettivo per l'intervento terapeutico (Loeffler et al., 2016; Palma et al., 2016) e mantenere il muscolo forte e attivo potrebbe aiutare a funzionare meglio di fronte ad un ridotto input del motoneurone.

Il sistema neuromuscolare può essere stimolato artificialmente dall'esterno, attraverso l'applicazione di campi elettrici, che possono essere applicati direttamente da una stimolazione elettrica (ES) o indotti da campi elettromagnetici. L'ES, se pur efficace nel migliorare la massa e la funzione muscolare negli anziani e nei muscoli denervati, presenta aspetti negativi in quanto attiva vie nocicettive che potrebbero causare dolore e aumentare la spasticità del paziente. Pertanto, è stata proposta la stimolazione magnetica neuromuscolare (NMMS) come tecnica alternativa, non invasiva, all'ES in grado di generare campi elettromagnetici che possono penetrare nei tessuti ad alta resistenza e stimolare il muscolo in profondità.

L'ipotesi del "dying back" afferma che nella SLA anche segnali provenienti dal muscolo potrebbero contribuire alla degenerazione motoneuronale e si contrappone, e complementa, l'ipotesi più classica secondo la quale la morte dei motoneuroni indurrebbe una degenerazione del muscolo.

Nel presente progetto si è indagato più a fondo come fattori muscolari siano alterati nella ALS con il fine di aggiungere importanti pezzi al puzzle del dying back. In particolare, si valuta quali siano gli effetti della stimolazione magnetica sui vari determinanti molecolari ed elettrofisiologici della

normale fisiologia muscolare, come fattori di trascrizione o anabolizzanti ed il recettore dell'acetilcolina.

Ciò permette di valutare se un intervento terapeutico che sia mirato direttamente al muscolo possa avere effetti di "saving-back" ovvero migliorare la funzione dei motoneuroni a monte.

Il significato di questo approccio va individuato sia nella ricerca di una migliore comprensione dei fattori muscolari che concorrono allo sviluppo della SLA sia alla ricerca di nuovi bersagli terapeutici in un tessuto, quello muscolare, che potrebbe avere un ruolo non solo nella patogenesi, ma anche nel trattamento di questa grave patologia neurodegenerativa.

Gli obiettivi del progetto sono quelli di indagare gli effetti della stimolazione magnetica sul muscolo dei pazienti SLA sotto vari aspetti:

- **Funzionale:** Indagare se la stimolazione magnetica sia in grado di aumentare la forza muscolare nei pazienti attraverso una valutazione degli arti superiori in base alla scala Medical Research Council (MRC) (prima del protocollo di stimolazione, alla fine e 30 giorni dopo) e l'uso del dinamometro a mano. Questa parte del progetto è stata fatta in collaborazione con il Centro SLA del Policlinico Umberto I di Roma. Ogni paziente è stato sottoposto ad un'agobiopsia del muscolo che ha ricevuto il trattamento di NMMS e del muscolo controlaterale di controllo al fine di svolgere un'analisi dettagliata dal punto di vista:
- **Elettrofisiologico:** Studiare se la NMMS possa indurre modificazioni (es: ampiezza della corrente, decadimento, affinità per il neurotrasmettitore) che possano influenzare la funzionalità del recettore dell'Acetilcolina in quanto il gruppo di ricerca ha precedentemente dimostrato che i recettori nicotinici muscolari di pazienti SLA hanno caratteristiche elettrofisiologiche differenti dai muscoli con denervazione da trauma.
- **Istologico:** Analizzare se la NMMS possa indurre cambiamenti sul grado di atrofia muscolare e sulla composizione del tipo di fibre in quanto una delle caratteristiche dei muscoli di pazienti SLA è la modifica della fibra muscolare con una perdita selettiva della fibra a contrazione rapida. Questa parte del progetto è stata svolta in collaborazione con l'Università Sapienza di Roma.
- **Molecolare:** Valutare attraverso un'analisi di Real Time Polymerase Chain Reaction(RT-PCR) eventuali cambiamenti nei livelli di mRNA di un gruppo selezionato di geni coinvolti nella crescita e plasticità muscolare in campioni trattati con NMMS e nei controlli. L'attenzione è stata posta su due fattori principali: il fattore di crescita insulino-simile IGF-1, coinvolto nella stimolazione della crescita muscolare e la Miostatina che invece la inibisce. Questa parte del progetto è stata sviluppata in collaborazione con l'Università Sapienza di Roma

Questo progetto vuole fornire nuove evidenze scientifiche riguardo l'impiego della NMMS nel trattamento della SLA. Con questo progetto ci si prefigge di ottenere sia dati oggettivi sugli effetti della stimolazione magnetica direttamente sul paziente SLA, sia un'analisi dettagliata dei meccanismi fisiologici e molecolari che possono attivarsi nel tessuto muscolare di questi pazienti in seguito al trattamento. Essendo il deficit di forza uno degli aspetti più invalidanti, ci si aspetta, in primis, di ottenere un aumento della funzionalità manuale del braccio stimolato e che questo effetto si protragga nel tempo. Inoltre, ci si aspetta che i dati clinici siano poi supportati dall'analisi molecolare e fisiologica che metta in luce l'attivazione di circuiti locali in grado di attenuare la debolezza muscolare migliorando così la qualità della vita. L'idea principale è quella di proporre la NMMS come un nuovo trattamento terapeutico in grado di stabilizzare la giunzione neuromuscolare, preservare la composizione del tipo di fibra e possibilmente prevenire l'atrofia muscolare nonché la progressione della malattia.

La migliore comprensione del modello del dying-back e quindi del ruolo attivo del muscolo nella patogenesi della SLA permetterà di aprire nuove prospettive sullo studio di questa patologia neuromuscolare. Ad esempio, qualora i risultati dovessero essere confermati, la stimolazione magnetica ed altre eventuali terapie bersaglianti direttamente il tessuto muscolare potrebbero essere più rapidamente considerate per la pratica clinica.

Inoltre, il progetto si dimostra innovativo anche perché non ricorre all'uso di modelli animali ma si è servito direttamente di tessuti muscolari umani raccolti da un gruppo di pazienti in trattamento presso il centro SLA del policlinico Umberto I. Questa collaborazione ha consentito di raccogliere un significativo numero di tessuti che ha permesso di effettuare diversi studi molecolari ed elettrofisiologici, affiancati alle costanti valutazioni cliniche.

Questo approccio traslazionale costituisce un valore aggiunto dello studio e ha permesso di ottenere risultati facilmente traslabili alla pratica clinica.

I tessuti muscolari di pazienti affetti da SLA sono stati prelevati presso il Centro SLA del Policlinico Umberto I di Roma e il loro uso è stato regolarmente autorizzato dalla Commissione Etica dell'Università Sapienza di Roma. Sono stati inclusi pazienti a partire dai 18 anni di età che presentavano una diagnosi di probabile o definita SLA ad esordio spinale secondo i criteri elettrodiagnostici (de Carvalho et al., 2008), un moderato grado di atrofia muscolare e deficit muscolare simmetrico bilaterale nel muscolo flessore radiale del carpo o muscolo flessore profondo delle dita definito da un punteggio MRC della scala muscolare di 3-4 /5.

I pazienti sono stati divisi in due gruppi: un primo gruppo ha ricevuto una stimolazione magnetica reale (rNMMS) del braccio destro e una stimolazione sham (sNMMS) del braccio sinistro mentre il secondo gruppo ha ricevuto una rNMMS del braccio sinistro e una sNMMS del braccio destro. Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad uno studio di conduzione nervosa (NCS) e un esame clinico che ha incluso un test di resistenza all'impugnatura per la misura della forza isometrica massima dei muscoli dell'avambraccio. Alla fine della stimolazione, è stata effettuata un'agobiopsia bilaterale del muscolo flessore radiale del carpo su cui sono stati effettuati studi elettrofisiologici, istologici e molecolari.

NMMS

Tutti i pazienti hanno ricevuto stimolazioni magnetiche per cinque giorni a settimana per due settimane consecutive. Le rNMMS sono state effettuate tramite uno stimolatore magnetico ad alta frequenza (Magstim Rapid - The Magstim Company Ltd., Whitland, South West Wales, Regno Unito) collegato ad una spirale raffreddata circolare posta sopra i muscoli flessori dell'avambraccio mentre le sNMMS con una bobina fittizia che produce simili sensazioni acustiche e percezioni meccaniche della pelle.

Analisi istologica

Le biopsie del muscolo flessore del carpo sono state effettuate sul braccio stimolato rNMMS e sul braccio controlaterale non trattato (sNMMS) di pazienti con SLA. Le biopsie sono state eseguite immediatamente dopo il protocollo di 2 settimane con NMMS e congelate in azoto liquido. Successivamente sono state effettuate sezioni da 5 μ m di ciascuna biopsia e colorate con Ematossilina ed Eosina (HE) per le analisi morfologiche e nuovamente immunocolorate con anticorpi miosina veloce, lenta e fetale (Novocastra, MI, Italia) per valutare la distribuzione dei tipi di fibre.

Preparazione dell'RNA e RT-PCR.

L'RNA totale (1 μ g) da biopsie muscolari umane è stato isolato attraverso il TRIzolTM (Thermo Fisher Scientific) e retrotrascritto utilizzando il Kit di trascrizione inversa QuantiTect Kit (Quiagen). La PCR quantitativa è stata eseguita utilizzando l'ABI PRISM 7500 SDS (Thermo Fisher Scientific), Taqman universale è stato normalizzato per l'espressione di GAPDH e U6 snRNA rispettivamente per mRNA e microRNA.

Elettrofisiologia

Preparazione di membrane:

Le membrane sono state preparate come descritto precedentemente (Palma E, et al. 2011). Circa 0.1-0.5 gr di tessuto congelato è stato omogeneizzato 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 una 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 ovociti le correnti totali con la tecnica del voltage-clamp intracellulare con due elettrodi (3 M KCl) come descritto precedentemente (Palma et al., 2011).

Per lo sviluppo di questo progetto sono stati arruolati 22 pazienti con SLA ad esordio spinale a cui è stata eseguita una stimolazione magnetica muscolare su un braccio (rNMMS) ed una finta stimolazione sul braccio opposto (sNMMS). Questa stimolazione è stata fatta per due settimane consecutive e ha dato i seguenti risultati:

I pazienti sono stati sottoposti ad una valutazione degli arti superiori in base alla scala MRC (prima del protocollo di stimolazione, alla fine e 30 giorni dopo) e all'uso del dinamometro a mano. I test statistici hanno mostrato un significativo effetto della NMMS sulla scala MRC, dimostrando così che la stimolazione magnetica neuromuscolare era in grado di aumentare la forza muscolare nei muscoli flessori dell'avambraccio.

Sono state effettuate biopsie del muscolo flessore del carpo sul braccio stimolato e sul braccio controlaterale non trattato di pazienti affetti da SLA. Ciò ha permesso di ottenere i seguenti risultati:

- Grazie al tessuto muscolare di questi pazienti è stato possibile iniziare una caratterizzazione elettrofisiologica del recettore dell'Acetilcolina presente nel muscolo stimolato e confrontarlo con recettori il cui muscolo aveva ricevuto una finta stimolazione. E' stata individuata una più ampia corrente evocata dall'acetilcolina nel muscolo stimolato rispetto al non trattato, supportando così l'idea che questo trattamento possa aumentare la funzionalità di questo recettore. Ulteriori studi con il proseguo di questo progetto forniranno maggiori informazioni riguardo le caratteristiche elettrofisiologiche che possano ulteriormente aiutare a comprendere se la stimolazione magnetica possa influenzare l'attività muscolare.
- E' stata effettuata un'analisi di real-time PCR (RT-PCR) per quantificare alterazioni nei livelli di mRNA di un gruppo selezionato di geni coinvolti nella crescita muscolare e nella plasticità in entrambi i campioni di rNMMS e sNMMS di 7 pazienti. E' stato analizzato il fattore di crescita 1 insulino-simile (IGF-1) e la miostatina che sono fattori chiave coinvolti negli adattamenti dei muscoli scheletrici svolgendo ruoli opposti nel regolare la dimensione del muscolo scheletrico.

Non è stata individuata alcuna differenza significativa nei livelli di espressione di IGF-1 o miostatina, suggerendo quindi che l'azione trofica della rNMMS agisce con percorsi alternativi.

Nel proseguo del progetto si intende studiare ulteriori fattori coinvolti nell'atrofia muscolare, quali MAFbx/atrogin-1 e MuRF-1 con l'intento di analizzare ulteriori possibili vie su cui possa agire la stimolazione magnetica contrastando così i processi di atrofia.

Infine con il proseguo del progetto si analizzerà se la NMMS possa indurre cambiamenti sul grado di atrofia muscolare e sulla composizione del tipo di fibre. Ci si aspetta di ottenere un'analisi dettagliata dei parametri istomorfometrici dei muscoli di pazienti SLA che possa fornire ulteriori informazioni riguardanti il possibile uso della stimolazione magnetica per la cura di questa patologia.

La rilevanza traslazionale è garantita dall'approccio multidisciplinare che caratterizza questo progetto. Lo studio infatti ha arruolato un pool di pazienti in costante osservazione clinica che sono stati sottoposti a biopsie ai fini di effettuare, con il tessuto prelevato, esperimenti di biologia molecolare, istologia ed elettrofisiologia.

Questo approccio ha permesso di avvicinare la ricerca di base alla pratica clinica ottenendo quindi dei risultati che tenessero in considerazione le reali necessità dei pazienti. Ciò rispetta l'esigenza del sistema sanitario nazionale di usufruire di risultati di ricerche che siano utilizzabili nel trattamento dei pazienti nel breve-medio termine, supportate da studi solidi ed ovviamente effettuati sull'umano.

La sindrome di Dravet è una rara forma di encefalopatia epilettica della quale l'insorgenza è stimata in circa 1:15000-20000 nuovi nati (Wu et al., 2015). La causa di questa patologia viene individuata in diverse mutazioni a carico del gene SCN1A, codificante per la subunità $\alpha 1$ del canale del sodio voltaggio-dipendente (Steel et al., 2017). Tuttavia diverse recenti evidenze lasciano supporre che anche altri fattori coinvolti nella neurotrasmissione centrale siano implicati nella patogenesi di questa sindrome. In particolare la trasmissione GABAergica sembra avere un ruolo significativo nella sindrome di Dravet e ciò è confermato da recenti studi che hanno messo in evidenza come mutazioni anche a carico di alcune subunità del recettore GABAA possano determinare un fenotipo simile a quello che si riscontra nei casi "classici" con mutazioni SCN1A (Steel et al 2017). Inoltre la pratica clinica suggerisce anche che alcuni farmaci GABAergici, primo tra tutti lo stiripentolo, siano particolarmente efficaci nel trattamento di questa sindrome, lasciando supporre che un recupero della funzione dei recettori del GABA possa essere importante ai fini della risoluzione dei sintomi (Chiron, 2011).

L'importanza della neurotrasmissione GABAergica nelle patologie che, come nel caso della sindrome di Dravet, sono caratterizzate da forti alterazioni del neurosviluppo è data soprattutto dallo stretto legame esistente tra la funzione della neurotrasmissione inibitoria e la neurogenesi nei suoi stadi precoci (REF).

È dimostrato infatti che alcuni switch molecolari, come ad esempio una espressione differenziale delle subunità α del recettore GABAA e l'espressione tempo-dipendente di alcuni trasportatori del cloro (NKCC1 e KCC2), determinano un cambiamento delle risposte elettrofisiologiche del recettore GABAA, evento cruciale per la maturazione dell'intero sistema nervoso (Pallotto and Deprez 2014).

Nonostante queste evidenze siano solide, il loro significato fisiopatologico nella sindrome di Dravet è ancora parzialmente sconosciuto e di certo una migliore conoscenza delle alterazioni funzionali e molecolari che caratterizzano il recettore GABAA in questa sindrome potrebbe essere risolutiva ai fini dell'identificazione di nuovi bersagli farmacologici e strategie terapeutiche.

Allo stato attuale della conoscenza, infatti, il trattamento è basato prevalentemente sul controllo dei sintomi legati alle frequenti crisi epilettiche e non sempre questa strategia permette un efficace recupero delle funzioni cognitive superiori, soprattutto a causa della forte farmacoresistenza che caratterizza questi pazienti (Sinoo et al., 2018).

La prospettiva di questa ricerca mira alla migliore comprensione dei meccanismi fisiopatologici di base che contribuiscono all'alterazione del neurosviluppo nella sindrome di Dravet e ad individuare nuovi bersagli terapeutici che qualora corretti farmacologicamente possano non solo contribuire alla risoluzione dei sintomi, ma anche determinare un migliore sviluppo dell'intero sistema nervoso

Il presente studio mira a studiare la funzione GABAergica nei tessuti di pazienti affetti da sindrome di Dravet per identificare alterazioni patologiche correlabili ad un ritardo della maturazione della neurotrasmissione.

Precedenti studi condotti sia dal gruppo del laboratorio di Elettrofisiologia che da altri autori (Ben Ari et al., 2012) hanno descritto come nel corso dello sviluppo il recettore GABAA subisca una progressiva maturazione per raggiungere nell'età adulta la sua funzione più nota, ovvero quella di principale agente della neurotrasmissione inibitoria nel sistema nervoso adulto.

Durante la neurogenesi però la trasmissione GABAergica possiede, nelle fasi più precoci, una funzione "parzialmente depolarizzante" che sembra essere di fondamentale importanza per la corretta maturazione del sistema nervoso e per le fasi iniziali della sinaptogenesi (Kaila et al., 2014).

Questa progressione nello sviluppo della neurotrasmissione GABAergica sembra non giungere a compimento in diverse patologie del neurosviluppo, nelle quali si riscontrano diverse caratteristiche legate alla funzione elettrofisiologica del recettore GABAA che rimangono simili a quelle tipiche di un cervello immaturo.

La ricerca si basa sulla possibilità di identificare le caratteristiche elettrofisiologiche e molecolari che determinano l'alterazione del recettore GABAA nelle patologie del neurosviluppo, in modo da poter successivamente intervenire su di esse tramite farmaci che siano mirati a fare il loro effetto sui recettori "immaturi". Questo potrebbe non solo curare i sintomi e migliorare la situazione di "farmacoresistenza" dei pazienti, ma anche favorire un migliore neurosviluppo.

Risultati incoraggianti a questo proposito sono già stati ottenuti su modelli animali, nei quali si è osservato che una correzione precoce di alcune alterazioni a carico della neurotrasmissione inibitoria determina outcome migliori nel lungo termine per quanto riguarda l'esecuzione di task cognitivi.

Se la conoscenza dettagliata della fisiologia del neurosviluppo portasse a prospettive simili anche nell'uomo si potrebbero aprire nuove strade per il trattamento di questi pazienti.

Lo scopo di questo progetto è stato quello di:

1. Caratterizzare le correnti GABAergiche in tessuti di pazienti con sindrome di Dravet e confrontarli con tessuti di pazienti non epilettici di età paragonabile. Verrà analizzata l'ampiezza di corrente, il suo decadimento, l'affinità per il neurotrasmettitore e la sensibilità a vari modulatori dell'attività di recettori GABAA extrasinaptici al fine di comprendere se la trasmissione inibitoria tonica possa essere alterata in questi pazienti.
2. Misurare il potenziale di inversione del GABA (EGABA) in pazienti Dravet e confrontarla con quello ottenuto in tessuto di pazienti non epilettici al fine di comprendere se un'alterata omeostasi del cloro possa essere uno dei meccanismi alla base dell'insorgenza delle crisi epilettiche in questi pazienti.
3. Analizzare l'espressione dei trasportatori del cloro NKCC1 e KCC2 nei tessuti di pazienti Dravet, qualora trovassimo valori di EGABA anomali. Questa parte del progetto sarà svolta in collaborazione con la Dr.ssa Eleonora Aronica del Dipartimento di Neuropatologia dell'Università di Amsterdam.
4. Testare sia farmaci usati per pazienti con epilessia farmacoresistente (da soli o in associazione) sia il cannabidiolo, nuovo composto derivato della cannabis al fine di indagare loro possibili effetti nella modulazione del recettore GABAA nel tessuto di pazienti con sindrome di Dravet.

La tecnica del microtrapianto di membrane umane in oociti di *Xenopus* permette lo studio delle proprietà elettrofisiologiche del recettore GABAA in tessuti umani con patologie rare e di poterli confrontare con tessuti di controllo.

Con questo progetto ci si prefigge in primis di studiare la trasmissione GABAergica in pazienti con sindrome di Dravet, in modo da individuare ulteriori meccanismi alla base della ridotta efficacia inibitoria nel cervello di questi pazienti. In particolare ci si aspetta di ottenere:

- Una caratterizzazione elettrofisiologica delle correnti GABAergiche di pazienti con sindrome di Dravet in modo da valutare la natura più o meno inibitoria del GABA in questi tessuti.
- Una comparazione dei valori di EGABA con quelli trovati nei pazienti di controllo che possa aiutare ad comprendere, almeno in parte, uno dei meccanismi alla base dell'insorgenza delle crisi epilettiche in pazienti affetti da questa patologia.
- Un'analisi approfondita dell'espressione dei trasportatori del cloro NKCC1 e KCC2 nei tessuti Dravet. Qualora fosse confermata la nostra ipotesi di un'alterata funzionalità dei due trasportatori in questi pazienti, ciò aprirebbe la strada a cure farmacologiche che prevedano il ripristino di NKCC1 e KCC2 alle loro condizioni fisiologiche.
- Una chiara evidenza degli effetti di farmaci che abbiano effetto sul potenziamento della trasmissione GABAergica e che siano in grado di agire sulle configurazioni recettoriali di maggiore rilevanza fisiopatologica nelle epilessie farmacoresistenti come punto di partenza per nuovi approcci terapeutici.

L'innovazione in questo tipo di approccio sta nella possibilità di studiare recettori funzionali estrapolati direttamente da tessuti di pazienti affetti da sindrome di Dravet. Ciò è di solito di difficile attuazione in patologie come questa nelle quali non esistono significative quantità di

tessuto che possono essere usate a fini di ricerca. Normalmente infatti eseguire studi elettrofisiologici su questi tessuti risulta tecnicamente difficile se non impossibile a causa della scarsità di interventi chirurgici che vengono eseguiti su pazienti affetti da encefalopatie, nelle quali non è possibile individuare con esattezza un focus epilettogeno da sottoporre a resezione.

La tecnica del microtrapianto invece permette l'uso di tessuti autoptici e ciò consente sia di superare la limitazione di cui sopra, sia di utilizzare tessuti di pazienti neurologicamente sani come controllo. Ciò ha permesso di ottenere informazioni sul ruolo dei recettori GABAA nella sindrome di Dravet e inoltre di studiare direttamente su questi ultimi l'effetto di molecole che possano migliorarne la funzione.

Questo step è di importanza fondamentale affinché i risultati ottenuti fino ad ora su modelli animali possano essere traslati nella pratica clinica.

I tessuti muscolari di pazienti affetti da sindrome di Dravet sono stati prelevati ad Amsterdam, AMC tramite la banca del tessuto cerebrale dell'università di Amsterdam (UVA) e la collaborazione con la Neurobiobank (NIH). Tutti i tessuti sono stati utilizzati secondo quanto previsto dalla Dichiarazione di Helsinki e inoltre il comitato etico medico dell'AMC ha approvato tutte le procedure.

Sono stati inclusi tre pazienti affetti da sindrome di Dravet, due pazienti TSC usati come controllo patologico e tre controlli neurologicamente sani (Tabella 1).

P#	Age	Gender	Duration of epilepsy	Brain region	Type of seizures	Diagnosis/mut/cause of death	AEDs	PM
#1	8	M	7	T	FIAS/GS	Dravet (SCN1A mut; c.4834G>A p.Val1612Thr heart failure)	CLB, STP	24
#2	49	M	48	T	FIAS/GS	Dravet (SCN1A mut; c.5164A>G p.Thr1722Ala heart failure)	CLB, STP,VPA	20
#3	46	F	44	T	FIAS/GS	Dravet (SCN1A mut; c.677C > A p.Thr226Lys bronchopneumonia)	CLB, STP,VPA	<48
#4	2	M	1.5	T	IS	TSC c.4645C>T myocardial infarction	TPM, LTG, CLB	24
#5	47	M	35	T	FAS	TSC c.4909_4911delAAG myocardial infarction	PHB, VPA, CBZ, CLB	24
#6	7	M	-	T	-	intestinal ischemia		24
#7	61	M	-	T	-	myocardial infarction		20
#8	38	M	-	T	-	myocardial infarction		16

Tabella 1. Pazienti inclusi nello studio. T, temporal; IS, infantile spasms; FAS, focal aware seizure; FIAS, focal impaired awareness seizure; GS, generalized seizures; mut, mutations, PM, post-mortem hours. CBZ, carbamazepine; CLB, clobazam; LTG, lamotrigine; PHB, phenobarbital; STP, stiripentol; TPM, topiramate; VPA, valproic acid.

Preparazione dell'RNA e Real Time Polymerase Chain Reaction(RT-PCR).

Per l'isolamento del DNA il materiale congelato è stato omogenizzato nel reagente di lisi "Qiazol" (Qiagen, Benelux, Venlo, Olanda). L'RNA totale è stato isolato usando il minikit miRNeasy (Qiagen, Benelux). La concentrazione e la purezza dell'RNA sono state determinate usando uno spettrofotometro Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, Delaware). Il controllo di qualità dell'RNA è stato condotto attraverso un bioanalizzatore Agilent 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, California) e un numero RIN superiore a 6, comparabile tra controlli e casi patologici, è stato considerato come un indicatore di RNA di buona qualità. Sebbene i tessuti siano autoptici non si è osservata una correlazione tra il PMI (tempo post-mortem) e i risultati della PCR.

Elettrofisiologia

Preparazione di membrane:

Le membrane sono state preparate come descritto precedentemente (Palma E, et al. 2011). Circa 0.1-0.5 gr di tessuto congelato è stato omogeneizzato 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 una centrifuga Beckmann (rotore C1015) e il super raccolto 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 ovociti le correnti totali con la tecnica del voltage-clamp intracellulare con due elettrodi (3 M KCl) come descritto precedentemente (Palma et al., 2011).

I risultati degli esperimenti sopra elencati hanno portato alla migliore comprensione di come il recettore GABAA partecipi alla fisiopatologia della sindrome di Dravet. In particolare è stato dimostrato che:

- Le correnti evocate dal GABA hanno un potenziale di inversione meno iperpolarizzato nei tessuti Dravet rispetto ai controlli. Questo risultato è in linea con precedenti studi che hanno individuato ritardi nella maturazione della funzione GABAergica in altre sindromi dello sviluppo (Ruffolo et al., 2016; Talos et al., 2011)
- Questo squilibrio della trasmissione GABAergica è accompagnato da un'espressione differenziale dei trasportatori del cloro NKCC1 e KCC2, anche loro soggetti ad un'espressione tempo-regolata in funzione dei diversi stadi dello sviluppo. Inoltre abbiamo osservato una minore colocalizzazione di KCC2 con la subunità alpha1 del GABAR all'immunoistochimica.
- È presente una riduzione dell'affinità per il GABA nei campioni Dravet, associata ad un'alterazione dell'espressione delle principali subunità alpha. In particolare si riporta una minore espressione della alpha1 accompagnata da una maggiore espressione della alpha2 e alpha 4. Questi dati consolidano la teoria dell'immaturità cerebrale" e ben si correla con precedenti studi che hanno individuato uno switch nel rapporto alpha1/alpha4 in patologie epilettiche (Mazzuferi et al., 2010).

Le patologie del neurosviluppo costituiscono un importante problema economico e sociale (REF) e risultano spesso di difficile gestione dal punto di vista clinico. Ciò che rende queste sindromi così complicate è la coesistenza in questi pazienti di diverse condizioni difficilmente controllabili. Nella sindrome di Dravet, ad esempio, coesistono un'epilessia estremamente farmaco-resistente e dei disturbi cognitivi che rendono complicata la vita quotidiana dei pazienti.

Inoltre, la maggioranza delle strategie terapeutiche disponibili allo stato attuale delle conoscenze non mirano a correggere la causa della patologia ma a sedare i sintomi che, come detto precedentemente, non è sempre possibile.

La ricerca qui proposta mira a ottenere una conoscenza più completa dei meccanismi di base che sottendono alla patogenesi della sindrome di Dravet, per poter quindi aprire la strada a nuove

strategie terapeutiche che prendano di mira non solo i sintomi ma anche le vere e proprie cause che li determinano.

Una strategia terapeutica simile potrebbe avere come prospettiva degli approcci farmacologici volti alla normalizzazione precoce dello sviluppo cerebrale e quindi alla prevenzione di tutte le sequele che accompagnano un neurosviluppo patologico.

Laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare

Ruolo del Recettore Mineralcorticoide (MR) nella malattia multiorgano: dai modelli preclinici ai determinanti di outcome cardiometabolico

E' noto che la terapia con antagonisti di MR riduce la mortalità in pazienti affetti da scompenso cardiaco. Il ruolo di MR è stato ampiamente descritto, non solo nel mantenimento dell'omeostasi elettrolitica ma anche nella regolazione del metabolismo glucidico e del tessuto adiposo. In particolare, studi effettuati nel nostro laboratorio hanno mostrato che in topi sottoposti a dieta obesogena, il trattamento con antagonisti di MR protegge dall'incremento ponderale, in particolare dall'espansione del tessuto adiposo, e dall'intolleranza ai carboidrati. Tali effetti sono in parte legati all'aumentata conversione del tessuto adiposo bianco in tessuto adiposo bruno, un fenomeno noto come "browning" del tessuto adiposo. Inoltre è noto che l'antagonismo di MR riduce lo stress ossidativo a livello tissutale, la fibrosi e l'infiammazione vascolare. Esistono tuttavia dati preliminari che lasciano ipotizzare un'azione specifica degli antagonisti di MR sulla funzionalità del tessuto muscolare scheletrico e del macrofago. Per questi motivi, le azioni sistemiche degli antagonisti MR non possono essere spiegate solo dai ben noti effetti renali (induzione della natriuresi con risparmio di potassio) ma devono essere interpretate alla luce della comprensione del ruolo di MR a livello di diversi organi e tessuti (tessuto adiposo, vaso, cellule immunitarie, tessuto muscolare scheletrico). L'industria farmaceutica si sta orientando a sviluppare composti che siano selettivi per specifici tessuti e organi che presentino minori effetti renali, al fine di ottenere risultati mirati in termini di outcome cardiovascolare e metabolico. E' importante premettere che il recettore mineralcorticoide è attivato in modo specifico sia dall'aldosterone che dai glucocorticoidi, e che molte delle azioni biologiche legate all'attivazione di MR possono essere mediate anche dall'attivazione del recettore glucocorticoide, che presenta una struttura molecolare simile a MR.

Sulla base di studi effettuati anche da altri gruppi di ricerca, è stato proposto che il processo di conversione del tessuto adiposo bianco in bruno possa contrastare lo sviluppo di obesità e di ridotta tolleranza al glucosio.

Considerando che il muscolo scheletrico rappresenta un tessuto con una rilevante captazione di glucosio regolata da insulina, disfunzioni che alterano questo processo possono svolgere un ruolo chiave nello sviluppo di insulino-resistenza a diabete di tipo 2. I benefici metabolici osservati in modelli preclinici di obesità a seguito di trattamento con antagonisti di MR potrebbero essere mediati non solo da modificazioni metaboliche nel tessuto adiposo ma anche dal blocco/modulazione dell'attività di MR nel muscolo scheletrico. Inoltre, nessuno studio finora pubblicato ha analizzato, in modelli preclinici di obesità, se la modulazione di MR possa modificare il grado di infiammazione e la captazione muscolare di glucosio. E' noto che il macrofago riveste un ruolo fondamentale nello sviluppo di infiammazione che contribuisce all'instaurarsi dell'insulino-resistenza. Non è noto se il blocco dell'attività di MR espresso nel macrofago possa modificare le proprietà infiammatorie dei macrofagi residenti nel tessuto scheletrico (e nel tessuto adiposo).

Allo scopo di colmare questo gap di conoscenza ci si propone di studiare l'attività di MR nel muscolo scheletrico e descrivendo gli effetti del blocco farmacologico di MR in termini di peso corporeo, abbondanza di tessuto adiposo bianco e bruno, tolleranza al glucosio in topi "wild-type" (WT) sottoposti per 3 mesi a dieta obesogena (HFD) contenete l'antagonista di MR Spironolattone. Inoltre viene analizzata l'espressione di MR nel muscolo scheletrico, la capacità di MR di regolare

meccanismi molecolari, gli effetti metabolici del trattamento farmacologico con Spironolattone nel muscolo scheletrico relativamente alla captazione di glucosio.

Allo scopo di verificare se il blocco di MR espresso nel macrofago possa modificare le proprietà infiammatorie dei macrofagi residenti nel tessuto scheletrico e nel tessuto adiposo, in topi KO per MR macrofagico, sottoposti a dieta normale (ND) e a dieta HFD, si intende analizzare il profilo metabolico analogamente a quanto previsto per i topi WT trattati con Spironolattone. Nei topi KO per MR macrofagico si intende studiare se l'assenza di MR nel macrofago è in grado di modificare il fenotipo infiammatorio di queste cellule con conseguente modificazione dello stato infiammatorio del tessuto muscolare e del tessuto adiposo.

L'aterosclerosi è una patologia infiammatoria a carico dei vasi arteriosi e si sviluppa a seguito della disfunzione endoteliale che promuove infiammazione vascolare. Elevati livelli circolanti di Aldosterone, ligando di MR, sono associati con aumentato rischio di sviluppare aterosclerosi, mentre il trattamento con antagonisti di MR porta ad una diminuzione di eventi cardiovascolari.

L'attivazione di MR espresso dalle cellule vascolari può svolgere un ruolo importante nel promuovere la disfunzione vascolare e l'aterosclerosi. In topi KO per ApoE, che sviluppano rapidamente aterosclerosi in presenza di Aldosterone e di un'opportuna dieta aterogena trattati con l'antagonista combinato di MR e del Recettore Glucocorticoide (GR) CORT118335, si intende analizzare la formazione di placche aterosclerotiche e il loro contenuto in lipidi e macrofagi. Il trattamento nei topi ApoE KO con CORT118335 può fornire indicazioni sull'impatto relativo di entrambi i recettori nello sviluppo dell'aterosclerosi.

Tali analisi permettono di comprendere se i benefici metabolici osservati in modelli preclinici di obesità a seguito di trattamento con antagonisti di MR, possano essere mediati non solo da modificazioni metaboliche nel tessuto adiposo ma anche dal blocco/modulazione dell'attività di MR nel muscolo scheletrico.

Inoltre le analisi effettuate nei topi KO per MR macrofagico consentono di capire se gli effetti metabolici osservati nei topi WT, trattati con Spironolattone, si possano attribuire allo specifico blocco di MR espresso nel macrofago.

Infine le analisi della formazione delle placche aterosclerotiche e del loro contenuto in lipidi e cellule macrofagiche in topi ApoE KO e trattati con l'antagonista combinato di MR e del Recettore Glucocorticoide (GR) CORT118335, consentiranno di comprendere l'eventuale contributo anche del blocco funzionale di GR, oltre che di MR, nel ridurre la formazione di placche aterosclerotiche, analizzando quindi le potenzialità anti-aterogeniche del composto CORT11835.

Lo studio potrebbe chiarire aspetti fondamentali nel trattamento della sindrome metabolica, attraverso l'antagonismo farmacologico di MR. In particolare:

1. il trattamento con l'antagonista di MR al livello del muscolo scheletrico potrebbe diminuire il grado di infiammazione e conseguentemente migliorare l'attivazione del segnale insulinico, riducendo gli effetti deleteri della dieta obesogena (HFD) sul metabolismo del muscolo scheletrico;
2. l'assenza di espressione di MR nel macrofago potrebbe ridurre le proprietà infiammatorie, con conseguente riduzione del grado di infiammazione cronica di tessuti come muscolo scheletrico e tessuto adiposo che, in condizioni di obesità, risultano marcatamente infiltrati da macrofagi;
3. l'antagonismo farmacologico combinato, in grado di inibire l'attività di MR e GR, potrebbe ridurre la formazione di placche aterosclerotiche e adiuvarne il fisiologico interplay tra adipocita, macrofago muscolo scheletrico e vaso, determinando una globale riduzione del rischio cardiovascolare in condizioni che favoriscono la malattia coronarica.

Per effettuare lo studio è stato necessario somministrare ai topi i composti specifici (CORT118335-antagonista misto MR/GR, Spironolattone-antagonista MR, Mifepristone- antagonista GR) insieme al cibo, per questo motivo, dopo aver ottenuto i farmaci dalle ditte produttrici, abbiamo dovuto inviarli in polvere presso la ditta Brogarden che è specializzata per questo tipo di procedura. Tale processo ha richiesto quattro mesi per la sua realizzazione.

Nello studio si utilizzano topi maschi WT sottoposti a dieta obesogena (HFD) e trattati in parallelo con l'antagonista di MR Spironolattone, con l'antagonista GR mifepristone e con l'antagonista misto MR/GR CORT 118335). Sono stati inclusi anche due gruppi sperimentali di controllo costituiti da topi sottoposti a dieta normale (ND) e topi sottoposti a HFD. Su tali gruppi di animali si effettuerà un test di tolleranza al glucosio tramite iniezione intraperitoneale di glucosio e successiva misura dei livelli di glucosio circolanti. Si impiegano real-time PCR (utilizzando Mx3000P light cycler, Stratagene) e analisi di western blot per valutare l'espressione di geni e proteine coinvolti nel "signaling" molecolare regolato da MR, nei processi infiammatori e nella biogenesi mitocondriale, nel tessuto muscolare dei suddetti gruppi di topi. Vengono impiegate inoltre tecniche di immunoistochimica e si analizza la morfologia del tessuto (presenza di grasso ectopico) e la localizzazione di specifiche proteine.

Inoltre topi sia maschi che femmine knock out per MR macrofagico (e rispettivi controlli con il gene MR macrofagico non deletato) sono stati sottoposti a dieta HFD e dieta normale (ND). Analogamente ai topi WT trattati con Spironolattone, tali topi knock out sono esaminati tramite test di tolleranza al glucosio e tramite analisi di real-time PCR, western blot e immunoistochimica per studiare il "pathway" molecolare attivato dal recettore insulinico, l'espressione di marcatori infiammatori e la biogenesi mitocondriale, sia nel muscolo scheletrico che nel tessuto adiposo.

L'analisi citofluorimetrica dei macrofagi infiltranti i tessuti può inoltre dare indicazioni sulle proprietà infiammatorie di queste cellule in presenza e assenza di MR nelle cellule stesse.

Infine topi maschi knock out per ApoE sono stati trattati per 1 mese con dieta aterogena (gruppo sperimentale di controllo) e con dieta aterogena contenente CORT118335 (gruppo sperimentale CORT118335). Entrambi i gruppi di animali sono stati infusi con Aldosterone, tramite minipompa osmotica (modello Alzet 1004) inserita sottocute. Dopo tale trattamento i topi sono sacrificati e sono dissecati cuore e aorta e successivamente inclusi in un'appropriata resina (optimal cutting compound, OCT) e congelati in ghiaccio secco. Il cuore e l'aorta inclusi in OCT e congelati vengono quindi tagliati in sezioni di 10 µm utilizzando il criostato e tali sezioni saranno analizzate tramite "Oil Red O staining" per valutare l'ampiezza delle placche e il loro contenuto di lipidi. In aggiunta, le sezioni di cuore e aorta sono analizzate tramite colorazione con Picrosirius Red e colorazione con anticorpo specifico anti Mac3 per valutare nelle placche il contenuto di collagene e l'infiltrato macrofagico.

Solo recentemente sono state messe a punto le concentrazioni ideali di farmaco da combinare con il cibo al fine di ottenere la formulazione adatta di cibo supplementato con diversi farmaci che si utilizzano durante questo studio. I topi sono esposti al cibo speciale per quattro settimane al termine delle quali sono sottoposti ad analisi della pressione arteriosa tramite "tail cuff", della tolleranza al glucosio e all'insulina.

Studi 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. E' sempre più urgente la necessità di identificare nuovi "pathways" dell'MR e quindi individuare nuovi "target" terapeutici, proponendosi come obiettivo la comprensione dei processi che determinano l'insorgenza di malattie cardiovascolari e comorbidità ad esse associate. Questo studio permetterà di comprendere il ruolo specifico dell'attivazione del recettore mineralcorticoide e glucocorticoide o della combinazione dei due, a livello di più tessuti, nel determinare il danno d'organo nelle malattie cardiovascolari e nelle loro complicanze metaboliche. Il successo di questo studio consiste nel fornire nuove opzioni terapeutiche per questo tipo di patologie.

Laboratorio di Neurofisiologia Sperimentale

Analisi morfologica ed elettrofisiologica degli effetti neurodegenerativi dell'applicazione di alpha-sinucleina su colture neuronale animali e iPSCs umane

La Malattia di Parkinson (MP) è una delle principali malattie neurodegenerative, caratterizzata da bradicinesia, rigidità, tremore a riposo. Le caratteristiche neuropatologiche sono la progressiva

perdita di neuroni dopaminergici nella Substantia Nigra pars compacta (SNc) e la presenza di inclusioni multiproteiche immunoreattive alla alpha-sinucleina (α -syn) denominati corpi di Lewy (LB) (Spillantini et al., Nature 1997).

Un problema irrisolto rimane la valutazione delle prime alterazioni sinaptiche (early) che possono intervenire sui neuroni nigrostriatali e che probabilmente sono causate dall'accumulo di α -syn. Per ottenere una migliore comprensione della sequenza patogenica di eventi che si verificano nella MP familiare e sporadica, un certo numero di modelli di roditori è stato sviluppato negli anni passati. Purtroppo, la maggior parte dei modelli genetici in topi non presenta un fenotipo morfologico e comportamentale evidente (Dawson et al., Neuron 2010). Il gruppo della Maria Grazia Spillantini del 2006 ha sviluppato un modello transgenico overesprimente α -syn nella SNc di topo utile per valutare aspetti specifici della patogenesi della malattia (Tofaris et al., J Neurosci 2006). Recentemente il nostro gruppo ha studiato in vitro su fettine corticostriatali di topi α -syn le alterazioni specifiche della plasticità sinaptica striatale in diversi sottotipi neuronali nelle fasi iniziali della malattia (Tozzi et al., Biol Psychiatry 2015).

Nonostante la MP sia considerata un disordine sporadico, esistono sempre maggiori evidenze del link tra la MP e diverse alterazioni genetiche (Obeso et al., 2017). Nell'ultimo decennio, oltre all' α -syn, anche il gene LRRK2 ha attirato l'interesse della comunità scientifica perché associato alle forme di Parkinson Late-Onset autosomiche dominanti. Mutazioni del gene LRRK2 sono presenti fino al 13% di MP familiare 1-2% di quelli sporadici (Berg et al., Brain 2005).

È di notevole interesse che sia la proteina α -syn che l'attività LRRK2 siano implicate nella regolazione delle attività sinaptiche a livello delle spine dendritiche alterati nella MP, e potrebbero quindi rappresentare agenti molecolari target di possibili nuovi approcci terapeutici per la malattia.

È stato ampiamente dimostrato che l'accumulo di α -syn in vitro ed in vivo può portare ad alterazioni neurone specifico della plasticità sinaptica corticostriatale nelle fasi iniziali di malattia.

In questo studio ci si propone di comprendere a livello cellulare, mediante l'uso di diverse linee neuronali in coltura, i meccanismi molecolari, elettrofisiologici e morfologici alla base delle alterazioni causate da accumulo di α -syn o dalla manipolazione del gene LRRK2. Il progetto è diviso in due parti: uno studio su neuroni dopaminergici in colture immortalizzate e colture primarie di topo; e uno studio mediante cellule staminali pluripotenti indotte iPSCs da pazienti Parkinsoniani (Reinhardt et al., Plos-One 2013, Cell Stem Cell 2013).

Gli obiettivi del seguente progetto sono:

- 6) Studio delle alterazioni morfologiche e sinaptiche indotte dall'applicazione in vitro di α -syn, nelle diverse forme di aggregazione, monomeriche, oligomeri e protofibrille, su colture neuronali dopaminergiche immortalizzate e primarie.
- 7) Analisi elettrofisiologica e morfologica di colture primarie dopaminergiche di topi controllo e overesprimenti α -syn mediante applicazione a vari dosaggi di differenti forme di α -syn.
- 8) Studio delle alterazioni morfologiche ed elettrofisiologiche di neuroni in colture primarie di topi mutanti per LRRKs.
- 9) Studio elettrofisiologico di neuroni iPSCs derivanti da pazienti MP con e senza mutazioni LRRKs
- 10) Misurazioni delle concentrazioni di dopamina, prima e dopo l'incubazione con α -syn, sia su colture primarie dopaminergiche che in iPSCs con diverse mutazioni LRRKs.

Si intende effettuare:

- 6) Messa a punto colture neuronali stabilizzate e primarie di topo
- 7) Analisi morfologica di base
- 8) Analisi elettrofisiologica di base mediante registrazioni Patch-clamp whole cell (proprietà di firing, attività sinaptica, analisi canali NMDA/AMPA, Ca^{2+} e Na^{+} dipendenti) in colture dopaminergiche con e senza diverse concentrazioni di α -syn.
- 9) Analisi elettrofisiologica neuroni dopaminergici con mutazioni LRRKs e interazioni con α -syn.
- 10) Analisi morfologica dei neuroni iPSC da pazienti MP con mutazioni LRRKs

Sono state messe a punto le colture neuronali primarie di topo.

L'obiettivo principale di questa prima parte del progetto è stato mettere a punto un metodo ottimale per l'allestimento di colture neuronali primarie partendo da tessuto cerebrale mesencefalico di embrioni di topi CD1, in collaborazione con il Laboratorio presso l'IBCN-CNR "A. Buzzati-Traverso", Monterotondo (Roma) (n° protocollo 446/2015PR). In questa prima fase sperimentale ci si è occupati soprattutto di individuare i giusti time-points per ottenere le condizioni ideali per condurre gli studi elettrofisiologici e morfologici prefissati nelle colture primarie mesencefaliche. Nuovi accorgimenti, per migliorare le metodologie utilizzate, sono stati adottati durante la sperimentazione.

I Fase – Accoppiamento

Sono state predisposte due gabbie di accoppiamento (per ciascuna un maschio e due femmine), ad intervallo quindicinale. Per il corretto calcolo dei giorni embrionali, abbiamo scelto di lasciare in accoppiamento i topi, per circa 12 ore (dalla sera alla mattina successiva), trascorse le quali le femmine sono state separate dal maschio. Al 10° giorno dall'accoppiamento, tramite palpazione ed osservazione, sono state individuate le femmine gravide. La mattina successiva all'accoppiamento è stata definita come E0 (giorno embrionale 0). Al momento della palpazione i giorni embrionali saranno E10; mentre per il prelievo degli embrioni si dovrà attendere E13.

II Fase – Protocollo dissezione di tessuto embrionale mesencefalico

Ad E13 gli embrioni, sono stati sottoposti al prelievo del mesencefalo, che è stato successivamente conservato in soluzione HBSS (Invitrogen, 24020-091, Gibco 24020; due campioni per falcon da 15ml).

III Fase – Protocollo per la Preparazione di Cellule primarie mesencefaliche attraverso digestione enzimatica

- Aspirato l'HBSS i mesencefali sono stati incubati in una soluzione enzimatica (Cystein 2mg, DMEM 10ml, CaCl₂ 100mM, EDTA 50mM, Papain e DNAsi 100x), per 15-20 minuti a 37°C all'interno di un incubatore (5% di CO₂).
- Successivamente, è stata effettuata la dissociazione tissutale meccanica, ed in seguito è stato prelevato il surnatante, eliminando quindi il tessuto non dissociato. Sono stati quindi centrifugati i campioni per 5 minuti a 200rpm.
- Dopo aver aspirato la soluzione enzimatica, è stata aggiunta una soluzione inattivante (Albumin 25mg, Trypsin-Inhibitor 25mg, FCS-Medium al 10% e DNAsi 100x), dissociato ulteriormente il pellet e lasciato riposare per 15-20 minuti a 37°C (5% di CO₂) in un incubatore e successivamente centrifugato nuovamente per 5 minuti a 200rpm.
- A questo punto, la soluzione inattivante è stata aspirata e i pellet sono stati risospesi in una soluzione di lavaggio (DMEM, FBS al 10% e DNAsi). Anche in questo caso il pellet è stato dissociato e centrifugato per 5 minuti a 200rpm.
- Aspirata la soluzione di lavaggio, sono stati aggiunti 2ml di mezzo DMEM/F12, (contenente Glutamax 1x, Pen/Strep 1x, B27) per ogni falcon ed è stato nuovamente attuato il passaggio di dissociazione tissutale.
- I campioni cellulari, così ottenuti, sono stati piastrati su vetrini copri oggetto (12mm Ø) polilisinati (polilisina 15µg/ml in H₂O, lasciata a riposo per un'ora a 37°C) in una multiwell da 24. La piastra è stata quindi incubata a 37°C (5% di CO₂) all'interno di un incubatore.
- Il mezzo cellulare DMF12 è stato cambiato il giorno dopo e ogni due giorni per 14 giorni.

IV Fase – Osservazione Colture Cellulari

Al 7°, al 10° e al 14° giorno delle colture cellulari, sono state osservate le cellule al microscopio (Olympus IX2-SLP, obiettivo 20x) per verificare la confluenza cellulare. In questa fase è stata valutata la variabilità di crescita cellulare in base al numero di cellule che è stato piastrato, in modo da scegliere i vetrini con una confluenza cellulare adatta per gli esperimenti di elettrofisiologia e di morfologia. Durante le prime osservazioni, però, alcuni di essi sono risultati più confluenti rispetto ad altri, abbiamo quindi deciso di suddividere tutti i campioni in due gruppi (vetrini con colture più confluenti vs. vetrini meno confluenti).

V Fase – Esperimenti di Elettrofisiologia

Per effettuare la prime analisi elettrofisiologiche sono stati scelti diversi time-points per la loro valutazione a 7, 10 e 14 giorni. Per ogni singola coltura neuronale le procedure sono state le stesse: il vetrino copri oggetto, su cui erano stati piastrati i neuroni, è stato rapidamente rimosso dalla multiwell e posto nella cameretta di registrazione, costantemente perfuso con liquido cerebrospinale sintetico (ACSF) e mantenuto a 32-34°C. L'elettrodo di registrazione è stato riempito con una soluzione intracellulare (120 K β -gluconate, 0.1 CaCl₂, 2 MgCl₂, 0.1EGTA, 10 HEPES, 0.3 Na-GTP, and 2 Mg-ATP portato a pH7.3 con KOH). Per le prove di registrazione di patch-clamp whole cell è stato utilizzato l'amplificatore Multiclamp 700B. Tutti i campioni osservati di entrambi i gruppi (vetrini con colture più confluenti vs. vetrini meno confluenti), sin dal 7° giorno in coltura, si sono rivelati essere troppo confluenti per completare una registrazione di patch-clamp. Si è osservata una diffusa morte cellulare ed una mancata maturazione neuronale, completa e diffusa, molto probabilmente dovuta all'eccessiva confluenza. Erano, infatti, presenti agglomerati di cellule indifferenziate pluristratificate. Ogni tentativo di registrazione è stato vanificato dall'instabilità dell'ancoraggio dei neuroni al substrato e dallo stato di salute stessa delle cellule. Si è quindi deciso di ridurre il numero di cellule piastrate. Questa attività sperimentale iniziale, anche se non ha prodotto per le ragioni addotte, risultati concreti, ci ha permesso di testare protocolli e parametri di registrazione.

VI Fase – Esperimenti di Morfologia

Le cellule in coltura, piastrate su vetrini copri oggetto, sono state fissate con una soluzione di Paraformaldeide al 4% a diversi time-points (7°, 10° e 14° di coltura) e sono stati incubati con i diversi anticorpi primari ed in seguito con gli opportuni anticorpi secondari, mentre i nuclei sono stati contromarcati con DAPI. Gli anticorpi primari utilizzati sono i seguenti: TUJ1 (class III- β -tubulin), Dcx (Doublecortin), e Map2 che rappresentano specifici marker neuronali. Inoltre, per discriminare la popolazione neuronale che caratterizzava le colture primarie allestite sono state effettuate immunofluorescenze con i seguenti anticorpi: tirosina idrossilasi (TH) (neuroni dopaminergici), GAD67 (neuroni GABAergici), Chat (interneuroni Cholinergici), vGLUT (neuroni Glutammatergici), TPH e/o SERT (neuroni Serotoninergici) (Hu et al., 2015). Queste valutazioni morfologiche di marcatori neuronali e neurotrasmettitoriali sono state effettuate per capire e analizzare meglio gli esperimenti di elettrofisiologia condotti di pari passo ed agli stessi time-points; inoltre forniranno informazioni utili per le fasi successive del progetto mediante incubazione dei neuroni con α -syn in forma monomeric, oligomeric e protofibrillare, per valutare i meccanismi molecolari e sinaptici sottostanti il danno causato da questa proteina.

Ultimata questa prima fase di messa a punto delle condizioni ottimali sia per le registrazioni elettrofisiologiche di neuroni mesencefalici in coltura che per l'analisi, si passerà alla applicazione in vitro di diverse forme conformazionali di proteina α -syn per studiare le proprietà elettrofisiologiche dei neuroni in assenza e presenza di danno neurodegenerativo causato dalla proteina misfolded. L'analisi elettrofisiologica sarà accompagnata da una dettagliata analisi morfologica che aiuterà a capire come e dove il danno da accumulo di α syn andrà a concentrarsi.

Laboratorio di Immunopatologia Sinaptica

Studio dei meccanismi molecolari e cellulari alla base della sinaptopatia infiammatoria in modelli sperimentali di Sclerosi Multipla (SM)

La Sclerosi Multipla (SM) è una malattia neurodegenerativa demielinizzante del sistema nervoso centrale (SNC), che causa disabilità neurologica, più comunemente nel giovane adulto. Per molti anni è stata considerata una malattia infiammatoria della sostanza bianca; tuttavia un numero crescente di studi ha dimostrato anche un coinvolgimento della sostanza grigia. A tal proposito, grazie all'utilizzo di un valido modello animale sperimentale di SM, l'Encefalomyelite autoimmune sperimentale (Experimental Autoimmune Encephalomyelitis, EAE), è stato dimostrato che le citochine pro-infiammatorie inducono danno tissutale e deficit neurologici alterando la trasmissione sinaptica, indipendentemente dal danno alla sostanza bianca. In particolare, è stata riscontrata una

sinaptopatia o danno/disfunzione nel compartimento sinaptico a carico del sistema eccitatorio ed inibitorio in diverse aree del cervello EAE. Il prolungato aumento di glutammato nel SNC, accompagnato da un abbassamento del tono inibitorio mediato da GABA, costituiscono un alto rischio di danno eccitotossico, probabile causa della patologia neuronale nella SM (Mandolesi et al., 2015; Henstridge et al., 2016).

L'obiettivo principale della ricerca è quello di studiare i meccanismi molecolari e cellulari alla base dell'interazione tra sistema immunitario e nervoso nella patologia della Sclerosi Multipla. In particolare l'interesse è rivolto allo studio della sinaptopatia infiammatoria poiché, come la demielinizzazione, è un processo precoce e potenzialmente reversibile. La caratterizzazione dei meccanismi molecolari e cellulari alla base di tale meccanismo patogenetico, potrebbe permettere di individuare nuovi target molecolari per le attuali e future strategie terapeutiche (incluso l'esercizio fisico) ed eventualmente di identificare nuovi biomarcatori della malattia.

Tale ricerca viene condotta utilizzando un approccio multidisciplinare che comprende l'utilizzo di tecniche di elettrofisiologia, biologia molecolare, biochimica, immunoistochimica, e analisi comportamentale. Inoltre si utilizzano modelli animali di SM, quali l'encefalomielite autoimmune sperimentale (EAE) e il modello Cuprizone, e modelli chimerici ex vivo di SM. Gli obiettivi che ci si prefigge di raggiungere sono i seguenti:

- Obiettivo 1: approfondire il ruolo di fattori solubili rilasciati dalle cellule immunitarie (linfociti, microglia), quali citochine, fattori neurotrofici e microRNA, nella sinaptopatia infiammatoria e nella plasticità sinaptica in modelli murini di SM e tramite i modelli chimerici ex vivo di SM. L'ipotesi è che tali fattori solubili, alterati nel cervello di topi EAE e/o circolanti nel liquido cerebrospinale dei pazienti SM, potrebbero svolgere un ruolo diretto nella comunicazione tra sistema immunitario e sistema nervoso, e quindi avere un ruolo determinante nei meccanismi sinaptotossici e neurodegenerativi.
- Obiettivo 2: la sinaptopatia infiammatoria è attualmente oggetto di studio per poter spiegare l'effetto neuroprotettivo di alcuni farmaci immunomodulanti/immunosoppressori, che passando la blood-brain barrier (BBB), potrebbero svolgere un ruolo diretto nel SNC. Obiettivo della ricerca è quello di verificare se assi regolatori (es. IL1 β -miR142-3p-GLAST) coinvolti nella sinaptopatia infiammatoria della SM/EAE, costituiscano un bersaglio molecolare per le terapie farmacologiche attualmente in uso o per quelle future.
- Obiettivo 3: La sinaptopatia infiammatoria e gli assi regolatori coinvolti sono oggetto di studio nei modelli murini di SM per verificare un loro potenziale coinvolgimento a livello comportamentale, andando a studiare deficit cognitivi o comportamenti simil-ansiosi e – depressivi. Circa metà dei pazienti affetti da SM soffre di disturbi d'ansia e depressione, ma scarsa attenzione è stata rivolta a tali disturbi probabilmente a causa della limitata conoscenza dei meccanismi fisiopatologici che le determinano.
- Obiettivo 4: l'esercizio fisico è diventato una parte consolidata di molti programmi di riabilitazione SM. Studi clinici e preclinici indicano con forza l'effetto benefico delle terapie riabilitative per i pazienti con SM. Tuttavia, i meccanismi cellulari e molecolari alla base dell'effetto benefico dell'attività fisica nei pazienti affetti da SM non è stato ancora del tutto esplorato. Tramite l'utilizzo dei modelli murini di SM si studia l'effetto benefico dell'esercizio sulla sinaptopatia e processi di demielinizzazione in varie aree cerebrali.

Il raggiungimento degli obiettivi prefissati permetterà di identificare assi regolatori che non solo sono alla base della sinaptopatia infiammatoria nei modelli SM e nella SM ma che sono anche responsivi alle attuali terapie come quelle riabilitative o farmacologiche.

Tali ricerche getteranno quindi le basi per l'identificazione di nuovi target molecolari e biomarcatori della sinaptopatia infiammatoria nella patologia SM.

Materiali e metodi:

- A. Induzione dell'EAE cronico progressivo: l'induzione è condotta su topi femmine C57BL/6) di 7-9 settimane. I topi vengono anestetizzati ed immunizzati attraverso somministrazione sottocutanea della glicoproteina maggiore oligodendrocitaria (MOG)35–55.

- B. Modello Cuprizone: topi C57BL/6 di 8 settimane vengono trattati con mangime standard arricchito con cuprizone allo 0,2% (chelante del rame) oppure con mangime standard (gruppo placebo) ad libitum o per tre-sei settimane.
- C. Modello chimerico ex vivo di SM: linfociti T isolati da pazienti SM o liquido cerebrospinale prelevato per motivi diagnostici da pazienti SM viene incubato per circa due ore su fettine di cervello di topo per studiare l'effetto elettrofisiologico dei mediatori solubili rilasciati e potenzialmente sinaptotossici.
- D. Trattamenti in vivo: impianti di minipompe osmotiche Alzet a lento rilascio (fino a 4 settimane) o cannule per iniezioni acute vengono applicate su topi EAE e controlli per indurre il rilascio intracerebroventricolare di sostanze di interesse (Mandolesi et al., 2017). La modulazione del miRNA è eventualmente effettuata anche tramite vettori lenitivrali che verranno iniettati in vivo nella regione di interesse.
- E. Elettrofisiologia: registrazioni elettrofisiologiche vengono effettuate su fettine di cervello di topo (Cervelletto, striato, ippocampo) o colture neuronali/organotipiche, tramite tecniche di patch clamp e field potential per studiare le correnti spontanee GABA-ergiche, glutammatergiche e per studiare fenomeni di plasticità sinaptica (LTP, LTD)(Mandolesi et al., 2017; Gentile et al., 2017; Nisticò et al., 2013).
- F. Immunoistochimica ed ibridazione in situ: fettine di cervello derivate da tessuto fissato o fresco vengono processate per effettuare esperimenti di immunofluorescenza (target specifici, marker infiammatori) o in situ (microRNA). Imaging confocale o tramite bright field viene eseguito per acquisizione ed analisi delle immagini (Mandolesi et al. 2013, 2017).
- G. Biologia molecolare: l'analisi quantitativa di micro-RNA circolanti in fluidi biologici o presenti nel tessuto nervoso o immunitario viene eseguita tramite la tecnica della Real TIME PCR (RT-PCR). Analogamente, si studia l'espressione dell'mRNA di marcatori di interesse nel tessuto nervoso di topi EAE trattati e non trattati tramite la tecnica della RT-PCR (Mandolesi et al., 2017).
- H. Biochimica: la quantificazione di molecole di interesse nel tessuto nervoso viene eseguita tramite la tecnica del WESTERN BLOT o ELISA. La quantificazione di molecole solubili nel liquido cerebrospinale di pazienti o rilasciati da cellule del sistema immunitario in coltura viene eseguita tramite LUMINEX o ELISA assay.
- I. Isolamento linfociti: linfociti T e B vengono isolati da milze di topi EAE o dal sangue di pazienti SM per effettuare studi di elettrofisiologia su fettine di cervello di topo (Mandolesi et al., 2013; 2017)
- J. Test comportamentali ed esercizio fisico: Open Field Test (OFT); Elevated Plus Maze (EPM); Light-Dark Test (LDT); Murble Burying; Tail Suspension Test (TST); Forced Swim Test (FST). Nest Building test; Rotarod performance test; Grip Strenght Test. Per stimolare l'esercizio, i topi vengono stabulati in delle gabbie speciali arricchite con una Running Wheel a cui gli animali hanno libero accesso. Vengono valutate quotidianamente le prestazioni motorie mediante un conta giri magnetico associato alle ruote (Haji et al., 2015; Gentile et al., 2017).

Sono state valutate le correlazioni tra i livelli di PDGF nel liquor di pazienti SM e parametrici clinici. Il fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF) è un fattore neurotrofico coinvolto in fenomeni di plasticità sinaptica e per questo potenziale effettore di eventi riparativi nel paziente SM. Da questo studio, condotto in collaborazione con l'Università degli Studi di Roma Tor Vergata è emersa una correlazione positiva tra i livelli di PDGF nel liquor di pazienti SM e un prolungato periodo di assenza di ricadute (Stampanoni-Bassi et al., 2018a). Sono state poi valutate le correlazioni tra gli alti livelli di citochine infiammatorie contenute nel liquor di 250 pazienti SM e i diversi parametri clinici al momento della diagnosi. Questo studio ha determinato come alti livelli di IL-6 e IL-8 correlino positivamente con un peggior decorso di malattia e con una bassa risposta ai trattamenti farmacologici (Stampanoni-Bassi et al., 2018b).

Per quanto riguarda i risultati attesi per il 2019, si valutano correlazioni tra parametri clinici e altri fattori solubili (microRNA e citochine) nei pazienti SM (Rizzo et al., 2018).

È stato studiato, in collaborazione con l'Università degli Studi di Roma Tor Vergata l'effetto diretto del Laquinimod, un farmaco immunomodulante con potenziali effetti benefici in pazienti con SM, su eventi sinaptotossici e neurodegenerativi nel modello EAE. In particolare, tramite esperimenti in vivo ed ex vivo, si è osservato che il laquinimod ha un ruolo protettivo diretto sulla trasmissione glutamatergica eccitotossica del cervelletto di topi EAE. Tale effetto è mediato dalla modulazione dell'espressione del trasportatore del glutammato GLT-1, che è in grado di compensare difetti di espressione e funzionamento dell'analogo trasportatore GLAST e quindi di riequilibrare l'omeostasi della trasmissione glutamatergica in EAE (Gentile et al., 2018). Esperimenti analoghi sono in corso nel modello EAE per studiare il ruolo neuroprotettivo sia del dimetilfumarato, farmaco di prima linea nella cura della SM, che di modulatori delle sfingosine 1-5 (es. Ozanimod) regolatori del sistema immunitario e del sistema nervoso in sperimentazione nelle terapie SM.

Per il 2019 ci si aspetta di rivelare un nuovo meccanismo d'azione del dimetilfumarato (DMF) che agisca sul pathway del miR142-3p con effetti sia a livello neuronale che immunitario. Per quanto riguarda gli esperimenti relativi ai modulatori della sfingosina 1-5, esperimenti preliminari suggeriscono un effetto benefico diretto a livello della trasmissione glutamatergica nello striato EAE.

Sono in corso esperimenti per mettere a punto test cognitivi come il 'Novel object recognition' da applicare nel modello EAE (Musella et al., 2018).

Per quanto riguarda gli studi sull'effetto benefico dell'esercizio fisico nel modello Cuprizone, sono in corso esperimenti per approfondire l'effetto protettivo dell'esercizio fisico sulla demielinizzazione a livello di morte degli oligodendrociti maturi, proliferazione e differenziamento dei precursori degli oligodendrociti. I risultati attesi per il 2019 saranno relativi all'identificazione di meccanismi molecolari e cellulari alla base dell'effetto benefico dell'esercizio nel modello Cuprizone.

Tra le sfide della ricerca sulla SM sta emergendo sempre più l'importanza di sviluppare strategie in grado sia di ripristinare la mielina o impedirne la perdita sia di bloccare la sinaptopatia. In questo contesto, studi derivanti dai modelli sperimentali di SM come l'EAE e il modello cuprizone, hanno permesso di indagare i meccanismi cellulari e molecolari alla base di questi importanti aspetti fisiopatologici e le potenzialità di diversi approcci terapeutici. Tra le strategie terapeutiche vi è la riabilitazione fisica che ha effetti benefici sul paziente con SM. Studi clinici e preclinici hanno infatti dimostrato il forte impatto dell'esercizio fisico sulla funzionalità e la struttura del SNC e sulla qualità della vita del paziente (Motl and Pilutti, 2012). Tuttavia i meccanismi alla base dei processi riabilitativi non sono ancora compresi e meritano di essere investigati in maniera più approfondita.

Laboratorio di Microbiologia delle patologie cronico-degenerative

Identificazione di marcatori molecolari come predittori di andamento clinico e di prognosi in pazienti affetti da broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO)

La BPCO (nota in inglese come COPD, Chronic obstructive pulmonary disease) è attualmente la quarta causa di morte nel mondo e, secondo le stime dell'Organizzazione Mondiale per la Sanità (OMS), sembra destinata a diventare la terza entro il 2030. Si tratta di una sindrome complessa dell'apparato respiratorio, caratterizzata da un'ostruzione irreversibile delle vie aeree, con molte componenti polmonari ed extra-polmonari di entità variabile a seconda della gravità. La malattia è generalmente progressiva ed è associata a uno stato infiammatorio cronico del tessuto polmonare che, attraverso un deleterio rimodellamento dei bronchi, provoca una consistente diminuzione della capacità respiratoria. Ad aggravare questo quadro clinico è la maggiore vulnerabilità verso infezioni respiratorie di origine virale, batterica o fungina che danno luogo a riacutizzazioni della malattia.

Anche se la predisposizione genetica sembra determinare l'insorgenza della patologia in alcuni individui, l'alta percentuale di pazienti affetti da BPCO chiaramente suggerisce che sono i fattori ambientali ad avere un ruolo preponderante. In alcuni casi la BPCO potrebbe definirsi una malattia occupazionale, dovuta all'esposizione a silice o cadmio presenti in polveri e sostanze chimiche, oppure a vapori o fumi irritanti, all'interno dell'ambiente di lavoro. In altri casi, le cause possono ritrovarsi in ambito domestico e sono dovute ad inquinamento da combustibile. Tuttavia, il principale fattore di rischio continua ad essere di natura comportamentale, essendo rappresentato dal fumo di sigaretta, il quale, oltre ad accelerare ed accentuare il decadimento naturale della funzione respiratoria, è in grado di innescare ed alimentare diversi processi biologici alla base della patologia, ovvero l'infiammazione cronica e lo stress ossidativo/nitrosativo. Infatti, la capacità antiossidante nella BPCO è notevolmente ridotta a causa del fumo di sigaretta e delle riacutizzazioni, e lo stress ossidativo persiste anche molto tempo dopo aver smesso di fumare, a causa della continua produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS). L'aumento dei livelli di ROS prodotte nelle vie aeree si riflette in un aumento dei markers di stress ossidativo nell'espettorato e nel sangue dei pazienti con BPCO. Inoltre, il fumo di sigaretta -così come altri composti nocivi per le vie respiratorie- conducono al rilascio da parte di cellule danneggiate o necrotiche di molecole endogene note come segnali di pericolo o allarmine (DAMPs, Damage-associated molecular patterns), in grado di innescare una risposta infiammatoria, con conseguente produzione di citochine ed altri mediatori infiammatori, tra cui le stesse ROS. Una delle allarmine più studiate è la proteina HMGB1, i cui livelli sono stati trovati aumentati anche in campioni biologici di pazienti con BPCO. Recentemente, la proteina perossiredossina 2 (PRDX2) è stata identificata come allarmina sensibile allo stress ossidativo (redox-sensibile) in condizioni infiammatorie, ma il suo ruolo nella BPCO non è ancora noto.

La principale ipotesi del progetto è che specifici processi biologici coinvolti nella patogenesi della BPCO, inclusi il processo infiammatorio e lo stress ossidativo/nitrosativo, possano indurre il rilascio di segnali di pericolo redox sensibili in fluidi biologici che potrebbero essere utili come biomarcatori della patologia.

Nonostante la semplicità nel fare una diagnosi di BPCO, che si basa sulla valutazione spirometrica della limitazione del flusso aereo, sulla presenza di tosse cronica e mancanza di respiro, la BPCO è una malattia molto eterogenea in termini di risposta alla terapia. Infatti, non tutti i pazienti rispondono a tutti i farmaci disponibili, probabilmente come conseguenza della presenza di diversi fenotipi di BPCO. Pertanto, la necessità di un trattamento personalizzato sta diventando una priorità per una gestione clinica appropriata e per evitare trattamenti inutili, i connessi rischi e lo spreco di risorse per i sistemi sanitari. Al giorno d'oggi, la classificazione dei pazienti con BPCO si basa principalmente sui "fenotipi clinici" risultanti dalla combinazione di parametri che hanno significato clinico (sintomi, esacerbazioni, la risposta al trattamento, il tasso di progressione della malattia o morte). È fondamentale poter raggruppare i pazienti in fenotipi, perché lo stesso sottogruppo/fenotipo dovrebbe mostrare una simile progressione della malattia e una paragonabile risposta ai trattamenti.

Partendo da ciò, si ritiene che esista l'esigenza di individuare nuovi biomarcatori affidabili e facili da misurare in grado di classificare meglio i pazienti BPCO in sottogruppi/fenotipi molecolari 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.

Quindi, attraverso lo studio di molecole facilmente identificabili e misurabili in biofluidi accessibili, come il sangue, si potrà andare alla ricerca di potenziali biomarcatori in grado di classificare i pazienti con BPCO in fenotipi così da poterne predire la progressione della malattia, le esacerbazioni e l'efficacia della riabilitazione.

Obiettivo della ricerca è l'identificazione di potenziali biomarcatori nella BPCO da correlare con parametri spirometrici, clinici e biochimici che indicano lo stato della patologia.

Nello specifico, gli obiettivi di tale ricerca sono:

- 1) Caratterizzazione di pathways infiammatori modulati dallo stato redox, in modelli di infiammazione in vitro e ex vivo.
- 2) Analisi di proteine sensibili allo stress ossidativo nel plasma di pazienti affetti da BPCO, in particolare allarmine redox-sensibili come PRDX1, PRDX2 e TXN1. Analisi dello stress nitrosativo mediante la misurazione del monossido di azoto (NO) e dei livelli di proteine nitrosilate.
- 3) Analisi in vitro del rilascio di allarmine in seguito a stimoli infiammatori o a stress ossidativo da parte di cellule epiteliali bronchiali primarie di pazienti affetti da BPCO.
- 4) Analisi microbiologica dell'espettorato di pazienti affetti da BPCO per identificare il microbiota di questi pazienti e stabilire una possibile correlazione tra i batteri/virus identificati e i potenziali biomarcatori studiati; isolamento delle specie batteriche per la valutazione della farmaco resistenza.

Colture cellulari, trattamenti/stimolazione.

Cellule epiteliali polmonari NCI H1299 e macrofagiche RAW 264.7, coltivate. Pre-adipociti 3T3 e mioblasti C2C12, coltivate in terreno DMEM al 10% di siero sono state differenziate rispettivamente in adipociti e miotubi. I trattamenti con GSH-C4 e NAC sono stati eseguiti alla concentrazione di 10 mM e con BSO 120 μ M.

Dosaggio del glutatione e dei ROS.

Il glutatione intracellulare è stato misurato mediante HPLC. I livelli di ROS sono stati misurati utilizzando un analogo della diclorofluoresceina mediante analisi spettrofluorimetrica.

Immunoblotting.

Lisati e sovranatanti cellulari sono stati analizzati in assenza o in presenza di DTT e NEM (N-ethylmaleimide) tramite SDS-PAGE, trasferiti su membrana di nitrocellulosa, incubata con anticorpi specifici. Le proteine di interesse sono state visualizzate mediante tecniche di chemiluminescenza.

Real Time PCR.

Dopo estrazione dell'RNA dalle cellule, è stata eseguita una RT-PCR 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).

Dosaggio delle citochine.

Le citochine sono state analizzate nei sovranatanti cellulari tramite BioPlex (Biorad).

Macrofagi Umani

I macrofagi umani sono stati ottenuti tramite separazione e differenziamento dei PBMCs provenienti da donatori sani. Le cellule sono state coltivate in terreno RPMI-1640 al 10% di siero e stimulate con LPS alla concentrazione di 100 ng/mL.

Reclutamento pazienti e analisi microbiologica

Da 100 pazienti affetti da BPCO e ricoverati presso il reparto di Riabilitazione respiratoria dell'IRCSS San Raffaele Pisana (Roma, Italia), dopo aver firmato il consenso informato scritto, è stato prelevato un campione di espettorato.

Il materiale espettorato è stato fluidificato 1:1 (v/v) con ditiotreitolo, lasciando il campione per 60' a temperatura ambiente o, in alternativa, per 30' in termostato a 36-37°C. Poiché spesso nei pazienti BPCO la carica dei batteri Gram negativi può essere elevata, per facilitare la conta colonie e l'isolamento batterico, si è proceduto ad un'ulteriore diluizione del campione (1/100) prima della semina su terreno solido.

Per l'isolamento e l'identificazione dei microrganismi (aerobi/anaerobi facoltativi) sono state utilizzate, oltre, alle metodiche classiche di batteriologia (culturali, biochimiche, molecolari), anche la tecnica di spettrometria di massa con tecnologia MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption/ionisation-time of flight mass spectrometry). La sensibilità agli antibiotici degli isolati batterici è stata effettuata, mediante la determinazione della M.I.C. (Minima Concentrazione Inibente) con metodo semiautomatico Vitek2 (Bio-Merieux) oppure tramite il metodo manuale

Kirby-Bauer mediante tecnica di diffusione in agar su disco che permette di determinare qualitativamente la sensibilità o la resistenza dell'isolato.

Questi due anni di ricerca sono stati dedicati alla caratterizzazione dei pathways infiammatori modulati dallo stato redox in modelli in vitro, rappresentati da cellule epiteliali polmonari (NCI H1299) e cellule macrofagiche RAW 264.7, stimulate con LPS; adipociti 3T3-L1 e mioblasti C2C12, linee cellulari in grado di indurre autonomamente infiammazione; e in un modello ex vivo, rappresentato da macrofagi primari umani (ottenuti da donatori sani di sangue), stimolati con LPS. Inizialmente è stata verificata l'attivazione della risposta infiammatoria nelle linee cellulari epiteliale e macrofagica, a seguito della stimolazione con LPS, quindi negli adipociti e nei mioblasti; infine nei macrofagi primari umani, in termini di attivazione del pathway di NF- κ B, successivamente 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. Quest'ultima è stata in grado anche di abbassare lo stato infiammatorio basale degli adipociti e dei mioblasti. 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.

In questo periodo inoltre, è stata effettuata l'analisi microbiologica dell'espettorato dei pazienti affetti da BPCO; dall'analisi di questi campioni è stato possibile isolare ed identificare i seguenti microrganismi Gram-positivi: *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus haemolyticus*; *Corynebacterium striatum*; *Enterococcus faecalis*; *Enterococcus faecium*; *Enterococcus malodoratus*; *Staphylococcus epidermidis*. Nell'ambito dei batteri Gram-negativi sono stati isolati ed identificati prevalentemente ceppi di *Acinetobacter baumannii*; *Enterobacter cloacae*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Moraxella catarrhalis*; *Pseudomonas aeruginosa* e *Stenotrophomonas maltophilia*. Da tale analisi è emerso che i microrganismi più rappresentativi nell'espettorato sono *Candida albicans* e *Aspergillus*. Tra i batteri Gram-positivi, *Staphylococcus aureus* è stato il batterio maggiormente isolato, mentre tra i Gram-negativi ritroviamo *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter*. Tutti i ceppi sono stati sottoposti ad antibiogramma allo scopo di evidenziare profili di antibiotico-resistenza. Da tale analisi è emerso che il 65% dei ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati risultano essere ceppi Meticillino Resistenti (MRSA). Dalla analisi di resistenza agli antibiotici β -lattamici è emerso che il 15% dei ceppi Gram-positivi testati risulta essere resistente a tale classe di antibiotici. Inoltre, nell'ambito dei Gram-positivi alcune specie isolate di Enterococchi (*Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*) presentavano una resistenza alla vancomicina nel 17% degli isolati.

Infine, per quanto riguarda i Gram-negativi, il 60% degli isolati presentava un fenotipo con produzione di β -lattamasi a spettro esteso (ESBL) e di questi il 30% esprimeva resistenza ai carbapenemici.

Nel proseguimento del progetto, estenderemo lo studio ad un modello di cellule epiteliali bronchiali primarie di pazienti affetti da BPCO e quindi, andremo ad analizzare dei markers infiammatori e di stress ossidativo nel plasma di pazienti affetti da BPCO. Ci si aspetta 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, nonché una correlazione tra i livelli dei potenziali biomarcatori e i microrganismi identificati responsabili delle riacutizzazioni. In particolare, l'analisi dei campioni BPCO viene 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 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.

PUBBLICAZIONI

Area di ricerca Biobanca, Biotecnologie avanzate e Biomarkerdiscovery

Betsou F, Bilbao R, Case J, Chuaqui R, Clements JA, De Souza Y, De Wilde A, Geiger J, Grizzle W, Guadagni F, Gunter E, Heil S, Kiehnopf M, Koppandi I, Lehmann S, Linsen L, Mackenzie-Dodds J, AguilarQuesada R, Tebbakha R, Selander T, Shea K, Sobel M, Somiari S, Spyropoulos D, Stone M, Tybring G, Valyi-Nagy K, Wadhwa L.

Standard PREanalytical Code version 3.0.

Biopreserv Biobank. 2018 [Epub ahead of print]

De Marchis ML, Guadagni F, Silvestris E, Lovero D, Della-Morte D, Ferroni P, Barbanti P, Palmirotta R.

Genetic bases of the nutritional approach to migraine.

Crit Rev Food SciNutr. 2018 Mar 8:1-13. [Epub ahead of print]

Migraine is a common multifactorial and polygenic neurological disabling disorder characterized by a genetic background and associated to environmental, hormonal and food stimulations. A large series of evidence suggest a strong correlation between nutrition and migraine and indicates several commonly foods, food additives and beverages that may be involved in the mechanisms triggering the headache attack in migraine-susceptible persons. There are foods and drinks, or ingredients of the same, that can trigger the migraine crisis as well as some foods play a protective function depending on the specific genetic sensitivity of the subject. The recent biotechnological advances have enhanced the identification of some genetic factors involved in onset diseases and the identification of sequence variants of genes responsible for the individual sensitivity to migraine trigger-foods. Therefore many studies are aimed at the analysis of polymorphisms of genes coding for the enzymes involved in the metabolism of food factors in order to clarify the different ways in which people respond to foods based on their genetic constitution. This review discusses the latest knowledge and scientific evidence of the role of gene variants and nutrients, food additives and nutraceuticals interactions in migraine.

Hoffman RM, Guadagni F.

Expression and Targeting of Tumor Markers in Gelfoam® Histoculture: Potential Individualized Assays for Immuno-Oncology.

Methods Mol Biol. 2018;1760:29-37. 1-4.

Tumor-specific antigens are important in the study of tumor biology, tumor diagnosis, and prognosis and as targets for tumor therapy. This chapter reviews patient colon, breast, and ovarian tumors in 3-dimensional Gelfoam® histoculture maintaining in vivo-like expression of the important tumor antigens, for example TAG-72 and CEA. We have also reviewed that fluorescent antibodies can target tumors in Gelfoam® histoculture, thereby providing an assay for individual patients for sensitivity to therapeutic antibodies which have become so important in immuno-oncology and other cancer therapies.

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

Redox mechanisms in migraine: novel therapeutics and dietary interventions.

Antioxid Redox Signal. 2018 Apr 20;28(12):1144-1183.

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.

Ferroni P, Barbanti P, Spila A, Fratangeli F, Aurilia C, Fofi L, Egeo G, Guadagni F.

Circulating biomarkers in migraine. New Opportunities for precision medicine.

Curr Med Chem. 2018 Jun 22.

Migraine is the most common neurological disorder and the second most disabling human condition, whose pathogenesis is favored by a combination of genetic, epigenetic, and environmental factors. In recent years, several efforts have been made to identify reliable biomarker(s) useful to monitor disease activity and/or ascertain the response to a specific treatment. To review the current evidence on the potential biological markers associated with migraine. A structured search of peer-reviewed research literature was performed by searching major publications databases up to December 2017. Results Several circulating biomarkers have been proposed as diagnostic or therapeutic tools in migraine, mostly related to migraine's inflammatory pathophysiological aspects. Nonetheless, their detection is still a challenge for the scientific community, reflecting, at least in part, disease complexity and clinical diagnostic limitations. At the present time, calcitonin gene-related peptide (CGRP) represents probably the most promising candidate as a diagnostic and/or therapeutic biomarker, as its plasma levels are elevated during migraine attack and decrease during successful treatment. Other molecules (including some neuropeptides, cytokines, adipokines, or vascular activation markers) despite promising, do not possess the sufficient prerequisites to be considered as migraine biomarkers. The characterization of migraine specific biomarkers would be fundamental in a perspective of precision medicine, enabling risk assessment and tailored treatments. However, speculating on the clinical validity of migraine biomarkers may be premature and controlled clinical trials are presently needed to investigate both the diagnostic and therapeutic value of these biomarkers in migraine.

Anticancer Res. 2018 Aug;38(8):4705-4712.

Prognostic significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio in the framework of the 8th TNM edition for breast cancer.

Ferroni P, Roselli M, Buonomo OC, Spila A, Portarena I, Laudisi A, Valente MG, Pirillo SP, Fortunato L, Costarelli L, Cavaliere F, Guadagni F.

To investigate whether neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) might represent an additional biological criterion able to identify patients with worse prognosis within the 8th edition TNM prognostic staging system for breast cancer (BC).

Pre-treatment NLR was retrospectively analyzed in 475 BC women prospectively followed for a mean time of 3.8 years. The optimal NLR cutoff, identified by ROC analysis, was set at 2.

Elevated pre-treatment NLR was associated with worse disease-free survival (DFS) (HR=2.28) and overall survival (OS) (HR=3.39). The prognostic value of NLR was mostly evident in stage I BC (HR for DFS=2.89; HR for OS=1.30), in whom NLR significantly stratified patients who developed distant metastasis (HR= 4.62), but not local recurrence.

NLR might provide important information in risk stratification, especially in stage I BC patients in whom the presence of a high NLR might raise the question as to whether they should be more aggressively managed.

Ferroni P, Roselli M, Zanzotto FM, Guadagni F.

Artificial intelligence for cancer-associated thrombosis risk assessment.

Lancet Haematol. 2018 Sep;5(9):e391.

Ferroni P.

Meet Our Associate Editor

Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets, 2018, Vol. 18, No. 3 165

Raparelli V, Proietti M, Lenzi A, Basili S; EVA Collaborators.

Sex and gender differences in ischemic heart disease: Endocrine Vascular disease Approach (EVA) study design.

J CardiovascTransl Res. 2018 Dec 3. [Epub ahead of print]

Improvements in ischemic heart disease (IHD) management have been unbalanced between sexes, with coronary microvascular dysfunction considered the likely underlying reason. The Endocrine Vascular disease Approach (EVA) is an observational study (Clinicaltrial.gov NCT02737982) aiming to assess sex and gender interactions between coronary circulation, sexual hormones, and platelet function. Consecutive patients with IHD undergoing coronary angiography will be recruited: (1) to assess sex and gender differences in angiographic reperfusion indexes; (2) to evaluate the effects of estrogen/androgen on sex-related differences in myocardial ischemia; (3) to investigate the platelet biology differences between men and women with IHD; (4) to verify sex- and gender-driven interplay between response to percutaneous coronary intervention, platelets, sex hormones, and myocardial damage at baseline and its impact on 12-month outcomes. The integration of sex and gender in this translational project on IHD will contribute to the identification of new targets for further innovative clinical interventions.

Bonassi S, Prinzi G, Lamonaca P, Russo P, Paximadas I, Rasoni G, Rossi R, Ruggi M, Malandrino S, Sánchez-Flores M, Valdiguésias V, Benassi B, Pacchierotti F, Villani P, Panatta M, Cordelli E.

Clinical and genomic safety of treatment with Ginkgo biloba L. leaf extract (IDN 5933/Ginkgoselect®Plus) in elderly: a randomised placebo-controlled clinical trial [GiBiEx].

BMC Complement Altern Med. 2018 Jan 22;18(1):22.

Numerous health benefits have been attributed to the Ginkgo biloba leaf extract (GBLE), one of the most extensively used phytopharmaceutical drugs worldwide. Recently, concerns of the safety of the extract have been raised after a report from US National Toxicology Program (NTP) claimed high doses of GBLE increased liver and thyroid cancer incidence in mice and rats. A safety study has been designed to assess, in a population of elderly residents in nursing homes, clinical and genomic risks associated to GBLE treatment.

GiBiEx is a multicentre randomized clinical trial, placebo controlled, double blinded, which compared subjects randomized to twice-daily doses of either 120-mg of IDN 5933 (also known as Ginkgoselect®Plus) or to placebo for a 6-months period. IDN 5933 is extracted from dried leaves and contains 24.3% flavone glycosides and 6.1% of terpene lactones (2.9% bilobalide, 1.38% ginkgolide A, 0.66% ginkgolide B, 1.12% ginkgolide C) as determined by HPLC. The study was completed by 47 subjects, 20 in the placebo group and 27 in the treatment group. Clinical (adverse clinical effect and liver injury) and genomic (micronucleus frequency, comet assay, c-myc, p53, and ctnnb1 expression profile in lymphocytes) endpoints were assessed at the start and at the end of the study.

No adverse clinical effects or increase of liver injury markers were reported in the treatment group. The frequency of micronuclei [Mean Ratio (MR)=1.01, 95% Confidence Intervals (95% CI) 0.86-1.18], and DNA breaks (comet assay) (MR=0.91; 95% CI 0.58-1.43), did not differ in the two study groups. No significant difference was found in the expression profile of the three genes investigated.

None of the markers investigated revealed a higher risk in the treatment group, supporting the safety of IDN 5933 at doses prescribed and for duration of six months.

Neri M, Sansone L, Pietrasanta L, Kisialiou A, Cabano E, Martini M, Russo MA, Ugolini D, Tafani M, Bonassi S.

Gene and protein expression of CXCR4 in adult and elderly patients with chronic rhinitis, pharyngitis or sinusitis undergoing thermal water nasal inhalations.

Immun Ageing. 2018 Feb 27;15:10. eCollection 2018.

Chronic rhinitis, pharyngitis and sinusitis are common health problems with a significant impact on public health, and are suspected to be influenced by ageing factors. Nasal inhalation with thermal water may be

used to reduce symptoms, inflammation and drug intake. A pre-post clinical study was conducted in 183 consecutive adult and elderly patients with chronic rhinitis, pharyngitis or sinusitis, to evaluate whether thermal water nasal inhalations could improve their symptoms, clinical signs and rhinomanometry measurements, and influence inflammatory biomarkers levels in nasal epithelial cells.

Participants profile revealed that they were aged on average (mean age and SD 60.6 ± 15.2 years, median 65, range 20-86, 86 aged ≤ 65 years (47%), 96 aged > 65 years (53%)) and extremely concerned about wellbeing. Older age was associated with better compliance to inhalation treatment. Total symptom and clinical evaluation scores were significantly ameliorated after treatment ($p < 0.001$), with no substantial difference according to age, while rhinomanometry results were inconsistent. Persistence of symptom improvement was confirmed at phone follow up 1 year later ($n = 74$). The training set of 48 inflammatory genes (40 patients) revealed a strong increase of CXCR4 gene expression after nasal inhalations, confirmed both in the validation set (143 patients; 1.2 ± 0.68 vs 3.3 ± 1.2 ; $p < 0.0001$) and by evaluation of CXCR4 protein expression (40 patients; 1.0 ± 0.39 vs 2.6 ± 0.66 ; $p < 0.0001$). CXCR4 expression was consistently changed in patients with rhinitis, pharyngitis or sinusitis. The increase was smaller in current smokers compared to non-smokers. Results were substantially unchanged when comparing aged subjects (≥ 65 years) or the eldest quartile (≥ 71 years) to the others. Other genes showed weaker variations (e.g. FLT1 was reduced only in patients with sinusitis).

These results confirm the clinical impact of thermal water nasal inhalations on upper respiratory diseases both in adults and elders, and emphasize the role of genes activating tissue repair and inflammatory pathways. Future studies should evaluate CXCR4 as possible therapeutic target or response predictor in patients with chronic rhinitis, pharyngitis or sinusitis.

Russo P, Prinzi G, Lamonaca P, Cardaci V, Fini M.

Flavonoids and Reduction of Cardiovascular Disease (CVD) in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD).

Curr Med Chem. 2018 May 13. doi: 10.2174/0929867325666180514100640. [Epub ahead of print]

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and cardiovascular diseases (CV) often coexist. COPD and CVD are complex diseases characterized by a strict interaction between environment and genetic. The mechanisms linking these two diseases are complex, multifactorial and not entirely understood, influencing the therapeutic approach. COPD is characterized by several comorbidities, it is hypothesizable that treatment of cardiovascular co-morbidities may reduce morbidity and mortality. Flavonoids are an important class of plant low molecular weight secondary metabolites (SMs). Convincing data from laboratory, epidemiological, and human clinical studies point to an important effects on CVD risk prevention.

This review aims to provide up-to-date information on the ability of Flavonoids to reduce the CVD risk.

Current studies support the potential of Flavonoids to prevent the risk of CVD. Well-designed clinical studies are suggested to evaluate advantages and limits of Flavonoids for managing CVD comorbidity in COPD.

Russo P, Lococco F, Kisialiou A, Prinzi G, Lamonaca P, Cardaci V, Fini M.

Pharmacological management of Chronic Obstructive Lung Disease (COPD). Focus on Mutations.

Curr Med Chem. 2018 May 31. [Epub ahead of print]

We report a comprehensive overview of current Chronic Obstructive Lung Disease (COPD) therapies and discuss the development of possible new pharmacological approaches based on "new" knowledge. Specifically sensitivity/resistance to corticosteroids is evaluated with a special focus on the role of gene mutations in drug response.

Critically review the opportunities and the challenges occurring into the treatment of COPD.

Findings from "omics" trials should be used to learn more about biologic targeted drugs, and to select more specific drugs matching patient's distinctive molecular profile. Specific markers of inflammation such as percentage of eosinophils are important in determining sensitivity/resistance to corticosteroids. Specific gene variations (Single nucleotide polymorphisms: SNPs) may influence drug sensitivity or resistance. Clinicians working in a real-world need to have a suitable interpretation of molecular results together with a treatment guidance and recommendations. Far

more translational research is required before new results from omics techniques can be applied in personalized medicine in real-world settings.

Russo P, Prinzi G, Proietti S, Lamonaca P, Frustaci A, Boccia S, Amore R, Lorenzi M, Onder G, Marzetti E, Valdiglesias V, Guadagni F, Valente MG, Cascio GL, Fraietta S, Ducci G, Bonassi S.
Shorter telomere length in schizophrenia: Evidence from a real-world population and meta-analysis of most recent literature.

Schizophr Res. 2018 Dec;202:37-45. Epub 2018 Jul 9.

Schizophrenia is a severe, chronic mental disorder. Schizophrenia is visualized as an accelerated cellular aging syndrome characterized by early onset of cardiovascular disease causing premature mortality. In human aging involves alterations in telomere length (TL). To investigate the presence of TL shortening in schizophrenia and psychiatric syndromes associated, this condition was studied in leukocytes (LTL) of a sample of patients suffering from schizophrenia and other psychotic disorders, and compared with a group of non-psychiatric controls. We explored the relationship between LTL and age, gender, and smoking habit with the aim to control whether these potential confounding factors may influence the rate of telomeres shortening. We also performed a new comprehensive meta-analysis including studies on LTL in schizophrenia patients compared to healthy subjects published in the last two years and the results of the present study. Our results suggest that a diagnosis of schizophrenia, more than gender, age, cigarette smoking or alcohol drinking, is the most important condition responsible of the LTL shortening. A strong LTL shortening was observed in patients affected by schizophrenia, Schizoaffective disorder, and Psychosis not otherwise specified when they were younger than 50 years, while in the group of older subjects no major differences were observed. Additional evidence supporting the causal link of schizophrenia with accelerated telomeres shortening came from the analysis of the updated meta-analysis. The availability of a personalized profile of mechanistic pathways, risk factors, and clinical features may pose the basis for a rehabilitative treatment addressing individual needs of the psychiatric patients.

Prinzi G, Santoro A, Lamonaca P, Cardaci V, Fini M, Russo P.

Cognitive impairment in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD): possible utility of marine bioactive compounds.

Mar Drugs. 2018 Sep 4;16(9).

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is characterized by long-term airflow limitation. Early-onset COPD in non-smoker subjects is ≥ 60 years and in the elderly is often associated with different comorbidities. Cognitive impairment is one of the most common feature in patients with COPD, and is associated with COPD severity and comorbidities. Cognitive impairment in COPD enhances the assistance requirement in different aspects of daily living, treatment adherence, and effectual self-management. This review describes various bioactive compounds of natural marine sources that modulate different targets shared by both COPD and cognitive impairment and hypothesizes a possible link between these two syndromes.

Kisialiou A, Prinzi G, Lamonaca P, Cardaci V, Fini M, Bonassi S, Russo P.

Pharmacological management of Chronic Obstructive Lung Disease (COPD). Evidence from a real-world perspective.

Curr Med Chem. 2018 Oct 30. [Epub ahead of print]

We report a comprehensive overview of current COPD therapies from a real-world experience. Objective: critically review the opportunities and the challenges occurring in the real-world treatment of COPD. This is a review that also reports data to evaluate COPD patient' response to standardized therapy in a real-world setting. Comprehensive assessment of COPD management requires strategies able to evaluate efficacy and usefulness in a real-world population, that take into account the interaction between experience and academic training, research, adherence to guidelines and judgments in order to plan the appropriate and optimum use of available strategies.

Lorenzi M, Bonassi S, Lorenzi T, Giovannini S, Bernabei R, Onder G.

A review of telomere length in sarcopenia and frailty.

Biogerontology. 2018 Jul;19(3-4):209-221.

Sarcopenia and frailty are associated with several important health-related adverse events, including disability, loss of independence, institutionalization and mortality. Sarcopenia can be considered a biological substrate of frailty, and the prevalence of both these conditions progressively increases with age. Telomeres are nucleoprotein structures located at the end of linear chromosomes and implicated in cellular ageing, shorten with age, and are associated with various age-related diseases. In addition, telomere length (TL) is widely considered a molecular/cellular hallmark of the ageing process. This narrative review summarizes the knowledge about telomeres and analyzes for the first time a possible association of TL with sarcopenia and frailty. The overview provided by the present review suggests that leukocyte TL as single measurement, calculated by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR), cannot be considered a meaningful biological marker for complex, multidimensional age-related conditions, such as sarcopenia and frailty. Panels of biomarkers, including TL, may provide more accurate assessment and prediction of outcomes in these geriatric syndromes in elderly people.

Milić M, Neri M, Ceppi M, Bruzzone M, Munnia A, Ugolini D, Cristaudo A, Bonotti A, Peluso ME, Bonassi S.

DNA damage and genomic instability among workers formerly and currently exposed to asbestos.

Scand J Work Environ Health. 2018 Jul 1;44(4):423-431.

Despite an asbestos ban in the European Union, exposure to asbestos still represents an occupational risk. Biomarkers of DNA damage and genomic instability in groups exposed to asbestos may contribute to the identification of subgroups/subjects at higher risk. Methods A cross-sectional study was conducted on 468 male individuals (80 working in occupational settings with potential exposure to asbestos fibers, 202 retired workers with past exposure, and 186 non-exposed controls) to compare genomic instability, cell proliferation and differentiation level using the non-invasive micronucleus buccal cytome assay. Data on demographic variables, lifestyle, and occupational history were collected with a standardized questionnaire. Micronuclei (MN) and other biomarkers of DNA damage and genomic instability were scored in a minimum of 2000/1000 cells per individual, respectively. Results Univariate and multivariate analysis showed opposite associations of MN frequency with current and former exposure. Compared to unexposed controls, workers with current potential exposure to asbestos had 55% lower MN frequency [95% confidence interval (CI) 71-29%, $P < 0.001$] while those with past exposure had 34% higher MN frequency (95% CI 1-77%, $P < 0.001$). The frequency of cells with condensed chromatin and binucleated cells was elevated among formerly exposed workers. The multivariate analysis did not reveal any actual confounders, although lower MN frequency was observed among subjects eating fresh fruit or vegetables every day or taking vitamin supplements. Conclusions Active workers with potential exposure to asbestos fibers did not show increased genomic damage. On the contrary, workers exposed in the past experienced a persistently elevated genomic instability, which may be used for risk assessment at subgroup or individual level.

Sánchez-Flores M, Marcos-Pérez D, Lorenzo-López L, Maseda A, Millán-Calenti JC, Bonassi S, Pásaro E, Laffon B, Valdiglesias V.

Frailty syndrome and genomic instability in older adults. Suitability of the Cytome Micronucleus Assay as a diagnostic tool.

J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2018 Jun 14;73(7):864-872.

Frailty, a condition involving increased risk of disability and mortality in older adults, has emerged as a reliable way to predict the effect of aging. Genomic instability may help to anticipate recognition of frail individuals and improving frailty outcomes. Our objective was to evaluate the potential of the micronucleus frequency, evaluated in lymphocytes and buccal cells, to anticipate frailty identification and improve diagnosis reliability. Our results, from a group of older adults over 65, showed that frail individuals had significantly higher frequencies of micronucleus in lymphocytes (19.16 ± 0.66 vs. 13.07 ± 0.78 , $p < .001$) and of binucleated buccal cells (82.65 ± 3.42 vs. 37.16 ± 2.85 , $p < .001$) and lower frequencies of pyknotic and condensed chromatin buccal cells, than nonfrail subjects. When cognitive status was considered, similar results were obtained. Moreover, the presence of frailty and cognitive impairment were independently related to increases in frequencies of lymphocyte micronucleus and binucleated buccal cells. Our results encourage

the use of micronucleus frequency in lymphocytes as a complement to clinical parameters in frailty identification. However, these results have to be further evaluated in prefrail patients, to better understand the connection between genomic instability and frailty and to establish these parameters as actual biomarkers of frailty in clinical practice.

Wazzan AAA, Tommelein E, Foubert K, Bonassi S, Onder G, Somers A, Petrovic M, Boussery K.
Development and application of the GheOP3S-Tool addendum on potentially inappropriate prescribing (PIP) of renally excreted active drugs (READs) in older adults with polypharmacy.
Drugs Aging. 2018 Apr;35(4):343-364.

Renal function progressively worsens with age. Potentially inappropriate prescribing (PIP) of renally excreted active drugs (READs) is common in older adults, leading to an increased rate of iatrogenic illness. The Ghent Older People's Prescription community Pharmacy Screening (GheOP3S-) tool is an effective, explicit instrument that was developed for community pharmacists (CPs) to detect PIP. So far, this tool does not assess PIP of the frequently used READs in older patients with renal impairment.

This study aimed to expand the GheOP3S-tool with the first addendum to screen for PIP of frequently used READs, and to perform a cross-sectional analysis using the addendum and the medication history of a group of older adults with polypharmacy.

The addendum was developed in three steps: (1) collection of individual and combined READs, (2) collection of dose-adjustment recommendations, and (3) expert panel evaluation. Consequently, the addendum was applied retrospectively on the medication list of 60 older adults with polypharmacy and with four renal function-estimating equations.

The addendum includes 61 READs recommendations for dose/drug-adjustment alternatives, laboratory test follow-ups, and patients' referral to specialists' care. In the cross-sectional analysis, 35-78% of patients were diagnosed with renal impairment, depending on the equations used for renal function estimation. Among patients with renal impairment, 21-46% of the prescribed READs were deemed potentially inappropriate by the GheOP3S-tool addendum.

The GheOP3S-tool was expanded with an addendum on PIP of READs in renal impairment for older patients. The cross-sectional analysis using the addendum suggests that PIP of READs is common in older patients with polypharmacy and renal impairment. Using this addendum, CPs might contribute to diminishing PIP of READs.

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. 2018 Mar;10(3):488-495.

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 1.5µM (IQR 0.7-2.6) for ADH1B GG genotype and 1.6µM (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 µM (IQR 0.7-2.6) for ADH7 CC genotype and 1.5 µM (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.

Ruffolo G, Di Bonaventura C, Cifelli P, Roseti C, Fattouch J, Morano A, Limatola C, Aronica E, Palma, Giallonardo AT.

A novel action of lacosamide on GABAA currents sets the ground for a synergic interaction with levetiracetam in treatment of epilepsy.

Neurobiol Dis. 2018 Jul;115:59-68.

Epilepsy is one of the most common chronic neurological diseases, and its pharmacological treatment holds great importance for both physicians and national authorities, especially considering the high proportion of drug-resistant patients (about 30%). Lacosamide (LCM) is an effective and well-tolerated new-generation antiepileptic drug (AED), currently licensed as add-on therapy for partial-onset seizures. However, LCM mechanism of action is still a matter of debate, although its effect on the voltage sensitive sodium channels is by far the most recognized. This study aimed to retrospectively analyze a cohort of 157 drug-resistant patients treated with LCM to describe the most common and effective therapeutic combinations and to investigate if the LCM can affect also GABAA-mediated neurotransmission as previously shown for levetiracetam (LEV). In our cohort, LEV resulted the compound most frequently associated with LCM in the responder subgroup. We therefore translated this clinical observation into the laboratory bench by taking advantage of the technique of "membrane micro-transplantation" in *Xenopus* oocytes and electrophysiological approaches to study human GABAA-evoked currents. In cortical brain tissues from refractory epileptic patients, we found that LCM reduces the use-dependent GABA impairment (i.e., "rundown") that it is considered one of the specific hallmarks of drug-resistant epilepsies. Notably, in line with our clinical observations, we found that the co-treatment with subthreshold concentrations of LCM and LEV, which had no effect on GABAA currents on their own, reduced GABA impairment in drug-resistant epileptic patients, and this effect was blocked by PKC inhibitors. Our findings demonstrate, for the first time, that LCM targets GABAA receptors and that it can act synergistically with LEV, improving the GABAergic function. This novel mechanism might contribute to explain the clinical efficacy of LCM-LEV combination in several refractory epileptic patients.

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

A novel GABAergic dysfunction in human Dravet syndrome.

Epilepsia. 2018 Nov;59(11):2106-2117.

Dravet syndrome is a rare neurodevelopmental disease, characterized by general cognitive impairment and severe refractory seizures. The majority of patients carry the gene mutation SCN1A, leading to a defective sodium channel that contributes to pathogenic brain excitability. A γ -aminobutyric acid (GABAergic) impairment, as in other neurodevelopmental diseases, has been proposed as an additional mechanism, suggesting that seizures could be alleviated by GABAergic therapies. However, up to now the physiological mechanisms underlying the GABAergic dysfunction in Dravet syndrome are still unknown due to the scarce availability of this brain tissue. Here we studied, for the first time, human GABAA-evoked currents using cortical brain tissue from Dravet syndrome patients.

We transplanted in *Xenopus* oocytes cell membranes obtained from brain tissues of autopsies of Dravet syndrome patients, tuberous sclerosis complex patients as a pathological comparison, and age-matched controls. Additionally, experiments were performed on oocytes expressing human $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ and $\alpha 1\beta 2$ GABAA receptors. GABAA currents were recorded using the two-microelectrodes voltage-clamp technique. Quantitative real-time polymerase chain reaction, immunohistochemistry, and double-labeling techniques were carried out on the same tissue samples.

We found (1) a decrease in GABA sensitivity in Dravet syndrome compared to controls, which was related to an increase in $\alpha 4$ - relative to $\alpha 1$ -containing GABAA receptors; (2) a shift of the GABA reversal potential toward more depolarizing values in Dravet syndrome, and a parallel increase of the chloride transporters NKCC1/KCC2 expression ratio; (3) an increase of GABAA currents induced by low doses of cannabidiol both in Dravet syndrome and tuberous sclerosis complex comparable to that induced by a classical benzodiazepine, flunitrazepam, that still persists in γ -less GABAA receptors.

Our study indicates that a dysfunction of the GABAergic system, considered as a feature of brain immaturity, together with defective sodium channels, can contribute to a general reduction of inhibitory efficacy in Dravet brain, suggesting that GABAA receptors could be a target for new therapies.

Gentile A, Musella A, De Vito F, Fresegna D, Bullitta S, Rizzo FR, Centonze D, Mandolesi G.

Laquinimod ameliorates excitotoxic damage by regulating glutamate re-uptake.

J Neuroinflammation.2018 Jan 5;15(1):5.

Laquinimod is an immunomodulatory drug under clinical investigation for the treatment of the progressive form of multiple sclerosis (MS) with both anti-inflammatory and neuroprotective effects. Excitotoxicity, a prominent pathophysiological feature of MS and of its animal model, experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), involves glutamate transporter (GluT) dysfunction in glial cells. The aim of this study was to assess whether laquinimod might exert direct neuroprotective effects by interfering with the mechanisms of excitotoxicity linked to GluT function impairments in EAE.

Osmotic minipumps allowing continuous intracerebroventricular (icv) infusion of laquinimod for 4 weeks were implanted into C57BL/6 mice before EAE induction. EAE cerebella were taken to perform western blot and qPCR experiments. For ex vivo experiments, EAE cerebellar slices were incubated with laquinimod before performing electrophysiology, western blot, and qPCR.

In vivo treatment with laquinimod attenuated EAE clinical score at the peak of the disease, without remarkable effects on inflammatory markers. In vitro application of laquinimod to EAE cerebellar slices prevented EAE-linked glutamatergic alterations without mitigating astrogliosis and inflammation. Moreover, such treatment induced an increase of Slca3 mRNA coding for the glial glutamate-aspartate transporter (GLAST) without affecting the protein content. Concomitantly, laquinimod significantly increased the levels of the glial glutamate transporter 1 (GLT-1) protein and pharmacological blockade of GLT-1 function fully abolished laquinimod anti-excitotoxic effect.

Overall, our results suggest that laquinimod protects against glutamate excitotoxicity of the cerebellum of EAE mice by bursting the expression of glial glutamate transporters, independently of its anti-inflammatory effects.

Stampanoni Bassi M, Iezzi E, Marfia G, Simonelli I, Musella A, Mandolesi G, Fresegna D, Pasqualetti P, Furlan R, Finardi A, Mataluni G, Landi D, Gilio L, Centonze D, Buttari F.

Platelet-derived growth factor predicts prolonged relapse-free period in multiple sclerosis.

J Neuroinflammation. 2018 Apr 14;15(1):108.

In the early phases of relapsing-remitting multiple sclerosis (RR-MS), a clear correlation between brain lesion load and clinical disability is often lacking, originating the so-called clinico-radiological paradox. Different factors may contribute to such discrepancy. In particular, synaptic plasticity may reduce the clinical expression of brain damage producing enduring enhancement of synaptic strength largely dependent on neurotrophin-induced protein synthesis. Cytokines released by the immune cells during acute inflammation can alter synaptic transmission and plasticity possibly influencing the clinical course of MS. In addition, immune cells may promote brain repair during the post-acute phases, by secreting different growth factors involved in neuronal and oligodendroglial cell survival. Platelet-derived growth factor (PDGF) is a neurotrophic factor that could be particularly involved in clinical recovery. Indeed, PDGF promotes long-term potentiation of synaptic activity in vitro and in MS and could therefore represent a key factor improving the clinical compensation of new brain lesions. The aim of the present study is to explore whether cerebrospinal fluid (CSF) PDGF concentrations at the time of diagnosis may influence the clinical course of RR-MS.

At the time of diagnosis, we measured in 100 consecutive early MS patients the CSF concentrations of PDGF, of the main pro- and anti-inflammatory cytokines, and of reliable markers of neuronal damage. Clinical and radiological parameters of disease activity were prospectively collected during follow-up. CSF PDGF levels were positively correlated with prolonged relapse-free survival. Radiological markers of disease activity, biochemical markers of neuronal damage, and clinical parameters of disease progression were instead not influenced by PDGF concentrations. Higher CSF PDGF levels were associated with an anti-inflammatory milieu within the central nervous system.

Our results suggest that PDGF could promote a more prolonged relapse-free period during the course of RR-MS, without influencing inflammation reactivation and inflammation-driven neuronal damage and likely enhancing adaptive plasticity.

Musella A, Gentile A, Rizzo FR, De Vito F, Fresegna D, Bullitta S, Vanni V, Guadalupi L, Stampanoni Bassi M, Buttari F, Centonze D, Mandolesi G.

Interplay between age and neuroinflammation in multiple sclerosis: effects on motor and cognitive functions.

Front Aging Neurosci. 2018 Aug 8;10:238. eCollection 2018.

Aging is one of the main risk factors for the development of many neurodegenerative diseases. Emerging evidence has acknowledged neuroinflammation as potential trigger of the functional changes occurring during normal and pathological aging. Two main determinants have been recognized to cogently contribute to neuroinflammation in the aging brain, i.e., the systemic chronic low-grade inflammation and the decline in the regulation of adaptive and innate immune systems (immunosenescence, ISC). The persistence of the inflammatory status in the brain in turn may cause synaptopathy and synaptic plasticity impairments that underlie both motor and cognitive dysfunctions. Interestingly, such inflammation-dependent synaptic dysfunctions have been recently involved in the pathophysiology of multiple sclerosis (MS). MS is an autoimmune neurodegenerative disease, typically affecting young adults that cause an early and progressive deterioration of both cognitive and motor functions. Of note, recent controlled studies have clearly shown that age at onset modifies prognosis and exerts a significant effect on presenting phenotype, suggesting that aging is a significant factor associated to the clinical course of MS. Moreover, some lines of evidence point to the different impact of age on motor disability and cognitive deficits, being the former most affected than the latter. The precise contribution of aging-related factors to MS neurological disability and the underlying molecular and cellular mechanisms are still unclear. In the present review article, we first emphasize the importance of the neuroinflammatory dependent mechanisms, such as synaptopathy and synaptic plasticity impairments, suggesting their potential exacerbation or acceleration with advancing age in the MS disease. Lastly, we provide an overview of clinical and experimental studies highlighting the different impact of age on motor disability and cognitive decline in MS, raising challenging questions on the putative age-related mechanisms involved.

Stampanoni Bassi M, Iezzi E, Landi D, Monteleone F, Gilio L, Simonelli I, Musella A, Mandolesi G, De Vito F, Furlan R, Finardi A, Marfia GA, Centonze D, Buttari F.

Delayed treatment of MS is associated with high CSF levels of IL-6 and IL-8 and worse future disease course.

J Neurol. 2018 Nov;265(11):2540-2547.

Clinical deterioration of relapsing-remitting MS (RR-MS) patients reflects not only the number and severity of overt inflammatory and demyelinating episodes, but also subtle central damage caused by persistent exposure to inflammatory molecules.

To explore the correlation between levels of CSF inflammatory molecules at the time of diagnosis and both demographic and clinical characteristics of a large sample of RR-MS patients, as well as the predictive value of cytokine levels on their prospective disease course.

In 205 patients diagnosed with RR-MS, we measured at the time of diagnosis the CSF levels of inflammatory molecules. Clinical and MRI evaluation was collected at the time of CSF withdrawal and during a median follow-up of 3 years.

The time interval between the first anamnestic episode of focal neurological dysfunction and RR-MS diagnosis was the main factor associated with high CSF levels of IL-6 and IL-8. Furthermore, elevated CSF levels of these cytokines correlated with enhanced risk of clinical and radiological disease reactivation, switch to second-line treatments, and with disability progression in the follow-up.

Delayed diagnosis and treatment initiation are associated with higher CSF levels of IL-6 and IL-8 in RR-MS, leading to worsening disease course and poor response to treatments.

Gentile A, De Vito F, Fresegna D, Rizzo FR, Bullitta S, Guadalupi L, Vanni V, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Chiurchiù V, Marfia GA, Mandolesi G, Centonze D, Musella A.

Peripheral t cells from multiple sclerosis patients trigger Synaptotoxic alterations in central neurons

Neuropathol Appl Neurobiol. [Epub ahead of print]

Carresi C, Musolino V, Gliozzi M, Maiuolo J, Mollace R, Nucera S, Maretta A, Sergi D, Muscoli S, Gratteri S, Palma E, Bosco F, Giancotta C, Muscoli C, Marino F, Aquila I, Torella D, Romeo F, Mollace V.

Anti-oxidant effect of bergamot polyphenolic fraction counteracts doxorubicin-induced cardiomyopathy: Role of autophagy and c-kit^{pos}CD45^{neg}CD31^{neg} cardiac stem cell activation.

J Mol Cell Cardiol. 2018 Jun;119:10-18. doi: 10.1016/j.yjmcc.2018.04.007. Epub 2018 Apr 12.

Doxorubicin (DOXO) is one of the most widely used antineoplastic drugs. Despite its highly beneficial effects against several malignancies, the clinical use of DOXO is often associated to cardiomyopathy that leads to congestive heart failure. Here we investigated the antioxidant and cardioprotective effects of a polyphenol-rich fraction of citrus bergamot (BPF), in DOXO-induced cardiac damage in rats. Moreover, we evaluated the effect of BPF on cardiomyocyte survival and resident endogenous cardiac stem/progenitor cell (eCSC) activation. Adult male Wistar rats were i.p. injected with saline (serving as controls, CTRL, n = 10), BPF (20 mg/kg daily for 14 consecutive days, n = 10), DOXO (6 doses of 2,5 mg/Kg from day 1 to day 14, n = 10), and DOXO + BPF (n = 10). Animals were then sacrificed 7 days later (i.e., at 21 days). DOXO administration reduced cardiac function at 21 days, an adverse effect significantly attenuated in animals receiving DOXO + BPF. No changes were detected in rats receiving just saline or BPF alone. The cardioprotective effect of BPF on DOXO acute toxicity was also associated with a significant antioxidant effect coupled with protective autophagy restoration, and attenuation of cardiomyocyte apoptosis and reactive hypertrophy. Finally, treatment of rats with BPF prevented eCSCs attrition by DOXO which was followed by a limited but significant increase of newly-formed BrdU⁺ cardiomyocytes. In conclusion, BPF reduces DOXO-induced cardiotoxicity by counteracting reactive oxygen species (ROS) overproduction, thereby restoring protective autophagy and attenuating cardiomyocyte apoptosis and pathologic remodeling. This beneficial effects on the early toxicity of DOXO is associated with enhanced CSCs survival and regenerative potential. Overall these data point to a potential clinical role by diet supplementation with polyphenol-rich fraction of citrus bergamot in counteracting anthracycline-induced cardiomyopathy.

Maiuolo J, Maretta A, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Bosco F, Mollace R, Scarano F, Palma E, Scicchitano M, Nucera S, Sergi D, Muscoli S, Gratteri S, Muscoli C, Mollace V.

Ethanol-induced cardiomyocyte toxicity implicit autophagy and NFkB transcription factor.

Pharmacol Res. 2018 Jul;133:141-150.

Chronic ethanol (EtOH) consumption causes early detrimental consequences in many tissues including the myocardium, though the molecular mechanisms leading to the alcoholic cardiomyopathy (ACM) still remain to be elucidated. Here, we studied several biomolecular changes occurring in cardiomyoblasts after their exposure to sublethal concentrations of EtOH and the potential synergistic effect with methylmercury (MM) or doxorubicin (DOXO), which are known to produce direct myocardial dysfunction. In addition, the possible role of autophagic responses and Nuclear Factor kappa-B (NFkB) modulation in early post-alcoholic myocardial damage has been investigated. H9c2 rat cardiomyoblasts were incubated for fifteen days with a sub-lethal concentrations of EtOH (1-1000 μ M). In particular, treatment of H9c2 cells with EtOH produced an increase of reactive oxygen species (ROS) and the activation of autophagy. Furthermore, chronic exposure to EtOH, was accompanied by a translocation of NFkB into the nucleus dose-dependently. Finally, co-incubation of EtOH (1-1000 μ M) with sublethal concentrations of MM or DOXO showed a prominent apoptotic death of cardiomyoblasts accompanied by ROS overproduction, autophagy activation and by an increased nuclear translocation of NFkB as compared to untreated cells. Thus, EtOH produces early changes in cardiomyoblasts characterized by oxidative stress, reactive autophagy and NFkB modulation at concentrations unable to produce direct cell death. Combination of EtOH with cardiotoxic pollutants or drugs makes the cardiomyocyte vulnerable to exogenous insults leading to apoptosis. These data contribute to better identify molecular mechanisms underlying early stages of alcoholic cardiomyopathy and suggest novel strategies to counteract integrated risk of cardiotoxicity in chronic alcohol consumption.

Int J Mol Sci. 2018 Sep 10;19(9).

The "Frail" Brain Blood Barrier in Neurodegenerative Diseases: Role of Early Disruption of Endothelial Cell-to-Cell Connections.

Maiuolo J, Gliozzi M, Musolino V, Scicchitano M, Carresi C, Scarano F, Bosco F, Nucera S, Ruga S, Zito MC, Mollace R, Palma E, Fini M, Muscoli C, Mollace V.

The main neurovascular unit of the Blood Brain Barrier (BBB) consists of a cellular component, which includes endothelial cells, astrocytes, pericytes, microglia, neurons, and oligodendrocytes as well as a non-cellular component resulting from the extracellular matrix. The endothelial cells are the major vital components of the BBB able to preserve the brain homeostasis. These cells are situated along the demarcation line between the bloodstream and the brain. Therefore, an alteration or the progressive disruption of the endothelial layer may clearly impair the brain homeostasis. The proper functioning of the brain endothelial cells is generally ensured by two elements: (1) the presence of junction proteins and (2) the preservation of a specific polarity involving an apical-luminal and a basolateral-abluminal membrane. This review intends to identify the molecular mechanisms underlying BBB function and their changes occurring in early stages of neurodegenerative processes in order to develop novel therapeutic strategies aimed to counteract neurodegenerative disorders.

Gliozzi M, Scicchitano M, Bosco F, Musolino V, Carresi C, Scarano F, Maiuolo J, Nucera S, Mareta A, Paone S, Mollace R, Ruga S, Zito MC, Macrì R, Oppedisano F, Palma E, Muscoli C and Mollace V.

Modulation of nitric oxide synthases by oxyLDL: role in vascular inflammation and atherosclerosis development.

Preprints 2018, 2018090285 (doi: 10.20944/preprints201809.0285.v1). Received: 15 September 2018/Approved: 17 September 2018 / Online: 17 September 2018.

The release of nanomolar concentrations of nitric oxide (NO) by endothelial cells (EC), via activation of constitutive NO synthase (eNOS), represents the pre-requisite for the vaso-protective role of vascular endothelium. On the other hand, exaggerated release of NO as a consequence of activation of inducible NO synthase (iNOS), leads to endothelial dysfunction and, at the late stages, to the development of atherothrombosis. Oxidized LDLs (OxyLDL) represent the major candidate to trigger biomolecular processes accompanying endothelial dysfunction and vascular inflammation leading to atherosclerosis development though the pathophysiological mechanism still remains to be elucidated. Here, we summarize recent evidence suggesting that oxyLDL produce significant impairment in the balance in the eNOS/iNOS machinery, downregulating eNOS via HMGB1-TLR4-Caveolin-1 pathway. On the other hand, a sustained activation of the scavenger receptor LOX-1 leads to NFκB activation which, in turn, increases iNOS, leading to EC oxidative stress. Finally, these events are associated to reduced protective autophagic response and accelerated apoptotic EC death which activates atherosclerotic development. Taken together, these informations shed new light into the pathophysiological mechanisms of oxy-LDL-related impairment of EC functionality and open new perspective in atherothrombosis prevention.

De Santa F, Vitiello L, Torcinaro A, Ferraro E.

The Role of Metabolic Remodeling in Macrophage Polarization and Its Effect on Skeletal Muscle Regeneration.

Antioxid Redox Signal. 2018 Oct 9. [Epub ahead of print]

Macrophages are crucial for tissue homeostasis. Based on their activation, they might display classical/M1 or alternative/M2 phenotypes. M1 macrophages produce pro-inflammatory cytokines, reactive oxygen species (ROS), and nitric oxide (NO). M2 macrophages upregulate arginase-1 and reduce NO and ROS levels; they also release anti-inflammatory cytokines, growth factors, and polyamines, thus promoting angiogenesis and tissue healing. Moreover, M1 and M2 display key metabolic differences; M1 polarization is characterized by an enhancement in glycolysis and in the pentose phosphate pathway (PPP) along with a decreased oxidative phosphorylation (OxPhos), whereas M2 are characterized by an efficient OxPhos and reduced PPP. Recent Advances: The glutamine-related metabolism has been discovered as crucial for M2 polarization. Vice versa, flux discontinuities in the Krebs cycle are considered additional M1 features; they lead to increased levels of immunoresponsive gene 1 and itaconic acid, to isocitrate dehydrogenase 1-downregulation and to succinate, citrate, and isocitrate over-expression.

A macrophage classification problem, particularly in vivo, originating from a gap in the knowledge of the several intermediate polarization statuses between the M1 and M2 extremes, characterizes this field.

Moreover, the detailed features of metabolic reprogramming crucial for macrophage polarization are largely unknown; in particular, the role of β -oxidation is highly controversial.

Manipulating the metabolism to redirect macrophage polarization might be useful in various pathologies, including an efficient skeletal muscle regeneration. Unraveling the complexity pertaining to metabolic signatures that are specific for the different macrophage subsets is crucial for identifying new compounds that are able to trigger macrophage polarization and that might be used for therapeutical purposes.

Mollinari C, Zhao J, Lupacchini L, Garaci E, Merlo D, Pei G.

Transdifferentiation: a new promise for neurodegenerative diseases.

Cell Death Dis. 2018 Aug 6;9(8):830.

Neurodegenerative diseases are characterized by a gradual loss of cognitive and physical functions. Medications for these disorders are limited and treat the symptoms only. There are no disease-modifying therapies available, which have been shown to slow or stop the continuing loss of neurons. Transdifferentiation, whereby somatic cells are reprogrammed into another lineage without going through an intermediate proliferative pluripotent stem cell stage, provides an alternative strategy for regenerative medicine and disease modeling. In particular, the transdifferentiation of somatic cells into specific subset of patient-specific neuronal cells offers alternative autologous cell therapeutic strategies for neurodegenerative disorders and presents a rich source of using diverse somatic cell types for relevant applications in translational, personalized medicine, as well as human mechanistic study, new drug-target identification, and novel drug screening systems. Here, we provide a comprehensive overview of the recent development of transdifferentiation research, with particular attention to chemical-induced transdifferentiation and perspectives for modeling and treatment of neurodegenerative diseases.

Espay AJ, Morgante F, Merola A, Fasano A, Marsili L, Fox SH, Bezard E, Picconi B, Calabresi P, Lang A.

Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson disease: Current and evolving concepts.

Ann Neurol. 2018 Dec;84(6):797-811.

Levodopa-induced dyskinesia is a common complication in Parkinson disease. Pathogenic mechanisms include phasic stimulation of dopamine receptors, nonphysiological levodopa-to-dopamine conversion in serotonergic neurons, hyperactivity of corticostriatal glutamatergic transmission, and overstimulation of nicotinic acetylcholine receptors on dopamine-releasing axons. Delay in initiating levodopa is no longer recommended, as dyskinesia development is a function of disease duration rather than cumulative levodopa exposure. We review current and in-development treatments for peak-dose dyskinesia but suggest that improvements in levodopa delivery alone may reduce its future prevalence. Ann Neurol 2018;84:797-811.

Front Cell Neurosci. 2018 Jan 17;12:4.

Intermittent Fasting Applied in Combination with Rotenone Treatment Exacerbates Dopamine Neurons Degeneration in Mice.

Tatulli G, Mitro N, Cannata SM, Audano M, Caruso D, D'Arcangelo G, Lettieri-Barbato D, Aquilano K3.

Intermittent fasting (IF) was suggested to be a powerful nutritional strategy to prevent the onset of age-related neurodegenerative diseases associated with compromised brain bioenergetics. Whether the application of IF in combination with a mitochondrial insult could buffer the neurodegenerative process has never been explored yet. Herein, we defined the effects of IF in C57BL/6J mice treated once per 24 h with rotenone (Rot) for 28 days. Rot is a neurotoxin that inhibits the mitochondrial complex I and causes dopamine neurons degeneration, thus reproducing the neurodegenerative process observed in Parkinson's disease (PD). IF (24 h alternate-day fasting) was applied alone or in concomitance with Rot treatment (Rot/IF). IF and Rot/IF groups showed the same degree of weight loss when compared to control and Rot groups. An accelerating rotarod test revealed that only Rot/IF mice have a decreased ability to sustain the test at the higher speeds. Rot/IF group showed a more marked decrease of dopaminergic neurons and increase in alpha-synuclein (α -syn) accumulation with respect to Rot group in the substantia nigra (SN). Through lipidomics and metabolomics analyses, we found that in the SN of Rot/IF mice a significant elevation of excitatory amino acids, inflammatory lysophospholipids and sphingolipids occurred. Collectively, our data

suggest that, when applied in combination with neurotoxin exposure, IF does not exert neuroprotective effects but rather exacerbate neuronal death by increasing the levels of excitatory amino acids and inflammatory lipids in association with altered brain membrane composition.

Vegliante R, Ciriolo MR.

Autophagy and Autophagic Cell Death: Uncovering New Mechanisms Whereby Dehydroepiandrosterone Promotes Beneficial Effects on Human Health.

VitamHorm. 2018;108:273-307.

Dehydroepiandrosterone (DHEA) is the most abundant steroid hormone in human serum and a precursor of sexual hormones. Its levels, which are maximum between the age of 20 and 30, dramatically decline with aging thus raising the question that many pathological conditions typical of the elderly might be associated with the decrement of circulating DHEA. Moreover, since its very early discovery, DHEA and its metabolites have been shown to be active in many pathophysiological contexts, including cardiovascular disease, brain disorders, and cancer. Indeed, treatment with DHEA has beneficial effects for the cure of these and many other pathologies in vitro, in vivo, and in patient studies. However, the molecular mechanisms underlying DHEA effects have been only partially elucidated. Autophagy is a self-digestive process, by which cell homeostasis is maintained, damaged organelles removed, and cell survival assured upon stress stimuli. However, high rate of autophagy is detrimental and leads to a form of programmed cell death known as autophagic cell death (ACD). In this chapter, we describe the process of autophagy and the morphological and biochemical features of ACD. Moreover, we analyze the beneficial effects of DHEA in several pathologies and the molecular mechanisms with particular emphasis on its regulation of cell death processes. Finally, we review data indicating DHEA and structurally related steroid hormones as modulators of both autophagy and ACD, a research field that opens new avenues in the therapeutic use of these compounds.

Vegliante R, Di Leo L, Ciccarone F, Ciriolo MR.

Hints on ATGL implications in cancer: beyond bioenergetic clues.

Cell Death Dis. 2018 Feb 22;9(3):316.

Among metabolic rearrangements occurring in cancer cells, lipid metabolism alteration has become a hallmark, aimed at sustaining accelerated proliferation. In particular, fatty acids (FAs) are dramatically required by cancer cells as signalling molecules and membrane building blocks, beyond bioenergetics. Along with de novo biosynthesis, free FAs derive from dietary sources or from intracellular lipid droplets, which represent the storage of triacylglycerols (TAGs). Adipose triglyceride lipase (ATGL) is the rate-limiting enzyme of lipolysis, catalysing the first step of intracellular TAGs hydrolysis in several tissues. However, the roles of ATGL in cancer are still neglected though a putative tumour suppressor function of ATGL has been envisaged, as its expression is frequently reduced in different human cancers (e.g., lung, muscle, and pancreas). In this review, we will introduce lipid metabolism focusing on ATGL functions and regulation in normal cell physiology providing also speculative perspectives on potential non-energetic functions of ATGL in cancer. In particular, we will discuss how ATGL is implicated, mainly through the peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR- α) signalling, in inflammation, redox homeostasis and autophagy, which are well-known processes deregulated during cancer formation and/or progression.

Lettieri-Barbato D, Cannata SM, Casagrande V, Ciriolo MR, Aquilano K.

Time-controlled fasting prevents aging-like mitochondrial changes induced by persistent dietary fat overload in skeletal muscle.

PLoS One. 2018 May 9;13(5):e0195912. eCollection 2018.

A large body of evidence suggests that persistent dietary fat overload causes mitochondrial dysfunction and systemic metabolic gridlock. Mitochondrial and lipid metabolism in skeletal muscle (SkM) are severely affected upon persistent high fat diet (HFD) leading to premature tissue aging. Here, we designed weekly cycles of fasting (called as time-controlled fasting, TCF) and showed that they were effective in limiting mitochondrial damage and metabolic disturbances induced by HFD. Specifically, TCF was able to prevent the decline of adipose triglyceride lipase (Atgl), maintain efficient mitochondrial respiration in SkM as well as improve blood glucose and lipid profile. Atgl was found to be the mediator of such preventive effects as its downregulation or up-regulation in C2C12 myotubes triggers mitochondrial alteration or protects against

the deleterious effects of high fat levels respectively. In conclusion, TCF could represent an effective strategy to limit mitochondrial impairment and metabolic inflexibility that are typically induced by modern western diets or during aging.

Di Leo L, Vegliante R, Ciccarone F, Salvatori I, Scimeca M, Bonanno E, Sagnotta A, Grazi GL, Aquilano K, Ciriolo MR.

Forcing ATGL expression in hepatocarcinoma cells imposes glycolytic rewiring through PPAR- α /p300-mediated acetylation of p53.

Oncogene.2018 Oct 26.doi: 10.1038/s41388-018-0545-0. [Epub ahead of print]

Metabolic reprogramming is a typical feature of cancer cells aimed at sustaining high-energetic demand and proliferation rate. Here, we report clear-cut evidence for decreased expression of the adipose triglyceride lipase (ATGL), the first and rate-limiting enzyme of triglyceride hydrolysis, in both human and mouse-induced hepatocellular carcinoma (HCC). We identified metabolic rewiring as major outcome of ATGL overexpression in HCC-derived cell lines. Indeed, ATGL slackened both glucose uptake/utilization and cell proliferation in parallel with increased oxidative metabolism of fatty acids and enhanced mitochondria capacity. We ascribed these ATGL-downstream events to the activity of the tumor-suppressor p53, whose protein levels-but not transcript-were upregulated upon ATGL overexpression. The role of p53 was further assessed by abrogation of the ATGL-mediated effects upon p53 silencing or in p53-null hepatocarcinoma Hep3B cells. Furthermore, we provided insights on the molecular mechanisms governed by ATGL in HCC cells, identifying a new PPAR- α /p300 axis responsible for p53 acetylation/accumulation. Finally, we highlighted that ATGL levels confer different susceptibility of HCC cells to common therapeutic drugs, with ATGL overexpressing cells being more resistant to glycolysis inhibitors (e.g., 2-deoxyglucose and 3-bromopyruvate), compared to genotoxic compounds. Collectively, our data provide evidence for a previously uncovered tumor-suppressor function of ATGL in HCC, with the outlined molecular mechanisms shedding light on new potential targets for anticancer therapy.

Ciccarone F, Castelli S, Ioannilli L, Ciriolo MR.

High Dietary Fat Intake Affects DNA Methylation/Hydroxymethylation in Mouse Heart: Epigenetic Hints for Obesity-Related Cardiac Dysfunction.

MolNutr Food Res. 2018 Dec 4:e1800970. Epub ahead of print

Epigenetic aberrations caused by environmental factors and lifestyle choices have been associated with the development of a number of pathologies, including cardiovascular disorders. However, whether obesity-related heart dysfunction can occur via epigenetic mechanisms is largely undisclosed. The manifested role of DNA hydroxymethylation in heart pathophysiology prompts an investigation of its levels/machinery in heart of mice fed with high-fat diet (HFD) and its possible relation with genes linked to obesity-associated cardiac remodeling.

Alterations in levels of DNA methylation/hydroxymethylation modifications and in expression of Tet family of DNA hydroxylases are observed in hearts of mice treated with HFD for 8 and 16 weeks. Decreased levels of the Tet co-substrate α -ketoglutarate are also observed and associate with mitochondrial mass reduction and augmented oxidative stress. Finally, expression markers of cardiac remodeling are monitored by RT-qPCR analysis and associate with DNA hydroxymethylation signature by DNA immunoprecipitation and correlation analyses.

Global changes of DNA hydroxymethylation in hearts of HFD-fed mice are associated with upregulation of the dioxygenase Tet3 and decreased content of α -ketoglutarate. A relation between Tet genes and markers of cardiac hypertrophic response is observed and, if further validated, it will provide insights concerning epigenetics and obesity-related cardiac complications.

Marroncelli N, Bianchi M, Bertin M, Consalvi S, Saccone V, De Bardi M, Puri PL, Palacios D, Adamo S, Moresi V.

HDAC4 regulates satellite cell proliferation and differentiation by targeting P21 and Sharp1 genes.

Sci Rep. 2018 Feb 22;8(1):3448.

Skeletal muscle exhibits a high regenerative capacity, mainly due to the ability of satellite cells to replicate and differentiate in response to appropriate stimuli. Epigenetic control is effective at different stages of this process. It has been shown that the chromatin-remodeling factor HDAC4 is able to regulate satellite cell proliferation and commitment. However, its molecular targets are still uncovered. To explain the signaling pathways regulated by HDAC4 in satellite cells, we generated tamoxifen-inducible mice with conditional inactivation of HDAC4 in Pax7⁺ cells (HDAC4 KO mice). We found that the proliferation and differentiation of HDAC4 KO satellite cells were compromised, although similar amounts of satellite cells were found in mice. Moreover, we found that the inhibition of HDAC4 in satellite cells was sufficient to block the differentiation process. By RNA-sequencing analysis we identified P21 and Sharp1 as HDAC4 target genes. Reducing the expression of these target genes in HDAC4 KO satellite cells, we also defined the molecular pathways regulated by HDAC4 in the epigenetic control of satellite cell expansion and fusion.

Feraco A, Armani A, Urbanet R, NguyenDinhCat A, Marzolla V, Jaisser F, Caprio M.

Minor role of mature adipocyte mineralocorticoid receptor in high fat induced obesity.

J Endocrinol.2018 Aug 18.pii: JOE-18-0314. [Epub ahead of print]

Obesity is a major risk factor that contribute to the development of cardiovascular disease and type 2 diabetes. Mineralocorticoid receptor (MR) expression is increased in the adipose tissue of obese patients and several studies provide evidence that MR pharmacological antagonism improves glucose metabolism in genetic and diet-induced mouse models of obesity. In order to investigate whether the lack of adipocyte MR is sufficient to explain these beneficial metabolic effects, we generated a mouse model with inducible adipocyte-specific deletion of Nr3c2 gene encoding MR (adipo-MRKO). We observed a significant, yet not complete, reduction of Nr3c2 transcript and MR protein expression in subcutaneous and visceral adipose depots of adipo-MRKO mice. Notably, only mature adipocyte fraction lacks MR, whereas the stromal vascular fraction maintains normal MR expression in our mouse model. Adipo-MRKO mice fed a 45% high fat diet for 14 weeks did not show any significant difference in body weight and fat mass compared to control littermates. Glucose and insulin tolerance tests revealed that mature adipocyte MR deficiency did not improve insulin sensitivity in response to a metabolic homeostatic challenge. Accordingly, no significant changes were observed in gene expression profile of adipogenic and inflammatory markers in adipose tissue of adipo-MRKO mice. Moreover, pharmacological MR antagonism in mature primary murine adipocytes, which differentiated ex vivo from wild-type mice, did not display any effect on adipokine expression. Taken together, these data demonstrate that the depletion of MR in mature adipocytes displays a minor role in diet-induced obesity and metabolic dysfunctions.

Gorini S, Marzolla V, Mammi C, Armani A, Caprio M.

Mineralocorticoid Receptor and Aldosterone-Related Biomarkers of End-Organ Damage in Cardiometabolic Disease.

Biomolecules. 2018 Sep 18;8(3).

The mineralocorticoidreceptor (MR) was first identified as a blood pressure regulator, modulating renal sodium handling in response to its principal ligand aldosterone. The mineralocorticoidreceptor is also expressed in many tissues other than the kidney, such as adipose tissue, heart and vasculature. Recent studies have shown that MR plays a relevant role in the control of cardiovascular and metabolic function, as well as in adipogenesis. Dysregulation of aldosterone/MR signaling represents an important cause of disease as high plasma levels of aldosterone are associated with hypertension, obesity and increased cardiovascular risk. Aldosterone displays powerful vascular effects and acts as a potent pro-fibrotic agent in cardiovascular remodeling. Mineralocorticoidreceptor activation regulates genes involved in vascular and cardiac fibrosis, calcification and inflammation. This review focuses on the role of novel potential biomarkers related to aldosterone/MR system that could help identify cardiovascular and metabolic detrimental conditions, as a result of altered MR activation. Specifically, we discuss: (1) how MR signaling regulates the number and function of different subpopulations of circulating and intra-tissue immune cells; (2) the role of aldosterone/MR system in mediating cardiometabolic diseases induced by obesity; and (3) the role of several MR downstream molecules as novel potential biomarkers of cardiometabolic diseases, end-organdamage and rehabilitation outcome.

Marzolla V, Armani A, Mammi C, Feraco A, Caprio M.

Induction of Atherosclerotic Plaques Through Activation of Mineralocorticoid Receptors in Apolipoprotein E-deficient Mice.

J Vis Exp. 2018 Sep 26;(139).

Atherosclerosis is due to a chronic inflammatory response affecting vascular endothelium and is promoted by several factors such as hypertension, dyslipidemia, and diabetes. To date, there is evidence to support a role for circulating aldosterone as a risk factor for the development of cardiovascular disease. Transgenic mouse models have been generated to study cellular and molecular processes leading to atherosclerosis. In this manuscript, we describe a protocol that takes advantage of continuous infusion of aldosterone in ApoE^{-/-} mice and generates atherosclerotic plaques in the aortic root after 4 weeks of treatment. We, therefore, illustrate a method for quantification and characterization of atherosclerotic lesions at the aortic root level. The added value of aldosterone infusion is represented by the generation of atherosclerotic lesions rich in lipid and inflammatory cells after 4 weeks of treatment. We describe in detail the staining procedures to quantify lipid and macrophage content within the plaque. Notably, in this protocol, we perform heart tissue-embedding in OCT in order to preserve the antigenicity of cardiac tissue and facilitate detectability of antigens of interest. Analysis of the plaque phenotype represents a valid approach to study the pathophysiology of atherosclerosis development and to identify novel pharmacological targets for the development of anti-atherogenic drugs.

Infante M, Armani A, Marzolla V, Fabbri A, Caprio M

Adipocyte Mineralocorticoid Receptor

VitamHorm, 2018 in press

Matteucci C, Argaw-Denboba A, Balestrieri E, Giovinazzo A, Miele M, D'Agostini C, Pica F, Grelli S, Paci M, Mastino A, Sinibaldi Vallebona P, Garaci E, Tomino C.

Deciphering cellular biological processes to clinical application: a new perspective for Tα1 treatment targeting multiple diseases.

Expert OpinBiolTher. 2018 Jul;18(sup1):23-31.

Thymosin alpha 1 (Tα1) is a well-recognized immune response modulator in a wide range of disorders, particularly infections and cancer. The bioinformatic analysis of public databases allows drug repositioning, predicting a new potential area of clinical intervention. We aimed to decipher the cellular network induced by Tα1 treatment to confirm present use and identify new potential clinical applications.

We used the transcriptional profile of human peripheral blood mononuclear cells treated in vitro with Tα1 to perform the enrichment network analysis by the Metascape online tools and the disease enrichment analysis by the DAVID online tool.

Networked cellular responses reflected Tα1 regulated biological processes including immune and metabolic responses, response to compounds and oxidative stress, ion homeostasis, peroxisome biogenesis and drug metabolic process. Beyond cancer and infections, the analysis evidenced the association with disorders such as kidney chronic failure, diabetes, cardiovascular, chronic respiratory, neuropsychiatric, neurodegenerative and autoimmune diseases.

In addition to the known ability to promote immune response pathways, the network enrichment analysis demonstrated that Tα1 regulates cellular metabolic processes and oxidative stress response. Notable, the analysis highlighted the association with several diseases, suggesting new translational implication of Tα1 treatment in pathological conditions unexpected until now.

Marcocci ME, Amatore D, Villa S, Casciaro B, Aimola P, Franci G, Grieco P, Galdiero M, Palamara AT, Mangoni ML, Nencioni L.

The Amphibian Antimicrobial Peptide Temporin B Inhibits In Vitro Herpes Simplex Virus 1 Infection.

Antimicrob Agents Chemother. 2018 Apr 26;62(5).

The herpes simplex virus 1 (HSV-1) is widespread in the population, and in most cases its infection is asymptomatic. The currently available anti-HSV-1 drugs are acyclovir and its derivatives, although long-term therapy with these agents can lead to drug resistance. Thus, the discovery of novel antiherpetic

compounds deserves additional effort. Naturally occurring antimicrobial peptides (AMPs) represent an interesting class of molecules with potential antiviral properties. To the best of our knowledge, this study is the first demonstration of the *in vitro* anti-HSV-1 activity of temporin B (TB), a short membrane-active amphibian AMP. In particular, when HSV-1 was preincubated with 20 µg/ml TB, significant antiviral activity was observed (a 5-log reduction of the virus titer). Such an effect was due to the disruption of the viral envelope, as demonstrated by transmission electron microscopy. Moreover, TB partially affected different stages of the HSV-1 life cycle, including the attachment and the entry of the virus into the host cell, as well as the subsequent postinfection phase. Furthermore, its efficacy was confirmed on human epithelial cells, suggesting TB as a novel approach for the prevention and/or treatment of HSV-1 infections.

Prezioso C, Scribano D, Rodio DM, Ambrosi C, Trancassini M, Palamara AT, Pietropaolo V.

COS-7-based model: methodological approach to study John Cunningham virus replication cycle.

Virology. 2018 Feb 5;15(1):29.

John Cunningham virus (JCV) is a human neurotropic polyomavirus whose replication in the Central Nervous System (CNS) induces the fatal demyelinating disease, progressive multifocal leukoencephalopathy (PML). JCV propagation and PML investigation have been severely hampered by the lack of an animal model and cell culture systems to propagate JCV have been very limited in their availability and robustness. We previously confirmed that JCV CY strain efficiently replicated in COS-7 cells as demonstrated by the progressive increase of viral load by quantitative PCR (Q-PCR) during the time of transfection and that archetypal regulatory structure was maintained, although two characteristic point mutations were detected during the viral cycle. This short report is an important extension of our previous efforts in defining our reliable model culture system able to support a productive JCV infection. Supernatants collected from transfected cells have been used to infect freshly seeded COS-7 cell line. An infectious viral progeny was obtained as confirmed by Western blot and immunofluorescence assay. During infection, the archetype regulatory region was conserved. Importantly, in this study we developed an improved culture system to obtain a large scale production of JC virus in order to study the genetic features, the biology and the pathogenic mechanisms of JC virus that induce PML.

Conte MP, Superti F, Moio M, Ammendolia MG, Longhi C, Aleandri M, Marazzato M, Goldoni P, Parisi P, Borab Z, Palamara AT, Carlesimo B.

Bacterial biofilm associated with a case of capsular contracture.

New Microbiol. 2018 Jul;41(3):238-241. Epub 2018 Jun 6.

Capsular contracture is one of the most common complications of implant-based breast augmentation. Despite its prevalence, the etiology of capsular contracture remains controversial although the surface texture of the breast implant, the anatomical position of the prosthesis and the presence of bacterial biofilm could be considered trigger factors. In fact, all medical implants are susceptible to bacterial colonization and biofilm formation. The present study demonstrated the presence of microbial biofilm constituted by cocci in a breast implant obtained from a patient with Baker grade II capsular contracture. This suggests that subclinical infection can be present and involved in low grade capsular contracture.

Renga G, Moretti S, Oikonomou V, Borghi M, Zelante T, Paolicelli G, Costantini C, De Zuani M, Vilella VR, Raia V, Del Sordo R, Bartoli A, Baldoni M, Renaud JC, Sidoni A, Garaci E, Maiuri L, Pucillo C, Romani L.

IL-9 and Mast Cells Are Key Players of Candida albicans Commensalism and Pathogenesis in the Gut.

Cell Rep. 2018 May 8;23(6):1767-1778.

Candida albicans is implicated in intestinal diseases. Identifying host signatures that discriminate between the pathogenic versus commensal nature of this human commensal is clinically relevant. In the present study, we identify IL-9 and mast cells (MCs) as key players of Candida commensalism and pathogenicity. By inducing TGF-β in stromal MCs, IL-9 pivotally contributes to mucosal immune tolerance via the indoleamine 2,3-dioxygenase enzyme. However, Candida-driven IL-9 and mucosal MCs also contribute to

barrier function loss, dissemination, and inflammation in experimental leaky gut models and are upregulated in patients with celiac disease. Inflammatory dysbiosis occurs with IL-9 and MC deficiency, indicating that the activity of IL-9 and MCs may go beyond host immunity to include regulation of the microbiota. Thus, the output of the IL-9/MC axis is highly contextual during *Candida* colonization and reveals how host immunity and the microbiota finely tune *Candida* behavior in the gut.

Romani L, Oikonomou V, Moretti S, Iannitti RG, D'Adamo MC, Vilella 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.

Publisher Correction: Thymosin α 1 represents a potential potent single-molecule-based therapy for cystic fibrosis.

Nat Med. 2018 Sep;24(9):1482.

Limongi D, Baldelli S, Santi F, D'Agostini C, Palamara AT, Nencioni L, Ciotti M.

Redox alteration in patients infected by different HCV genotypes.

Infez Med. 2018 Sep 1;26(3):249-254.

Chronic hepatitis C virus (HCV) infection plays a pivotal role in hepatocarcinogenesis and has been associated with oxidative DNA damage. Few data have been reported on the general redox state in patients infected with different HCV genotypes. Total antioxidant capacity (TAC) and hydrogen peroxide levels as well as oxidative stress index were measured in serum of hepatitis C chronic patients in relation to genotype, viral load, transaminases level and degree of fibrosis. Serum was obtained from two-hundred-fifty-two HCV infected patients and twenty-five healthy donors. TAC was measured by TAC Colorimetric Assay and hydrogen peroxide concentration by Hydrogen Peroxide Colorimetric Assay Kit. In HCV infected patients, mean serum TAC was 5.62 mM Trolox equivalents which was significantly lower ($p < 0.0001$) than control group (7.25 mM Trolox equivalents). TAC reduction was particularly evident in patients infected by genotype 2 compared to those infected by genotypes 1, 3 and 4. In parallel, high levels of hydrogen peroxide were found in the serum of infected patients, $p=0.0015$. Although no statistically significant correlation was found with the degree of fibrosis, transaminases level or viral load, oxidative stress index was higher in HCV infected patients compared to uninfected controls, $p=0.003$. The results indicate an imbalance of the redox state in HCV infected patients, with a strong reduction of the total antioxidant capacity and high oxidative stress index. Because oxidative burden may favour disease progression, a novel strategy aimed at counteracting it by using antioxidant molecules as adjunct therapy might represent a useful tool in the management of HCV chronic infection.

Severa M, Zhang J, Giacomini E, Rizzo F, Etna MP, Cruciani M, Garaci E, Chopp M, Coccia EM.

Thymosins in multiple sclerosis and its experimental models: moving from basic to clinical application.

Mult Scler Relat Disord. 2019 Jan;27:52-60.

Multiple sclerosis (MS) afflicts more than 2.5 million individuals worldwide and this number is increasing over time. Within the past years, a great number of disease-modifying treatments have emerged; however, efficacious treatments and a cure for MS await discovery. Thymosins, soluble hormone-like peptides produced by the thymus gland, can mediate immune and non-immune physiological processes and have gained interest in recent years as therapeutics in inflammatory and autoimmune diseases.

Pubmed was searched with no time constraints for articles using a combination of the keywords "thymosin/s" or "thymus factor/s" AND "multiple sclerosis", mesh terms with no language restriction.

Here, we review the state-of-the-art on the effects of thymosins on MS and its experimental models. In particular, we describe what is known in this field on the roles of thymosin- α 1 (T α 1) and - β 4 (T β 4) as potential anti-inflammatory as well as neuroprotective and remyelinating molecules and their mechanisms of action.

Based on the data that T α 1 and T β 4 act as anti-inflammatory molecules and as inducers of myelin repair and neuronal protection, respectively, a possible therapeutic application in MS for T α 1 and T β 4 alone or combined with other approved drugs may be envisaged. This approach is reasonable in light of the current clinical usage of T α 1 and data demonstrating the safety, tolerability and efficacy of T β 4 in clinical practice.

Di Sotto A, Checconi P, Celestino I, Locatelli M, Carissimi S, De Angelis M, Rossi V, Limongi D, Toniolo C, Martinoli L, Di Giacomo S, Palamara AT, Nencioni L.

Antiviral and Antioxidant Activity of a Hydroalcoholic Extract from *Humulus lupulus* L.

Oxid Med Cell Longev. 2018 Jul 24;2018:5919237.

A hydroalcoholic extract from female inflorescences of *Humulus lupulus* L. (HOP extract) was evaluated for its anti-influenza activity. The ability of the extract to interfere with different phases of viral replication was assessed, as well as its effect on the intracellular redox state, being unbalanced versus the oxidative state in infected cells. The radical scavenging power, inhibition of lipoperoxidation, and ferric reducing activity were assayed as antioxidant mechanisms. A phytochemical characterization of the extract was also performed. We found that HOP extract significantly inhibited replication of various viral strains, at different time from infection. Viral replication was partly inhibited when virus was incubated with extract before infection, suggesting a direct effect on the virions. Since HOP extract was able to restore the reducing conditions of infected cells, by increasing glutathione content, its antiviral activity might be also due to an interference with redox-sensitive pathways required for viral replication. Accordingly, the extract exerted radical scavenging and reducing effects and inhibited lipoperoxidation and the tBOOH-induced cytotoxicity. At phytochemical analysis, different phenolics were identified, which altogether might contribute to HOP antiviral effect. In conclusion, our results highlighted anti-influenza and antioxidant properties of HOP extract, which encourage further *in vivo* studies to evaluate its possible application.

Villella VR, Venerando A, Cozza G, Esposito S, Ferrari E, Monzani R, Spinella MC, Oikonomou V, Renga G, Tosco A, Rossin F, Guido S, Silano M, Garaci E, Chao YK, Grimm C, Luciani A, Romani L, Piacentini M, Raia V, Kroemer G, Maiuri L.

A pathogenic role for cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in celiac disease.

EMBO J. 2019 Jan 15;38(2). Epub 2018 Nov 29.

Intestinal handling of dietary proteins usually prevents local inflammatory and immune responses and promotes oral tolerance. However, in ~ 1% of the world population, gluten proteins from wheat and related cereals trigger an HLA DQ2/8-restricted T_H1 immune and antibody response leading to celiac disease. Prior epithelial stress and innate immune activation are essential for breaking oral tolerance to the gluten component gliadin. How gliadin subverts host intestinal mucosal defenses remains elusive. Here, we show that the α -gliadin-derived LGQQQPFPPQQPY peptide (P31-43) inhibits the function of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR), an anion channel pivotal for epithelial adaptation to cell-autonomous or environmental stress. P31-43 binds to, and reduces ATPase activity of, the nucleotide-binding domain-1 (NBD1) of CFTR, thus impairing CFTR function. This generates epithelial stress, tissue transglutaminase and inflammasome activation, NF- κ B nuclear translocation and IL-15 production, that all can be prevented by potentiators of CFTR channel gating. The CFTR potentiator VX-770 attenuates gliadin-induced inflammation and promotes a tolerogenic response in gluten-sensitive mice and cells from celiac patients. Our results unveil a primordial role for CFTR as a central hub orchestrating gliadin activities and identify a novel therapeutic option for celiac disease.

Pica F, Gaziano R, Casalnuovo I, Moroni G, Buè C, Limongi D, D'Agostini C, Tomino C, Perricone R, Palamara AT, Sinibaldi Vallebbona P, Garaci E.

Serum thymosin alpha 1 levels in normal and pathological conditions.

Expert Opin Biol Ther. 2018 Jul;18(sup1):13-21.

Thymosin alpha 1 (Ta1) is a natural occurring peptide hormone that is crucial for the maintenance of the organism homeostasis. It has been chemically synthesized and used in diseases where the immune system is hindered or malfunctioning. Areas covered: Many clinical trials investigate the Ta1 effects in patients with cancer, infectious diseases and as a vaccine enhancer. The number of diseases that could benefit from Ta1 treatment is increasing. To date, questions remain about the physiological basal levels of Ta1 and the most effective dose and schedule of treatment. Evidence is growing that diseases characterized by deregulation of immune and/or inflammatory responses are associated with serum levels of Ta1 significantly lower than those of healthy individuals: to date, B hepatitis, psoriatic arthritis, multiple sclerosis and sepsis. The sputum of cystic fibrosis patients contains lower levels of Ta1 than healthy controls. These data are consistent with the role of Ta1 as a regulator of immunity, tolerance and inflammation. Expert opinion: Low serum Ta1

levels are predictive and/or associated with different pathological conditions. In case of Tα1 treatment, it is crucial to know the patient's baseline serum Tα1 level to establish effective treatment protocols and monitor their effectiveness over time.

Matteucci C, Argaw-Denboba A, Balestrieri E, Giovinazzo A, Miele M, D'Agostini C, Pica F, Grelli S, Paci M, Mastino A, Sinibaldi Vallebona P, Garaci E, Tomino C.

Deciphering cellular biological processes to clinical application: a new perspective for Tα1 treatment targeting multiple diseases.

Expert Opin Biol Ther. 2018 Jul;18 (sup1):23-31.

Thymosin alpha 1 (Tα1) is a well-recognized immune response modulator in a wide range of disorders, particularly infections and cancer. The bioinformatic analysis of public databases allows drug repositioning, predicting a new potential area of clinical intervention. We aimed to decipher the cellular network induced by Tα1 treatment to confirm present use and identify new potential clinical applications.

We used the transcriptional profile of human peripheral blood mononuclear cells treated *in vitro* with Tα1 to perform the enrichment network analysis by the Metascape online tools and the disease enrichment analysis by the DAVID online tool.

Networked cellular responses reflected Tα1 regulated biological processes including immune and metabolic responses, response to compounds and oxidative stress, ion homeostasis, peroxisome biogenesis and drug metabolic process. Beyond cancer and infections, the analysis evidenced the association with disorders such as kidney chronic failure, diabetes, cardiovascular, chronic respiratory, neuropsychiatric, neurodegenerative and autoimmune diseases.

In addition to the known ability to promote immune response pathways, the network enrichment analysis demonstrated that Tα1 regulates cellular metabolic processes and oxidative stress response. Notable, the analysis highlighted the association with several diseases, suggesting new translational implication of Tα1 treatment in pathological conditions unexpected until now.

Mardente S, Mari E, Massimi I, Tafani M, Guerriero R, Morsilli O, Pulcinelli FM, Bianchi ME, Zicari A.

From Human Megakaryocytes to Platelets: Effects of Aspirin on High-Mobility Group Box 1/Receptor for Advanced Glycation End Products Axis.

Front Immunol. 2018 Jan 12;8:1946.

Platelets (PLTs) are the major source of high-mobility group box 1 (HMGB1), a protein that is involved in sterile inflammation of blood vessels and thrombosis. Megakaryocytes (MKs) synthesize HMGB1 and transfer both protein and mRNA into PLTs and PLT-derived microvesicles (MV). Free HMGB1 found in supernatants of *in vitro* differentiated MKs and in a megakaryoblastic cell line (DAMI cells). Aspirin "*in vivo*" and "*in vitro*" not only reduces HMGB1 and receptor for advanced glycation end products expression on MKs and PLTs but also drives the movement of HMGB1 from MKs into PLTs and PLT-derived MV. These findings suggest that consumption of low doses of aspirin reduces the risk of atherosclerosis complications as well as reducing PLT aggregation by the inhibition of COX-1.

Magrone T, Russo MA, Jirillo E.

Antimicrobial Peptides: Phylogenic Sources and Biological Activities. First of Two Parts.

Curr Pharm Des. 2018;24(10):1043-1053.

Antimicrobial peptides (AMPs) are phylogenetically ancient substances released by living organisms for self protection against a broad variety of microbes. Moreover, AMPs are endowed with immune modulatory activities, linking innate and adaptive immunity together. Lantibiotics are AMPs of bacterial origin currently investigated for the generation of a new class of anti-infective compounds, owing to the phenomenon of antibiotic resistance against a broad variety of bacteria. Also, plants and marine AMPs are screened as novel drugs against human pathogens. Human AMPs encompass defensins and cathelicidins produced by various cell types mostly at mucosal sites. Besides their antimicrobial activity, both AMPs have been shown to trigger either inflammatory or anti-inflammatory pathways. Food-derived AMPs are mostly represented by lactoferrin and lysozyme both present in secretions, e.g., milk, and appear to be very exploitable for the

generation of functional foods. Finally, the role of natural products ingested with food or administered as supplements on induction and production of AMPs will be discussed.

Puddighinu G, D'Amario D, Foglio E, Manchi M, Siracusano A, Pontemezzo E, Cordella M, Facchiano F, Pellegrini L, Mangoni A, Tafani M, Crea F, Germani A, Russo MA, Limana F.

Molecular mechanisms of cardioprotective effects mediated by transplanted cardiac ckit⁺ cells through the activation of an inflammatory hypoxia-dependent reparative response.

Oncotarget. 2017 Dec 6;9(1):937-957. doi: 10.18632/oncotarget.22946. eCollection 2018 Jan 2.

The regenerative effects of cardiac ckit⁺ stem cells (ckit⁺CSCs) in acute myocardial infarction (MI) have been studied extensively, but how these cells exert a protective effect on cardiomyocytes is not well known. Growing evidences suggest that in adult stem cells injury triggers inflammatory signaling pathways which control tissue repair and regeneration. Aim of the present study was to determine the mechanisms underlying the cardioprotective effects of ckit⁺CSCs following transplantation in a murine model of MI. Following isolation and *in vitro* expansion, cardiac ckit⁺CSCs were subjected to normoxic and hypoxic conditions and assessed at different time points. These cells adapted to hypoxia as showed by the activation of HIF-1 α and the expression of a number of genes, such as VEGF, GLUT1, EPO, HKII and, importantly, of alarmin receptors, such as RAGE, P2X7R, TLR2 and TLR4. Activation of these receptors determined an NFkB-dependent inflammatory and reparative gene response (IRR). Importantly, hypoxic ckit⁺CSCs increased the secretion of the survival growth factors IGF-1 and HGF. To verify whether activation of the IRR in a hypoxic microenvironment could exert a beneficial effect *in vivo*, autologous ckit⁺CSCs were transplanted into mouse heart following MI. Interestingly, transplantation of ckit⁺CSCs lowered apoptotic rates and induced autophagy in the peri-infarct area; further, it reduced hypertrophy and fibrosis and, most importantly, improved cardiac function. ckit⁺CSCs are able to adapt to a hypoxic environment and activate an inflammatory and reparative response that could account, at least in part, for a protective effect on stressed cardiomyocytes following transplantation in the infarcted heart.

Frustaci A, Verardo R, Grande C, Galea N, Piselli P, Carbone I, Alfarano M, Russo MA, Chimenti C.

Immune-Mediated Myocarditis in Fabry Disease Cardiomyopathy.

J Am Heart Assoc. 2018 Sep 4;7(17):e009052.

Background Glycosphingolipid accumulation in Fabry cells generates a proinflammatory response that may influence disease evolution and responsiveness to enzyme replacement therapy. This study evaluated incidence, mechanism, and impact of myocarditis in Fabry disease cardiomyopathy (FDCM). Methods and Results Myocarditis, defined as CD 3⁺ T lymphocytes >7/mm² associated with necrosis of glycolipid-laden myocardiocytes, was retrospectively evaluated in endomyocardial biopsies from 78 patients with FDCM : 13 with maximal wall thickness (MWT) <11 mm (group 1), 17 with MWT 11 to 15 mm (group 2), 30 with MWT 16 to 20 mm (group 3), and 18 with MWT >20 mm (group 4). Myocarditis was investigated by polymerase chain reaction for cardiotropic viruses, by serum antiheart and antimyosin antibodies, and by cardiac magnetic resonance. Myocarditis was recognized at histology in 48 of 78 patients with FDCM (38% of group 1, 41% of group 2, 66% of group 3, and 72% of group 4). Myocarditis was characterized by positive antiheart and antimyosin antibodies and negative polymerase chain reaction for viral genomes. CD 3⁺ cells/mm² correlated with myocyte necrosis, antimyosin autoantibody titer, and MWT (P<0.001, r=0.79; P<0.001, r=0.84; P<0.001, r=0.61, respectively). Cardiac magnetic resonance showed myocardial edema in 24 of 78 patients (31%): 0% of group 1, 23% of group 2, 37% of group 3, and 50% of group 4. Conclusions Myocarditis is detectable at histology in up to 56% of patients with FDCM . It is immune mediated and correlates with disease severity. It can be disclosed by antiheart/antimyosin autoantibodies and in the advanced phase by cardiac magnetic resonance. It may contribute to progression of FDCM and resistance to enzyme replacement therapy.

C. Chimenti , R. Verardo , C. Grande , M.A. Russo , A. Frustaci

Hypertrophy of unaffected cardiomyocytes concurs to severity of cardiomyopathy in female patients with fabry disease

European Heart Journal (2018) 39 (Supplement), 459

Fabry disease (FD) cardiomyopathy is expected to be less severe in female than in male patients because of the X-linkage and skewed X chromosome inactivation. Nevertheless this is often not the case and the reason is still unclear.

Purpose: Investigate the contribute of unaffected cardiomyocytes to severity of Fabry disease cardiomyopathy in female patients.

Left ventricular (LV) endomyocardial biopsies (3 to 6 specimens each patient mean 4.1 ± 0.9 SD) from twenty-four females (53 ± 11 ys) with FD cardiomyopathy were studied. Patients were divided in four groups according with LV maximal wall thickness (MWT) (group 1 $MWT \leq 10.5$ mm, group 2 $MWT 10.5-15$ mm, group 3 $MWT 16-20$ mm, group 4 $MWT > 20$ mm). In each patient percent of non-affected cells, diameter at nuclear level of affected and non-affected cardiomyocytes and percent area of vacuoles in affected cells were morphometrically evaluated. Cardiomyocyte diameter ≤ 15 micron was considered normal. Data were correlated with MWT at echocardiography.

Percent of non affected cardiomyocytes was $32 \pm 23\%$. Each specimen showed the presence of a mosaic of affected and unaffected cells. Mean value of cardiomyocyte diameter of unaffected cells increased with the severity of left ventricular hypertrophy (Figure panel A, $p < 0.0001$, Spearman $r 0,95$). In particular in Group 1 (4 pts, 38 ± 3 ys, $MWT 9 \pm 3$ mm) unaffected cardiomyocytes were within normal limits (13.3 ± 3.3 micron). In Group 2 (9 pts, 51.4 ± 6.7 ys, $MWT 13.3 \pm 1.5$ mm) and in Group 3 (8 pts, 60.3 ± 9.6 ys, $MWT 17.1 \pm 1.2$ mm, Figure panel B) the diameter of unaffected cells increased progressively (21.0 ± 2.5 micron and 26.5 ± 2.5 micron respectively). In patients with remarkable increase in MWT (3 pts, 63.0 ± 5.6 ys, $MWT 21.0 \pm 1.7$ mm) non affected cells were severely hypertrophied (33.7 ± 3.4 micron). Affected cells were enlarged in all patients (mean 40.1 ± 7.9 micron) with percent vacuoles ranging from 40 to 75% of the cell area.

Hypertrophy of unaffected cardiomyocytes is a major determinant of left ventricular hypertrophy in female patients with FD cardiomyopathy. Paracrine secretion of lysoGB3 or other pro-hypertrophic mediators from affected cells can play a main role.

Mardente S1, Mari E1, Massimi I1, Tafani M1,2, Guerriero R3, Morsilli O3, Pulcinelli FM1, Bianchi ME4, Zicari A1.

From Human Megakaryocytes to Platelets: Effects of Aspirin on High-Mobility Group Box 1/Receptor for Advanced Glycation End Products Axis.

Front Immunol. 2018 Jan 12;8:1946.

Platelets (PLTs) are the major source of high-mobility group box 1 (HMGB1), a protein that is involved in sterile inflammation of blood vessels and thrombosis. Megakaryocytes (MKs) synthesize HMGB1 and transfer both protein and mRNA into PLTs and PLT-derived microvesicles (MV). Free HMGB1 found in supernatants of *in vitro* differentiated MKs and in a megakaryoblastic cell line (DAMI cells). Aspirin "*in vivo*" and "*in vitro*" not only reduces HMGB1 and receptor for advanced glycation end products expression on MKs and PLTs but also drives the movement of HMGB1 from MKs into PLTs and PLT-derived MV. These findings suggest that consumption of low doses of aspirin reduces the risk of atherosclerosis complications as well as reducing PLT aggregation by the inhibition of COX-1.

Magrone T, Russo MA, Jirillo E.

Antimicrobial Peptides: Phylogenic Sources and Biological Activities. First of Two Parts.

Curr Pharm Des. 2018;24(10):1043-1053.

Antimicrobial peptides (AMPs) are phylogenetically ancient substances released by living organisms for self protection against a broad variety of microbes. Moreover, AMPs are endowed with immune modulatory activities, linking innate and adaptive immunity together. Lantibiotics are AMPs of bacterial origin currently investigated for the generation of a new class of anti-infective compounds, owing to the phenomenon of antibiotic resistance against a broad variety of bacteria. Also, plants and marine AMPs are screened as novel drugs against human pathogens. Human AMPs encompass defensins and cathelicidins produced by various cell types mostly at mucosal sites. Besides their antimicrobial activity, both AMPs have been shown to trigger either inflammatory or anti-inflammatory pathways. Food-derived AMPs are mostly represented by lactoferrin and lysozyme both present in secretions, e.g., milk, and appear to be very exploitable for the generation of functional foods. Finally, the role of natural products ingested with food or administered as supplements on induction and production of AMPs will be discussed.

Puddighinu G, D'Amario D, Foglio E, Manchi M, Siracusano A, Pontemezzo E, Cordella M, Facchiano F, Pellegrini L, Mangoni A, Tafani M, Crea F, Germani A, Russo MA, Limana F.

Molecular mechanisms of cardioprotective effects mediated by transplanted cardiac ckit⁺ cells through the activation of an inflammatory hypoxia-dependent reparative response.

Oncotarget. 2017 Dec 6;9(1):937-957.

The regenerative effects of cardiac ckit⁺ stem cells (ckit⁺CSCs) in acute myocardial infarction (MI) have been studied extensively, but how these cells exert a protective effect on cardiomyocytes is not well known. Growing evidences suggest that in adult stem cells injury triggers inflammatory signaling pathways which control tissue repair and regeneration. Aim of the present study was to determine the mechanisms underlying the cardioprotective effects of ckit⁺CSCs following transplantation in a murine model of MI. Following isolation and *in vitro* expansion, cardiac ckit⁺CSCs were subjected to normoxic and hypoxic conditions and assessed at different time points. These cells adapted to hypoxia as showed by the activation of HIF-1 α and the expression of a number of genes, such as VEGF, GLUT1, EPO, HKII and, importantly, of alarmin receptors, such as RAGE, P2X7R, TLR2 and TLR4. Activation of these receptors determined an NFkB-dependent inflammatory and reparative gene response (IRR). Importantly, hypoxic ckit⁺CSCs increased the secretion of the survival growth factors IGF-1 and HGF. To verify whether activation of the IRR in a hypoxic microenvironment could exert a beneficial effect *in vivo*, autologous ckit⁺CSCs were transplanted into mouse heart following MI. Interestingly, transplantation of ckit⁺CSCs lowered apoptotic rates and induced autophagy in the peri-infarct area; further, it reduced hypertrophy and fibrosis and, most importantly, improved cardiac function. ckit⁺CSCs are able to adapt to a hypoxic environment and activate an inflammatory and reparative response that could account, at least in part, for a protective effect on stressed cardiomyocytes following transplantation in the infarcted heart.

Puddighinu G, D'Amario D, Foglio E, Manchi M, Siracusano A, Pontemezzo E, Cordella M, Facchiano F, Pellegrini L, Mangoni A, Tafani M, Crea F, Germani A, Russo MA, Limana F.

Molecular mechanisms of cardioprotective effects mediated by transplanted cardiac ckit⁺ cells through the activation of an inflammatory hypoxia-dependent reparative response.

Oncotarget. 2017 Dec 6;9(1):937-957. doi: 10.18632/oncotarget.22946. eCollection 2018 Jan 2.

The regenerative effects of cardiac ckit⁺ stem cells (ckit⁺CSCs) in acute myocardial infarction (MI) have been studied extensively, but how these cells exert a protective effect on cardiomyocytes is not well known. Growing evidences suggest that in adult stem cells injury triggers inflammatory signaling pathways which control tissue repair and regeneration. Aim of the present study was to determine the mechanisms underlying the cardioprotective effects of ckit⁺CSCs following transplantation in a murine model of MI. Following isolation and *in vitro* expansion, cardiac ckit⁺CSCs were subjected to normoxic and hypoxic conditions and assessed at different time points. These cells adapted to hypoxia as showed by the activation of HIF-1 α and the expression of a number of genes, such as VEGF, GLUT1, EPO, HKII and, importantly, of alarmin receptors, such as RAGE, P2X7R, TLR2 and TLR4. Activation of these receptors determined an NFkB-dependent inflammatory and reparative gene response (IRR). Importantly, hypoxic ckit⁺CSCs increased the secretion of the survival growth factors IGF-1 and HGF. To verify whether activation of the IRR in a hypoxic microenvironment could exert a beneficial effect *in vivo*, autologous ckit⁺CSCs were transplanted into mouse heart following MI. Interestingly, transplantation of ckit⁺CSCs lowered apoptotic rates and induced autophagy in the peri-infarct area; further, it reduced hypertrophy and fibrosis and, most importantly, improved cardiac function. ckit⁺CSCs are able to adapt to a hypoxic environment and activate an inflammatory and reparative response that could account, at least in part, for a protective effect on stressed cardiomyocytes following transplantation in the infarcted heart.

Chimenti C, Verardo R, Grande C, Russo MA, Frustaci A

Hypertrophy of unaffected cardiomyocytes concurs to severity of cardiomyopathy in female patients with fabry disease

European Heart Journal 39(suppl_1) August 2018

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.

EndocrMetab Immune Disord Drug Targets. 2018;18(1):85-93.

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⁺ 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⁺ 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.

Magrone T, Spagnoletta A, Magrone M, Russo MA, Corriero A, Jirillo E, Passantino L.

Effects of polyphenol administration to European farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax* L): Special focus on hepatopancreas morphology.

EndocrMetab Immune Disord Drug Targets. 2018 Oct 9 [Epub ahead of print]

Hepatopancreas is an accessory organ associated to the liver in some fish, even including sea bass (*Dicentrarchus labrax* L). Hepatopancreas contains an exocrine portion but until now its function has poorly been investigated.

Here, European farmed sea bass have been treated with a feed enriched in polyphenols extracted from seeds of red grape (Nero di Troia cultivar) at two different doses (100 and 200 mg/kg, respectively) from day 273 to day 323. In fish samples, hepatopancreas area sizes have been measured to evaluate the effects of this dietary regimen on its morphology.

Quite interestingly, in treated fish area sizes of hepatopancreas were higher than those detected in untreated fish. Two hundred dose polyphenols was more effective than that of 100 mg/kg polyphenols. Finally, hepatic polyphenol concentration was diminished in fish receiving 100 mg dose polyphenols and normalized with 200 mg dose in comparison to untreated fish. This evidence suggests the utilization of polyphenols for liver function, even including hepatopancreas development.

Our data suggest an expansion of hepatopancreas induced by polyphenol administration that is also associated to less mortality in farmed fish.

Pellegrini L1, Foglio E2, Pontemezzo E2, Germani A3, Russo MA4, Limana F5.

HMGB1 and repair: focus on the heart.

PharmacolTher. 2018 Dec 6.pii: S0163-7258(18)30221-30223. [Epub ahead of print]

High-mobility group box 1 (HMGB1) is one of the most abundant proteins in eukaryotes and the best characterized damage-associated molecular pattern (DAMP). The biological activities of HMGB1 depend on its subcellular location, context and post-translational modifications. Inside the nucleus, HMGB1 is engaged in many DNA events such as DNA repair, transcription regulation and genome stability; in the cytoplasm, its main function is to regulate the autophagic flux while in the extracellular environment, it possesses more

complicated functions and it is involved in a large variety of different processes such as inflammation, migration, invasion, proliferation, differentiation and tissue regeneration. Due to this pleiotropy, the role of HMGB1 has been vastly investigated in various pathological diseases and a large number of studies have explored its function in cardiovascular pathologies. However, in this context, the precise mechanism of action of HMGB1 and its therapeutic potential are still very controversial since it is debated whether HMGB1 is involved in tissue damage or plays a role in tissue repair and regeneration. The main focus of this review is to provide an overview of the effects of HMGB1 in different ischemic heart diseases and to discuss its functions in these pathological conditions.

Magrone T, Russo MA, Jirillo E.

Dietary approaches to attain fish health with special reference to their immune system.

Curr Pharm Des. [Epub ahead of print]

Fish despite their low collocation in the vertebrate phylum possess a complete immune system. In teleost fish both innate and adaptive immune responses have been described with melanomacrophage centers (MMCs) equivalent to mammalian germinal centers. Primary lymphoid organs are represented by the thymus and kidney, while spleen and mucosa-associated lymphoid tissues act as secondary lymphoid organs. Functions of either innate immune cells (e.g., macrophages and dendritic cells) or adaptive immune cells (T and B lymphocytes) will be described in detail, even including their products, such as cytokines and antibodies. In spite of a robust immune arsenal, fish are very much exposed to infectious agents (marine bacteria, parasites, fungi, and viruses) and, consequentially, mortality is very much enhanced especially in farmed fish. In fact, in aquaculture stressful events (overcrowding) and microbial infections very frequently lead to a high rate of mortality. With the aim to reduce mortality of farmed fish through the reinforcement of their immune status the current trend is to administer natural products together with conventional feed. Then, in the second part of the present review emphasis will be placed on a series of products, such as prebiotics, probiotics and synbiotics, β -glucans, vitamins, fatty acids and polyphenols all used to feed farmed fish. With special reference to polyphenols, results of our group using red grape extracts to feed farmed European sea bass will be illustrated. In particular, determination of cytokine production at intestinal and splenic levels, areas of MMCs and development of hepatopancreas will represent the main biomarkers considered. All together, our own data and those of current literature suggests that natural product administration to farmed fish for their beneficial effects may, in part, solve the problem of fish mortality in aquaculture, enhancing their immune responses.

LINEA 2

Clinica della disabilità

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Analisi della cinematica dell'arto superiore con Motion Capture durante il Box and Blocks test: dati normativi e da pazienti neurologici e pediatrici

Il deficit dell'arto superiore può derivare da una serie di differenti condizioni o patologie, tra le quali l'ictus, la malattia di Parkinson, i disturbi muscolo-scheletrici, la paralisi cerebrale infantile, ecc... Coloro che sono sottoposti a trattamento riabilitativo dell'arto superiore, sono generalmente valutati mediante scale funzionali e motorie, o con test validati per valutare i deficit funzionali e le capacità residue. Uno dei test più comunemente utilizzato per valutare la destrezza manuale è il Box e Blocks Test (BBT). Tuttavia, tutti i test clinici valutano parzialmente il gesto motorio ed ignorano la qualità del movimento eseguito dal soggetto durante l'esecuzione del task, ovvero incorporano tale qualità in un unico fattore qualitativo.

Un modo per eseguire un'analisi dettagliata del gesto motorio è attraverso l'uso della Motion Capture (MoCap), che consente l'analisi quantitativa e oggettiva di come e quanto i segmenti corporei si muovono l'uno rispetto all'altro in un sistema di riferimento globale (analisi della cinematica). Tuttavia, solo pochi recenti studi hanno tentato di strumentare test clinici per l'arto superiore al fine di analizzare la cinematica del movimento durante l'esecuzione di task motori ciclici e ripetibili.

Al fine di poter utilizzare il BBT strumentato presso l'IRCCS San Raffaele Pisana come strumento oggettivo e avanzato di valutazione della performance motoria dell'arto superiore, occorre definire un nuovo protocollo di acquisizione ed elaborazione della cinematica che preveda la posizione seduta dell'utente e che calcoli i dati normativi standardizzati per differenti fasce di età.

Questo studio ha l'obiettivo di standardizzare il BBT strumentato per la valutazione oggettiva della cinematica articolare dell'arto superiore mediante MoCap su 3 popolazioni di soggetti sani (bambini, adulti e anziani). Successivamente alla definizione di dati normativi caratteristici del gesto, lo studio ha come obiettivo la caratterizzazione del movimento dell'arto superiore patologico in differenti popolazioni di pazienti (emisindrome piramidale, malattia di Parkinson, disabilità dello sviluppo, paralisi cerebrale infantile, sindrome di down) confrontando i dati ottenuti rispetto ai dati normativi.

Nello specifico, lo studio si prefigge di:

- definire un protocollo di analisi della cinematica dell'arto superiore mediante MoCap durante il BBT;
- standardizzare il BBT strumentato su 3 popolazioni di soggetti sani (bambini, adulti ed anziani);
- caratterizzare il pattern motorio patologico dell'arto superiore in differenti popolazioni di pazienti (emisindrome piramidale, Malattia di Parkinson, disabilità dello sviluppo, paralisi cerebrale infantile, sindrome di down) confrontando i dati ottenuti rispetto ai dati standardizzati.

Si intende pertanto definire uno strumento oggettivo e avanzato di valutazione della performance motoria dell'arto superiore, da poter utilizzare ampiamente presso l'IRCCS San Raffaele Pisana per comprendere quantitativamente gli effetti delle terapie per l'arto superiore.

Vengono reclutati:

- 60 soggetti sani: 20 bambini (5-14 anni), 20 adulti (25-55 anni), 20 anziani (>65 anni);
- 100 pazienti: 20 soggetti con emisindrome piramidale; 20 soggetti con malattia di Parkinson; 20 soggetti con disabilità dello sviluppo; 20 soggetti paralisi cerebrale infantile; 20 soggetti con sindrome di down.

Vengono registrati dati demografici e clinici (genere, data di nascita, altezza, peso, istruzione, lato dominante, patologia, emisoma, comorbidità, terapia farmacologica, pressione arteriosa e frequenza cardiaca a riposo) e, dipendentemente dalla patologia, vengono somministrate le seguenti scale cliniche:

- Emisindrome piramidale: Fugl Meyer arto superiore (FM-UL), Modified Ashworth Scale arto superiore (MAS), Barthel Index (BI), Frenchay Arm Test (FAT);
- Malattia di Parkinson: Hoehn&Yahr (H&Y), Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) 2 e 3, FOG;
- Disabilità dello sviluppo e Sindrome di Down: Movement ABC-2, APCM 2, GAP-T;
- Paralisi cerebrale infantile: Quality of Upper Extremity Skill Test (QUEST), Melbourne Assessment of Unilateral Upper Limb Function, scala di Ashworth, scala Besta.

I soggetti sono valutati dal punto di vista strumentale con un setup preimpostato, sia con l'arto destro che con quello sinistro durante l'esecuzione di 3 esecuzioni di BBT.

Nel corso del 2018 è stato definito il setup sperimentale specifico per l'arto superiore. E' stato sviluppato un nuovo protocollo di analisi e ricostruzione della cinematica articolare 3D durante l'esecuzione del BBT. Sono stati analizzati 5 soggetti sani. Nel corso del 2019 verrà effettuato il completamento dello studio in termini di reclutamento dei soggetti e di acquisizione dei dati.

Lo sviluppo di un protocollo di valutazione strumentale dell'arto superiore consentirà di quantificare in modo oggettivo lo stato motorio del paziente rendendo possibile la quantificazione degli effetti del trattamento riabilitativo e quindi l'ottimizzazione dei servizi offerti.

Analisi del trattamento logopedico classico per la disartria ipocinetica nella Malattia di Parkinson con comparazione di valutazioni cliniche soggettive e strumentali mediante dispositivo IOPI. Studio pilota

Nella classificazione delle disartrie, i problemi di voce ed eloquio nella Malattia di Parkinson (MP) vengono definiti "Disartria ipocinetica" (Darley et al. 1969) e si caratterizzano per riduzione dell'intensità vocale (ipofonia), qualità di voce soffiata - rauca e aspra-, imprecisione articolatoria a causa del ridotto range di movimenti articolatori che tendono a decadere o accelerare verso la fine della frase, monotono, eloquio affrettato, disfluente o esitante. Oltre a queste caratteristiche si possono rilevare anche palilalia e balbuzie. Queste caratteristiche unitamente ad amimia (facies a maschera) contribuiscono a limitare la comunicazione della maggior parte dei pazienti con MP (Saper 2011), con effetti significativi in ambito psicologico, sociale e lavorativo. L'alterazione della comunicazione è considerata dai pazienti e dai loro familiari uno dei problemi più rilevanti della malattia (Miller 2006).

Nei primi anni '90 è stato sviluppato lo IOPI (Iowa Oral Performance Instrument) per esaminare le relazioni tra la forza, la resistenza della lingua, delle labbra e il controllo motorio dello speech.

Lo IOPI è un dispositivo portatile, palmare che misura la pressione massima che un paziente può produrre in un sensore linguale IOPI premendo il bulbo contro il palato con la lingua. La pressione di picco è una misura della forza, espressa in unità di pressione, il chilo Pascal (kPa). Lo strumento contiene una funzione peak-hold (picco massimo – picco minimo) e un timer ed è così composto: linguetta di plastica flessibile piena d'aria (di circa 3,5 centimetri lunghezza e 4.5 cm di diametro con un volume interno approssimativo di 2,8 ml) collegata tramite un tubo di plastica di 11,5 cm di lunghezza a un sensore linguale monouso sul quale si esercita la pressione di picco [in kiloPascal (kPa)]. I ricercatori hanno utilizzato questo dispositivo in molti studi 43-57-63 per misurare la forza e la resistenza della lingua in quanto i pazienti affetti da disartria presentano affaticabilità oro-motoria. La resistenza infatti è inversamente proporzionale all'affaticabilità: bassi valori di resistenza sono indicativi di elevata affaticabilità.

Attualmente è una delle tecniche di misurazione disponibili più comunemente usate per misurare in maniera oggettiva la forza e la resistenza della lingua.

Lo studio si propone di esaminare la validità del trattamento logopedico classico per la disartria con l'obiettivo di migliorare la qualità della vita dei pazienti afflitti da MP, comparando valutazioni cliniche soggettive con misure strumentali oggettive (IOPI).

Lo studio si prefigge di:

- Osservare eventuali modificazioni cliniche e strumentali (attraverso l'uso del dispositivo IOPI) nel gruppo che esegue una rieducazione logopedica classica.
- Dimostrare con dati oggettivi che il training riabilitativo logopedico porta a benefici funzionali a livello pneumofonoarticolatorio.
- Fornire al paziente l'opportunità di osservare i risultati del proprio lavoro e dei propri sforzi per essere sempre maggiormente stimolato e motivato durante la riabilitazione.
- Valutare la forza della lingua e delle labbra con il dispositivo IOPI pre- e post- trattamento logopedico classico per la disartria.
- Valutare la resistenza della lingua e delle labbra con il dispositivo IOPI pre- e post- trattamento logopedico classico per la disartria.
- Migliorare la prosodia e aumentare l'intelligibilità dello speech.

- Migliorare il livello di comunicazione del paziente.
- Migliorare l'intenzionalità comunicativa del paziente.
- Migliorare la qualità di vita dei pazienti.

Coerentemente con l'ipotesi dello studio è atteso un miglioramento in termini di incremento della forza e della resistenza linguali e buccali (misurate con dispositivo IOPI), con benefici funzionali a livello pneumofonoarticolatorio, di prosodia e intelligibilità dello speech, di comunicazione e intenzionalità comunicativa e conseguentemente di un aumento del benessere bio-psico-sociale e della qualità di vita del paziente.

Viene adoperato un dinamometro per oggettivare il reale aumento di forza e resistenza del distretto oro facciale e quindi misurare indirettamente i benefici e gli effetti della terapia logopedica nei pazienti con il m di Parkinson.

Nel 2018 sono stati inclusi 20 pazienti afferenti al Day Hospitale neuromotorio dell'IRCCS San Raffaele Pisana e nel 2019 si prevede la continuazione del reclutamento.

AREA DI RICERCA PARKINSON E DISTURBI DEL MOVIMENTO

Confronto tra Farmacocinetica e farmacodinamica di differenti formulazioni di Levodopa e formulazione standard in pazienti affetti da Malattia di Parkinson in fase avanzata

La malattia di Parkinson è la seconda malattia neuro-degenerativa in ordine di frequenza dopo la Malattia di Alzheimer. La malattia di Parkinson è caratterizzata da sintomi motori quali tremore, rigidità, lentezza nei movimenti (bradicinesia) e perdita della capacità di iniziare il movimento (acinesia).

La Levodopa (L-dopa o LD) rimane il trattamento più efficace per il controllo dei sintomi motori e tutti i pazienti necessitano, ad un certo stadio della malattia, della sua introduzione in terapia. La Levodopa è una sostanza che oltrepassa la barriera ematoencefalica e viene convertita in dopamina nel cervello. Sfortunatamente il trattamento cronico con LD è associato con complicanze quali fluttuazioni motorie e discinesie. Con il progredire della malattia, la finestra terapeutica della LD si restringe e diventa sempre più difficile controllare i sintomi motori. L'obiettivo terapeutico è quello di assicurare livelli plasmatici di dopamina quanto più costanti possibile in modo da garantire livelli cerebrali costanti di LD. Livelli bassi di dopamina sono correlati ad una ricomparsa dei sintomi motori mentre livelli elevati di farmaco sono correlati alla comparsa di movimenti involontari e allucinazioni. I pazienti in fase avanzata di malattia possono trascorrere diverse ore della giornata affetti da movimenti involontari e fluttuazioni motorie e diventa sempre più difficile ottenere una fase di buon controllo dei sintomi motori senza la comparsa di movimenti involontari.

La terapia standard con LD si avvale di compresse in cui la LD è associata ad un inibitore delle DDC (dopadecarbossilasi): il farmaco ha un'emivita relativamente breve (circa 90 minuti) e la somministrazione intermittente (pulsatile) non è in grado di ripristinare i fisiologici livelli di dopamina. La conseguenza dei livelli plasmatici fluttuanti di LD è la creazione di livelli striatali fluttuanti di dopamina con una stimolazione intermittente, quindi non fisiologica, dei recettori dopaminergici striatali. Tale stimolazione pulsatile si traduce in cambiamenti molecolari nei neuroni striatali e un conseguente non fisiologico funzionamento delle vie che dallo striato hanno origine. Se i livelli sono bassi, il paziente sperimenta quelle che vengono chiamate fluttuazioni motorie: la mancata efficacia di una dose (dose failure), una perdita precoce dell'efficacia (wearing off) e l'improvviso passaggio da una fase di on ad una fase di off. Se invece i livelli dopaminergici risultano troppo alti i pazienti possono presentare movimenti involontari di tipo coreico e allucinazioni. In fase avanzata di malattia, i pazienti possono passare ciclicamente da invalidanti periodi di off a periodi con gravi movimenti involontari e il numero delle ore giornaliere di benessere si riduce progressivamente.

E' stato ipotizzato che la somministrazione "continua" di levodopa produrrebbe livelli striatali di dopamina più stabili evitando l'insorgenza di complicanze motorie. Molti studi clinici hanno infatti dimostrato che l'infusione continua di levodopa è in grado di ridurre sia i periodi di off che le discinesie.

Questo studio intende comparare la farmacocinetica e la farmacodinamica di formulazioni standard di LD (in questo studio Sinemet 100/25) con due differenti formulazioni di LD: la prima ottenuta sciogliendo il Sinemet 100/25 in acqua e somministrandolo per via intra-orale ogni 5 minuti allo scopo di determinare se questa somministrazione semi-continua è in grado di assicurare livelli plasmatici costanti di LD. La seconda formulazione in studio sarà l'Accordion Pill™ contenente Carbidopa/Levodopa. La capsula Accordion Pill™ Carbidopa/Levodopa è stata sviluppata da Intec Pharma Ltd. per estendere la durata dell'attività della Levodopa e la sua efficacia, tramite la permanenza del farmaco nello stomaco per un tempo più lungo.

Lo studi intende:

- Valutare la farmacocinetica plasmatica determinata dalla infusione semi-continua intra-orale della LD e dall'Accordion Pill verso somministrazione intermittente della formulazione standard per determinare se le prime due formulazioni siano in grado di garantire livelli plasmatici più costanti di LD e minimizzare le fluttuazioni motorie.
- Valutare la farmacodinamica delle differenti formulazioni attraverso valutazioni cliniche seriate.

Nel corso del 2018, primo anno di attività, si è provveduto alla definizione del protocollo di farmacocinetica, all'arruolamento dei pazienti e al completamento del protocollo per la prima formulazione in studio.

La prima formulazione testata è costituita da una soluzione ottenuta sciogliendo il Sinemet 100/25 in 50 cc di acqua e somministrata per via intra-orale. Nella pratica clinica è frequente che i pazienti con un erratico assorbimento vengano istruiti a spezzettare le loro pasticche e ad assumerle con acqua per accelerare l'assorbimento e quindi il beneficio clinico.

Ai fini di questo studio, è stata denominata somministrazione orale semi-continua la somministrazione di LD in soluzione ad intervalli di 5-10 minuti. Per ottenere tale soluzione, la compressa di LD è stata spezzettata e somministrata con acqua in modo tale che la dose giornaliera totale di LD, normalmente assunta dal paziente in maniera intermittente, risultasse suddivisa in piccole dosi e somministrata ad intervalli di 5 minuti durante le prime 3 ore di osservazione e ogni 10 minuti per le successive 5 ore.

La soluzione, la cui preparazione è stata rinnovata ogni ora, è stata mantenuta in frigorifero nell'intervallo tra le somministrazioni e agitata prima di ogni somministrazione per assicurarne omogeneità.

Sono stati arruolati per questo studio 6 pazienti affetti da Malattia di Parkinson avanzata, che riferivano un numero di ore di OFF > a 2 ore al giorno.

Si è provveduto alla raccolta della storia clinica e farmacologica del paziente e alla valutazione dei criteri inclusione e di esclusione previsti dal protocollo.

Lo studio di farmacocinetica di questa nuova formulazione ha previsto due giornate di valutazioni:

- durante la prima (giorno di controllo) ai pazienti è stata somministrata la terapia abitualmente assunta a domicilio per un periodo di 8 ore. Le concentrazioni plasmatiche di LD sono state valutate mediante prelievi seriati ottenuti immediatamente prima della prima somministrazione di LD e ad intervalli di 30 minuti per le successive 8 ore di valutazione (per un totale di 17 campioni). Lo stato motorio del paziente (fase di ON o fase di OFF) è stato valutato da un neurologo ogni 30 minuti, mentre la valutazione UPDRS è stata effettuata a 0-2-4 e 8 ore. Una colazione ed un pranzo a basso contenuto proteico sono stati somministrati rispettivamente dopo il raggiungimento della fase ON e dopo 4 ore.
- durante la seconda giornata (PK-Day) il paziente è stato sottoposto ad infusione intra-orale semi-continua con LD (descritta sopra). Il protocollo di valutazione farmacocinetica e clinica applicato è stato lo stesso della prima giornata di studio.

Lo studio si prefigge di valutare la farmacocinetica plasmatica della LD determinata dalla somministrazione intra-orale semi-continua nei confronti della somministrazione intermittente di formulazioni standard per determinare se la prima sia in grado di garantire livelli plasmatici di LD più costanti.

Inoltre, lo studio si prefigge di :

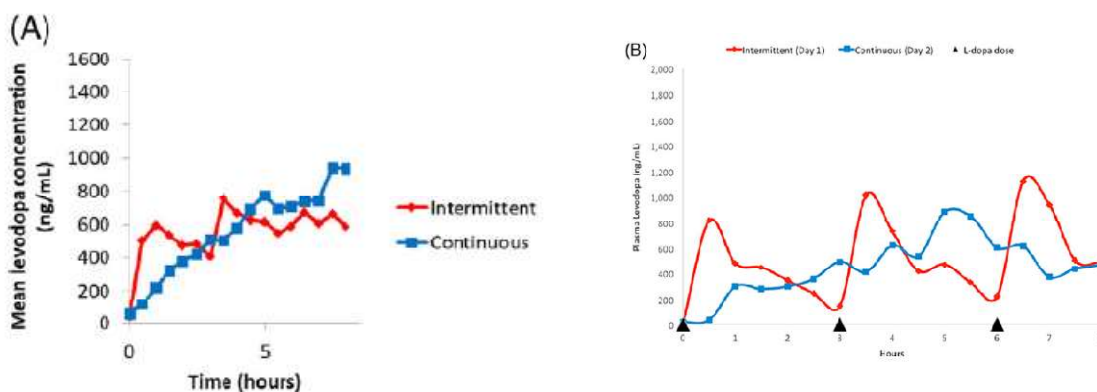
- Valutare la safety e la tollerabilità della somministrazione intra-orale semi-continua di LD.
- Valutare l'effetto sulle ore di off giornaliere della somministrazione intra-orale semi-continua confrontate con la somministrazione intermittente di formulazioni standard di LD.
- Valutare l'efficacia sui sintomi motori della somministrazione intra-orale semi-continua di LD confrontata con la somministrazione intermittente di formulazioni standard di LD.

La somministrazione intra-orale semi-continua di LD è stata in grado di ridurre in maniera significativa la variabilità delle concentrazioni plasmatiche di LD nel corso delle 8 ore di osservazione (Figura A). Il dato significativo è che la somministrazione orale semi-continua è risultata associata ad una marcata riduzione dei picchi e dei cali plasmatici associati alla somministrazione di LD standard. Nella Figura B sono rappresentati i livelli plasmatici ottenuti con la somministrazione semi-continua (in blu) e quelli ottenuti con somministrazione standard (in rosso) in un paziente dello studio che evidenziano proprio l'andamento altalenante delle concentrazioni plasmatiche.

Il tempo di off giornaliero è risultato ridotto in media di 1.9 ore ($P < 0.001$) ed è stato associato ad un aumento delle ore di ON senza discinesie invalidanti di 1.1 ore ($P = 0.101$).

Il trattamento orale semi-continuo era inoltre associato a punteggi UPDRS più bassi ad ogni time-point, con raggiungimento della significatività statistica a 2 ore post-dose.

Durante lo studio non sono stati riportati eventi avversi né sono stati rilevati problemi di tollerabilità locale a livello del cavo orale.



Nel corso del 2019 si provvederà alla definizione del protocollo di farmacocinetica e di valutazione clinica per la seconda formulazione in studio, l'Accordion Pill, al successivo arruolamento e completamento dei sei pazienti previsti e all'analisi dei dati ottenuti.

La "Parky Touch Rugby Therapy" nella riabilitazione dei pazienti affetti da malattia di Parkinson

Gli approcci terapeutici più recenti nell'ambito del trattamento dei pazienti con Malattia di Parkinson hanno evidenziato l'importanza e l'utilità delle cosiddette "terapie complementari" (ad esempio tangoterapia, danza irlandese, Tai-chi, ecc) che, non solo determinano un miglioramento dal punto di vista del benessere fisico, ma anche di quello emotivo e relazionale dal momento che, essendo quasi sempre pratiche di gruppo, hanno il grande vantaggio di favorire la socializzazione. Questo è utile anche dal punto di vista psicologico perché spesso il parkinsoniano tende ad isolarsi, per nascondere la propria condizione di salute, quando, mentre incontrarsi con chi condivide la sua medesima situazione lo può aiutare ad affrontare meglio la malattia.

Il Touch Rugby è uno sport di squadra, variante del rugby a 13 in cui il placcaggio è sostituito da un semplice tocco dell'avversario. Vietando lo scontro fisico, e limitando il contatto ad un lieve tocco di mano sull'avversario, il Touch è il gioco che avvicina uomini e donne o bambini, anche con poca atleticità o totale inesperienza nel rugby, allo spirito essenziale dello stesso, senza il timore di farsi male. Per fermare l'avversario portatore di palla si deve effettuare un tocco a una mano su qualsiasi parte del corpo o sulla palla. Non si calcia la palla; non è possibile passarla in avanti, non si placca non si fanno mischie o rimesse laterali, la palla non deve cadere. La realizzazione della meta vale un punto. Ovviamente vince chi fa più mete.

Coadiuvati e incoraggiati da medici e fisioterapisti, quattro giovani malati di Parkinson hanno sviluppato l'idea di affiancare la riabilitazione neuromotoria "tradizionale" con la "Parky Touch Rugby Therapy". Questa idea è divenuta realtà, radunando i pazienti parkinsoniani, i loro caregivers e semplici simpatizzanti che, oltre a divertirsi in amicizia e all'aria aperta, toccano con mano i benefici psicofisici di questa pratica. Il "Parky Touch Rugby" comporta socializzazione, movimento, miglioramento o recupero delle abilità compromesse dal Parkinson (equilibrio, manualità fine - quella richiesta dalla palla ovale - automatismi in genere e pianificazione nello spazio).

Gli approcci terapeutici "complementari" sono costituiti sia da metodiche create espressamente in considerazione dei bisogni dei pazienti parkinsoniani, sia dall'uso a fini riabilitativi di pratiche che, nate senza alcuna intenzionalità terapeutica specifica (danza, teatro, sport, ecc), si sono dimostrate in seguito dei validi aiuti per chi soffre di Parkinson. Le terapie complementari essendo quasi sempre pratiche di gruppo hanno anche il grande vantaggio di favorire la socializzazione. Esse si basano spesso sull'utilizzo di tecniche di stimolazione sensoriale, mediante strategie che privilegiano il

controllo attenzionale in modo da rendere volontari i programmi motori: nel Touch Rugby lo stimolo è tattile, acustico e visivo.

Lo scopo dello studio è quello di verificare se la partecipazione al torneo di Touch Rugby sia correlata ad un miglioramento della qualità della vita di pazienti e caregivers.

Viene seguita la squadra di “Parky Touch Rugby” composta da 10-14 pazienti affetti da MdP; si valutano i pazienti ed i caregivers prima dell’inizio degli allenamenti, e dopo 3-6-12 mesi, con scale di valutazione volte a misurare la qualità della vita e il benessere psico-fisico (EQ-5D, PDQ-8). Le scale di valutazione motoria necessarie alla caratterizzazione della malattia di Parkinson - quali: Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS), Scala Hoehn &Yahr, Montreal Cognitive Assessment(MoCA) - vengono effettuate solo prima dell’inizio del torneo e alla sua conclusione.

Nel corso del 2018 sono stati arruolati 10 soggetti (sei donne e quattro uomini) affetti da Malattia di Parkinson idiopatica da almeno 3 anni. Il campione di pazienti, di età compresa tra i 45 e i 76 anni, ha svolto un periodo di allenamento di “Parky Touch Rugby”, come da descrizione a seguire.

Prima dell’inizio dell’allenamento, tutti i soggetti sono stati sottoposti a valutazioni cliniche mediante scale solitamente utilizzate nella Malattia di Parkinson. In particolare, al baseline, la media della parte III dell’UPDRS Motorio dei pazienti presi in esame era di 21 in fase ON e la stadiazione della malattia secondo la scala di Hoehn e Yahr era di 2,5, sempre in fase ON. A tutti i soggetti sono inoltre state somministrate due questionari sulla qualità della vita: Euro QoL-5D (EQ-5D) e Parkinson's Disease Questionnaire-8 (PDQ-8).

Tutti i pazienti che partecipano al progetto continuano la terapia farmacologica in atto senza apportare modifiche durante il periodo di allenamento e non seguono nessun altro tipo di riabilitazione o sport per non alterare i risultati dello studio. Qualora si renda necessario in seguito al peggioramento della sintomatologia e dopo il parere del neurologo curante, è possibile modificare le terapie antiparkinsoniane.

Ai pazienti è stata proposta una sessione di allenamento settimanale della durata di 2 ore per 12 mesi. Durante ciascun allenamento i soggetti sono stati seguiti costantemente dall’allenatore che ha strutturato la lezione includendo ogni volta le seguenti quattro fasi di training:

1. riscaldamento generale - esercizi di mobilità articolare statici e dinamici, esercizi di deambulazione, esercizi di corsa con diverse andature a differenti velocità.
2. fase centrale - esercizi di potenziamento muscolare (addominali, dorsali, ecc.).
3. esercizi coordinativi - con utilizzo della tecnica rugbistica o partite.
4. fase di defaticamento- ripristino dei valori normali della frequenza respiratoria e cardiaca, della temperatura corporea e del metabolismo.

Una lezione tipo è costituita da:

- preparazione al ball-handling (manipolazione della palla)
- esercizi di mobilità articolare anche con movimenti mutuati del tai chi
- rinforzo muscolare: addominali, plank, etc.
- skill principali: passaggi da fermi (velocità, tecnica, salto dell’uomo, etc) in cerchio e su file; passaggio della palla in movimento.
- percorsi con i coni
- schemi d’attacco - loop o incrocio
- dinamiche di touch, roll-ball e passaggio improntate alla velocità ed alla disposizione del campo ma anche finalizzate al “problem solving”, drammatica per i parkinsoniani che devono scegliere/decidere un’opzione di gioco nel più breve tempo possibile.

I pazienti hanno iniziato gli allenamenti nell’Ottobre 2018 e proseguiranno per tutto il corso del 2019 con sedute settimanali di 2 ore come da programma.

Nel corso del 2019 si provvederà alle valutazioni previste dal protocollo nei mesi 3-6-12, alla raccolta dei dati ottenuti e al loro inserimento in un database specifico per la successiva analisi statistica dei risultati.

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 (PD) 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 malattia di Parkinson 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 Malattia di Parkinson (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 ad:

- 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 è 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 è 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 un centro unico specializzato nella cura del PD.

La durata dello studio prevista è 33 mesi per l'inclusione dei soggetti e tre mesi per l'analisi statistica dei dati.

È previsto il coinvolgimento di 100 pazienti. 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.

È prevista una sola valutazione di ciascun paziente, in occasione di una visita programmata in base alla pratica clinica del centro. Durante questa visita, il paziente completa 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 secondo anno sono state effettuate le seguenti attività:

1. Revisione sistematica della letteratura. La review effettuata è stata aggiornata con gli articoli pubblicati sull'argomento nel corso del 2018. Si è inoltre provveduto alla traduzione in inglese della stessa in vista della pubblicazione su riviste scientifiche internazionali.
2. Creazione della nuova scala. In seguito all'analisi dei primi dati raccolti, la scala SDAS è stata modificata inserendo domande relative alla frequenza settimanale per ciascun sintomo riferito. Si è provveduto quindi a suddividere la frequenza in: da 0-2 giorni a settimana; da 3 a 4 giorni a settimana; da 5 a 7 giorni a settimana.
3. Stesura del protocollo di validazione. In base all'analisi dei dati raccolti, si è deciso di non somministrare la scala sui Non Motor symptoms, in quanto non forniva dati utili alla validazione della scala in oggetto.

E' stato inoltre inserito il Montreal Cognitive Assessment(MoCA) per la valutazione cognitiva dei pazienti arruolati.

Nel corso dell'anno sono stati arruolati 30 pazienti con Malattia di Parkinson idiopatica afferenti agli ambulatori neurologici dell'IRCCS San Raffaele Pisana e al centro Parkinson di cui si riportano i dati clinici in tabella:

	CASI (N=30)
ETA' (MEDIA ± DS)	73.1 ± 8.06
SESSO (N)	17 M, 13 F
ANNI DI MALATTIA (MEDIA ± DS)	7.46 ± 4.4
ANNI DIAGNOSI (MEDIA ± DS)	6.46 ± 4.3
HOEHN & YAHR (MEDIA ± DS)	2.53 ± 0.38
UPDRS TOTALE (MEDIA ± DS)	38.2 ± 11.05
EQ5D (MEDIA ± DS)	4.335 ± 1.71 (N=20)
KPPS (MEDIA ± DS)	15.1 ± 17.4
VAS (MEDIA ± DS)	52.8 ± 30.3
SDAS (MEDIA ± DS)	9.0 ± 6.27

Tabella 1:Dati clinici e risultati delle valutazioni nei soggetti arruolati

Di tutti i pazienti arruolati, solo uno non ha riferito la presenza di dolore. Il soggetto, di sesso femminile, ha riferito una storia di malattia di 3 anni, con uno stadio scala di Hoehn e Yahr (HY) di 2.5, pregressa storia di depressione e frattura di femore. Tutti gli altri soggetti, anche quelli in fase iniziale di malattia, hanno lamentato almeno un tipo di dolore. Il sintomo più frequentemente riportato è stato il dolore muscolo-scheletrico a cui si è aggiunta, nei pazienti in fase avanzata, la tipologia di dolore correlata alle fluttuazioni motorie (fluttuazioni e movimenti involontari).

Nel 2019 si prevede la continuazione dell'arruolamento di pazienti.

AREA DI RICERCA CEFALÉE E DOLORE NEUROPATICO

Valutazione di marcatori biomolecolari dello stato pro-infiammatorio nel rischio cerebrovascolare dei pazienti affetti da emicrania

Diversi studi evidenziano la presenza di lesioni iperintense nel tessuto cerebrale dei pazienti emicranici, definite con il termine inglese “white matter hyper intensities (WMHs)”. E’ stimato che la presenza delle WMHs sia 4.35 più alta nei pazienti con emicrania rispetto ai controlli sani (odds ratio 4.35, $P \leq .001$), come se gli attacchi ripetuti di emicrania possano provocare delle piccole lesioni a livello cerebrale.

Un recente studio longitudinale mediante Risonanza Magnetica ad alto campo (3.0-Tesla) ha studiato i cambiamenti delle lesioni iperintense cerebrali nei pazienti emicranici, a distanza di 3 anni dall’inizio dello studio. Le lesioni erano localizzate in entrambi gli emisferi cerebrali, ma più frequentemente a livello frontale e presentavano simili dimensioni. Il numero di lesioni cerebrali, a distanza di 3 anni dal baseline, era aumentato, soprattutto in caso di un incremento della frequenza degli attacchi. Le lesioni più piccole potevano anche scomparire, mentre nei pazienti con molti attacchi quelle più piccole potevano ingrandirsi o formarsene altre, suggerendo una progressione di malattia.

Ad oggi la genesi di queste lesioni non è nota, potrebbe trattarsi di un fenomeno dinamico come di un fenomeno permanente, che potrebbe alla lunga determinare un’ulteriore disabilità in questi pazienti.

Uno recente studio con spettroscopia suggerisce che in queste aree si verifica una significativa riduzione della concentrazione di N-acetil-aspartato e di creatin-fosfochinasi rispetto al baseline, indicando una maggiore perdita assonale, una riduzione delle cellule della glia con riduzione della produzione di energia cellulare. Altri autori non hanno trovato un legame tra livelli medi di proteina C reattiva (PCR), marcatori di infiammazione e la presenza di WMHs, in 432 soggetti con emicrania, anche se i livelli medi di PCR erano significativamente più alti nei pazienti affetti da emicrania (1.94 ± 2.03 mg/L) rispetto ai controlli non emicranici (0.82 ± 0.58 mg/L; $P \leq .0001$). Un recente studio danese, condotto su 172 casi (34 gemelle, and 139 controlli sani) ha escluso la presenza di un’associazione tra l’emicrania con aura e la presenza di WMHs.

Sulla base degli studi dell’Area di ricerca, si ipotizza che i pazienti con emicrania abbiano un maggior rischio di eventi vascolari cerebrali. In passato è stato dimostrato che la presenza di polimorfismi della superossidodismutasi (SOD2) nei pazienti con emicrania con aura possa portare ad un difettoso controllo dei fenomeni ossidativi determinando una sovrastimolazione dei neuroni trigeminali e che le donne in pre-menoapusa con emicrania cronica possano avere un maggior rischio trombotico.

Pertanto è importante non solo effettuare una prevenzione nel caso dell’emicrania cronica, ma anche cercare di capire la genesi di queste lesioni per evitare una progressione di malattia permanente.

Lo scopo di questo progetto è quello di valutare la presenza di una correlazione tra i polimorfismi della SOD e della linfotossina A (LTA) e le lesioni cerebrali di questi pazienti, cercando di indentificare marcatori pro-infiammatori o pro-ossidanti che possano essere responsabili di malattia o di progressione di malattia.

I risultati attesi per lo studio riguardano l’ipotesi che la presenza di un maggior stato ossidativo/infiammatorio possa portare, nei pazienti emicranici, allo sviluppo di WMHs.

Questo studio è uno dei pochi esistenti a livello mondiale che cerchi di valutare la correlazione tra le WMHs presenti nei pazienti emicranici e le alterazioni dell’asse ossidativo e infiammatorio a livello ematico.

Sono state analizzate le RMN encefalo di tutti i pazienti affetti da emicrania inclusi nello studio, dei quali si disponeva anche del campione ematico.

Lo studio è concluso. Sono stati inclusi nello studio 370 soggetti affetti da emicrania (61 con emicrania con aura, 190 emicrania senza aura e 119 con emicrania cronica), 65 maschi e 305 femmine. Per il 2019 si prevede di effettuare l’analisi statistica e la stesura del lavoro per la pubblicazione.

Il corretto inquadramento della genesi delle WMHs è molto importante, sia per poter prevenire la formazione di queste lesioni sia per permettere una migliore strategia terapeutica, sin da quando l'emicrania si presenta in forma episodica.

Studio randomizzato sull'efficacia della Mindfulness Based Stress Reduction (MBSR) nella profilassi dell'emicrania episodica ad alta frequenza

La cefalea è la patologia più diffusa del genere umano secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e colpisce l'individuo nell'età di maggiore produttività (20-50 anni), causando massima disabilità socio-lavorativa ed essendo responsabile del 1-4% degli accessi annuali al Pronto Soccorso [www.org.int]. L'emicrania è la cefalea più comune dopo la cefalea di tipo tensivo e rappresenta la seconda causa di disabilità secondo il Global Burden of Disability. Essa riguarda il 12% della popolazione presentando una chiara preferenza per il sesso femminile (rapporto F/M = 3:1) nel quale giunge ad una prevalenza del 27% nel corso della fase riproduttiva. L'emicrania produce significativa riduzione della qualità di vita soprattutto nella sua forma ad alta frequenza, limitando la partecipazione alle attività quotidiane e incrementando il rischio di sviluppare depressione. Ciò nonostante, l'emicrania è una patologia tutt'ora insufficientemente trattata in senso preventivo dal momento che a fronte di una percentuale di pazienti teoricamente suscettibili di prevenzione pari al 38.8%, solo il 12.4% è in realtà in trattamento profilattico. Questa differenza è in parte spiegabile sulla base della scarsa tollerabilità delle cure preventive. Infatti gli eventi avversi rappresentano non solo un limite prescrittivo per il medico ma anche una causa di frequenti interruzioni precoci del trattamento per eventi avversi farmaco-correlati (topiramato: 23.7%, amitriptilina: 16.7%; propranololo: 7.7%). Infine, esistono importanti limiti nel trattamento farmacologico di profilassi nelle popolazioni più fragili, quali adolescenti, donne in gravidanza, anziani, o pazienti con comorbidità che precludono o limitano l'intervento con farmaci. L'emicrania è una patologia multifattoriale. I fattori stressanti psicosociali rappresentano di gran lunga il primo fattore scatenante dei suoi attacchi ed uno dei principali elementi di cronicizzazione. Ciò rappresenta il razionale scientifico per un intervento preventivo non farmacologico in una patologia a carattere familiare che pur riconosce chiare basi biologiche e neurofisiologiche.

La metodica denominata Mindfulness-Based Stress Reduction (MBSR) è stata inclusa come trattamento non-farmacologico per la riabilitazione del dolore cronico negli ultimi decenni. Il protocollo MBSR è stato ideato nel 1979 dal medico statunitense Jon Kabat-Zinn, presso l'Università del Massachusetts. La Mindfulness (letteralmente: "presenza mentale") è definibile come "la consapevolezza che emerge se si presta attenzione in maniera intenzionale e non giudicante al dispiegarsi dell'esperienza momento dopo momento". Tale definizione introduce due concetti fondamentali: a) l'importanza del porre attenzione al fine di sviluppare consapevolezza e b) la dimensione del non giudizio, così invece fortemente caratterizzante l'esperienza umana. Da qualche tempo l'interesse dei ricercatori si è volto a sperimentare la MBSR anche nel campo dell'emicrania e della cefalea di tipo tensivo come approccio terapeutico alternativo o complementare. Il razionale è quello di aumentare la consapevolezza del dolore da parte del paziente cefalalgico, migliorando la capacità di gestione dell'attacco prima di ricorrere al farmaco. Inoltre, essendo lo stress psicosociale il principale fattore scatenante l'emicrania, la provata efficacia del protocollo MBSR nella riduzione dello stress potrebbe permettere di ridurre numero e/o intensità e/o durata degli attacchi. I risultati sembrano essere molto promettenti, specie nelle forme croniche ed in presenza di iperuso di analgesici. Nella cefalea di tipo tensivo cronica, la MBSR si è dimostrata in grado di ridurre significativamente la frequenza dei giorni di cefalea ($p = 0.016$) e di migliorare l'intensità del dolore e la sua consapevolezza ($p < 0.001$). Nell'emicrania cronica, la MBSR ha evidenziato una significativa riduzione della percezione dell'intensità del dolore ($p \leq 0.001$) ed il miglioramento significativo nelle scale di valutazione di benessere fisico, funzionamento sociale e dolore fisico ($p < 0.05$). Un recente studio italiano condotto su 50 emicranici cronici ha evidenziato una sostanziale sovrapposibilità dell'outcome clinico nei trattati con MBSR rispetto a quelli trattati con terapia farmacologica di profilassi. Alle medesime conclusioni è giunto un ulteriore studio su 51 pazienti

cefalalgici, comprensivo però di soggetti affetti da emicrania, cefalea tensiva e cefalea grappolo. L'impiego della MBSR si è inoltre dimostrato efficace anche in gruppo di 20 adolescenti affetti da emicrania. Nei soggetti trattati si è osservato un miglioramento della qualità della vita e del benessere fisico, riduzione dei sintomi depressivi ed incremento della capacità di accettazione del dolore.

Obiettivo primario del presente studio è di valutare l'efficacia della MBSR nella profilassi dell'emicrania episodica ad alta frequenza, entità clinica ad alto rischio di trasformazione in forma cronica e di iperuso di analgesici.

La scelta di tale tipologia di paziente è finalizzata ad escludere l'effetto confondente di una eventuale *regression to the mean*, più frequente nelle forme a frequenza bassa e media, nonché ad escludere le forme croniche caratterizzate da diverse comorbilità confondenti che possono inquinare la comprensione del risultato clinico. Inoltre lo studio consentirà di verificare le correlazioni tra le variazioni dei parametri biologico-molecolari ed il risultato clinico.

I risultati attesi per lo studio riguardano una riduzione della frequenza delle crisi emicraniche di circa il 20%, una riduzione nell'intensità delle stesse ed una migliore gestione degli attacchi.

Questo rappresenta il primo studio randomizzato per valutare l'efficacia della MBSR nella profilassi dell'emicrania in soggetti con alta frequenza di attacchi mediante valutazione clinica e laboratoristica.

Vengono randomizzati 100 pazienti, di questi 50 sono randomizzati al trattamento con MBSR e 50 a trattamento farmacologico con SoC. La MBSR si articola in sedute di gruppo della durata di 2 ore e mezza ciascuna, che si ripetono settimanalmente per 8 settimane, comprendendo inoltre una giornata intensiva aggiuntiva di circa 7 ore tra 6° e 7° incontro. Ciascun paziente randomizzato a trattamento con MBSR è inoltre tenuto ad eseguire al proprio domicilio gli esercizi richiesti. Questi ultimi consistono in 30-45 minuti al giorno (6 giorni su 7 per otto settimane) di pratiche formali di meditazione di consapevolezza eseguite seguendo delle tracce audio fornite dalle guide, più delle semplici pratiche informali caratterizzate ad esempio dal compiere con attenzione, momento per momento, una serie di attività abituali, come lavarsi i denti o lavare i piatti. Man mano che il protocollo va avanti, si è incoraggiati a porre lo stesso tipo di attenzione ad eventi che accadono nel mondo esterno, ed in particolare alle situazioni che possiamo percepire come fonte di stress. Viene inoltre valutato tramite citofluorimetria lo stato del sistema immunitario dei soggetti emicranici, con particolare riferimento alle cellule T infiammatorie e regolatorie. I pazienti effettuano i seguenti prelievi seriati di campioni ematici (emocromo, glicemia, ALT, AST, gammaGT, creatinina, Na⁺, K⁺, TSH, eventuale fT4), parametri di infiammazione (IL-6, proteina C Reattiva, rapporto Neutrofili/Leucociti, rapporto Monociti/Piastrine).

I criteri di inclusione prevedono:

1. Età compresa tra 18 e 65 anni
2. Diagnosi di emicrania con o senza aura in accordo con i criteri della ICHD-IIIbeta
3. Frequenza di emicrania compresa ≥ 8 e 14 gg al mese (emicrania ad alta frequenza) dimostrata nel corso del periodo di 28 giorni di screening
4. Esordio dell'emicrania in età inferiore ai 50 anni
5. Assenza di profilassi emicranica da almeno 30 gg
6. Sottoscrizione di consenso informato scritto

Criteri di esclusione:

1. Diagnosi di cefalea diverse da quelle riportate al punto 2 dei criteri di inclusione
2. Presenza di comorbilità che nel giudizio del medico possano influenzare l'aderenza terapeutica (ad esempio patologie psichiatriche maggiori)
3. Trattamento dell'emicrania con tossina botulinica in un periodo inferiore a 3 mesi
4. Presenza di iperuso di analgesici secondo i criteri della ICHD-IIIbeta
5. Uso di antidepressivi in dose non stabile da almeno 3 mesi oppure di antidepressivi triciclici
6. Uso regolare di benzodiazepine per cause diverse dall'insonnia
7. Presenza di condizioni morbose, terapie o anomalie laboratoristiche di qualsiasi tipo che nel giudizio dello sperimentatore possano rappresentare un ostacolo alla partecipazione allo studio.

Sono stati reclutati 15 pazienti di cui 2 screening failure. Nel 2019 e 2020 si prevede di continuare con il reclutamento dei pazienti.

La metodica denominata Mindfulness-Based Stress Reduction (MBSR) è stata inclusa come trattamento non-farmacologico per la riabilitazione del dolore cronico negli ultimi decenni. È stato dimostrato che un uso combinato di farmaci e tecniche non farmacologiche migliora sensibilmente la gestione del paziente e che la risposta al trattamento farmacologico ed il mantenimento dei benefici ottenuti sono maggiori fornendo istruzioni e sostegno sull'utilizzo appropriato dei farmaci e insegnando strategie per evitare eventuali ricadute.

L'agopuntura nel trattamento della cefalea a grappolo cronica

La cefalea a grappolo (CG) è una cefalea primaria estremamente violenta e disabilitante che colpisce il 2.8 %00 della popolazione italiana, con netta prevalenza nel genere maschile, caratterizzata da attacchi parossistici di dolore lancinante, di intensità severa, della durata variabile tra 15 e 180 minuti, a sede orbitaria, sovra-orbitaria e/o temporale, strettamente unilaterali. Il dolore si accompagna ad intensa lacrimazione, iniezione congiuntivale, rinorrea o congestione nasale, sudorazione facciale, omolateralmente al dolore ed irrequietezza motoria.

Nella forma episodica generalmente gli attacchi, che durano da qualche settimana fino a qualche mese, si verificano con una certa periodicità (stesso orario della giornata, stesso periodo dell'anno) alternandosi a fasi di remissione; nella cefalea a grappolo cronica viene persa questa ciclicità e gli attacchi si presentano quasi giornalmente o comunque non si verificano periodi di remissione inferiori ad un mese all'anno.

La terapia acuta della CG si avvale del sumatriptan (6 mg sc), farmaco selettivo e specifico dotato di efficacia eccellente (painrelief a 15 min nel 73-96% dei soggetti) e dell'ossigeno per via inalatoria (painrelief a 15 min nel 78% dei soggetti). La profilassi invece verte sull'uso di verapamil, prednisone, litio e – in minor misura - di topiramato, valproato e pizotifene. Tuttavia, una percentuale discreta di pazienti risponde parzialmente o affatto a tali terapie preventive, necessitando di politerapie responsabili di diversi eventi avversi. Infine, le forme farmaco-resistenti sono attualmente trattate con neurostimolazione invasiva del nervo grande occipitale.

L'agopuntura è una terapia non convenzionale delle cefalee di comprovata efficacia, come dimostrato da una revisione sistematica Cochrane della letteratura; tuttavia, finora solo pochi studi ne hanno valutato l'utilità nella CG. Un recente studio dell'Area di Ricerca Cefalee e Dolore Neuropatico, condotto su una piccola casistica di pazienti in collaborazione con l'equipe di agopuntori dell'Ospedale Sant'Anna di Torino, ha dimostrato una buona efficacia terapeutica dell'agopuntura nella CG, sottolineando l'utilità dell'integrazione della farmacoterapia con la medicina orientale.

Scopo dello studio è quello di valutare su un più ampio campione di pazienti l'efficacia dell'agopuntura come trattamento aggiuntivo alla profilassi farmacologica standard (add-on treatment) della CG di tipo cronico.

Ci si aspetta che l'aggiunta dell'agopuntura alla terapia preventiva possa ridurre la frequenza degli attacchi e/o dell'intensità, rispetto ai pazienti che assumono la sola terapia farmacologica.

La cefalea a grappolo cronica è difficilmente trattabile, anche mediante la terapia farmacologica convenzionale. L'aggiunta dell'agopuntura potrebbe portare ad un miglioramento clinico, come già evidenziato in una serie di pazienti, senza avere gli effetti collaterali che la terapia farmacologica assunta per anni può dare.

Lo studio è di tipo prospettico, svolto presso il Centro Cefalee, IRCCS San Raffaele-Roma, randomizzato a gruppi paralleli. Sono stati arruolati 10 pazienti in gruppo in terapia farmacologica, 10 con agopuntura add-on + terapia farmacologica. Fase di baseline screening: (2 settimane): prima della randomizzazione i pazienti registreranno sul diario della cefalea il numero di attacchi, l'intensità (misurata con la scala Visuo-Analogica del dolore-VAS- su punteggio da 0 a 10) , i sintomi associati, la disabilità (valutata con punteggio da 0 a 3), il tipo e numero di farmaci utilizzati per la risoluzione dell'attacco.

I pazienti devono mantenere stabile la terapia farmacologica per tutta la durata dello studio e per i 30 giorni precedenti lo screening. Fase di randomizzazione: i pazienti sono randomizzati 1:1 in 2 gruppi di trattamento per un periodo di 8 settimane: il gruppo di trattamento attivo riceve il trattamento di agopuntura (una volta a settimana) in aggiunta alla consueta terapia di profilassi farmacologica prevista dalle vigenti Linee Guida AGENAS 2011 mentre il gruppo di controllo utilizza solo la terapia di profilassi farmacologica. Fase di estensione: (1 mese) il trattamento di agopuntura viene protratto per ulteriori 4 settimane (1/settimana) assieme alla terapia farmacologica che può essere modulata sulla base dello stato clinico del soggetto. Durata del protocollo: 1 anno. Sono inclusi soggetti di ambo i sessi con età compresa tra 18 e 70 anni e diagnosi di cefalea a grappolo cronica secondo i criteri internazionali ICHD-3 beta (International Classification of Headache Disorders criteria) da almeno un anno, con un numero di attacchi al mese: almeno 10/mese, in terapia di profilassi stabile per quanto riguarda farmaci e dosaggio da almeno 15 giorni al momento dello screening.

Trattamento di agopuntura: il trattamento di agopuntura viene effettuato due volte a settimana per due settimane, poi una volta a settimana per le restanti settimane. I punti di agopuntura selezionati, in accordo con la medicina cinese tradizionale, saranno: Ex HN-5 Taiyang, GB 14 Yangbai (entrambi solo sul lato affetto), GB 20 Fengchi (entrambi i lati), LI 4 Hegu, LR 2 Xingjiang, SP 6 Sanyinjiao, ST 36 Zusanli (su entrambi i lati). Ad ogni punto, all'inserzione dell'ago, viene evocata la sensazione del "De Qi", successivamente gli aghi saranno mantenuti in sede per 25 minuti e dopo rimossi.

Nel 2018 è stata preparata tutta la documentazione per la presentazione dello studio al comitato etico. Si prevede l'avvio delle attività di arruolamento dei pazienti nel 2019.

L'agopuntura come tecnica di prevenzione potrebbe portare alla riduzione degli attacchi e della disabilità dei pazienti affetti da cefalea a grappolo cronica, riducendo i costi diretti ed indiretti di questi pazienti, limitando l'uso di medicinali, visite mediche, perdite di giorni al lavoro.

Studio randomizzato controllato, singolo-cieco sull'efficacia e tollerabilità della terapia metabolica chetogenica nella profilassi dell'emigrania episodica ad alta frequenza

L'emigrania è una condizione severamente debilitante che colpisce circa il 12% della popolazione con una prevalenza nel sesso femminile (F:M=3:1) e che secondo il Global Burden of Disability rappresenta la seconda causa di disabilità. Nonostante l'emigrania determini una significativa riduzione della qualità della vita, solo il 38.8% degli emigranici ha un'indicazione ad un trattamento di profilassi e solo il 12.4% degli emigranici viene realmente trattato; a ciò si aggiunge che la sospensione dei trattamenti di prevenzione attualmente disponibili per comparsa di eventi avversi avviene nel 16.7%-23.7% dei casi. Nonostante non vi siano evidenze scientifiche, nella terapia di profilassi dell'emigrania si fa spesso riferimento ad un regime dietetico controllato tenendo conto che molti alimenti vengono considerati essere dei trigger per gli attacchi emigranici e considerata l'obesità un fattore di rischio per la cronicizzazione. Il meccanismo di cronicizzazione dell'emigrania prevede un incremento dell'attività eccitatoria glutammatergica.

Lo scopo di questo studio è valutare l'efficacia della dieta chetogenica (KD) rispetto alla dieta standard (SD) nella profilassi dell'emigrania ad alta frequenza in virtù del fatto che, oltre ad un calo ponderale, la KD è in grado di ridurre l'ipereccitabilità del neurone, incrementandone il metabolismo energetico.

Viene inoltre valutato, tramite citofluorimetria, lo stato del sistema immunitario dei soggetti emigranici, con particolare riferimento alle cellule T infiammatorie e regolatorie, in risposta al trattamento con la terapia KD.

L'utilità della KD è stata evidenziata in diverse patologie neurologiche quali epilessia, malattia di Parkinson, demenza di Alzheimer, tumori cerebrali, autismo, in quanto tale regime dietetico influenza la plasticità neuronale, modula l'equilibrio tra neurotrasmettitori inibitori ed eccitatori ed esercita effetti neuroprotettivi attraverso la produzione di corpi chetonici e la riduzione del glucosio ematico. La KD ha inoltre effetti sullo stato di attivazione del sistema immunitario. E' noto infatti che il tessuto adiposo, producendo adipochine, ha un'azione di controllo delle cellule dell'immunità

innata e adattativa. Individui obesi o con problemi di cattiva alimentazione hanno sistemi immunitari pronti allo sviluppo di patologie autoimmunitarie o di infiammazione cronica. L'efficacia della terapia chetogenica (KD) negli emicranici si basa sulla sua azione a livello cerebrale nel ristabilire un corretto metabolismo neuronale garantendo un maggior supporto energetico e nel combattere la neuroinfiammazione ed i meccanismi di ossidoriduzione che si verificano durante l'attacco emicranico.

Dal 1 Marzo 2018 al 31 Luglio 2019 nello studio vengono inclusi in modo consecutivo 58 soggetti afferenti all'IRCCS San Raffaele Pisana affetti da emicrania senza e/o con aura ad alta frequenza (con una frequenza mensile media nell'ultimo trimestre di 8-14 giorni) e BMI > 26 Kg/m². A tutti i soggetti viene somministrata un'intervista semistrutturata diretta face to face per la raccolta dei dati socio epidemiologici e clinici (familiarità per emicrania, esordio del dolore, durata di malattia, localizzazione, tipo, frequenza, intensità, durata del dolore, prodromi, fenomeni d'accompagnamento, allodinia, terapia per l'attacco, farmaci di profilassi). A tutti i partecipanti è richiesta la compilazione di un diario che attesti la frequenza dei giorni di emicrania, la durata degli attacchi e l'eventuale consumo di analgesici. In tutte le visite dello studio (tranne le visite telefoniche), oltre alla rilevazione di parametri quali misurazione pressoria, peso, altezza, circonferenza vita, vengono somministrati questionari di disabilità, qualità della vita, del dolore (MIDAS, HIT-6, SF-36, VAS). Dopo un periodo di 4 settimane di run-in, i soggetti emicranici inclusi vengono assegnati a due gruppi paralleli di due regimi dietetici differenti: terapia chetogenica e dieta standard. I

Il gruppo della terapia chetogenica segue 3 step

- I Step: della durata di 4 settimane in cui vengono assunti 4 pasti sostitutivi (2 masticabili e 2 liofilizzati);
- II Step: della durata di 4 settimane, ed a sua volta suddiviso in due fasi: 2a) in cui verranno assunti un pasto proteico libero, 2 prodotti masticabili ed un prodotto liofilizzato; 2b) in cui verranno assunti 2 pasti proteici liberi, un prodotto masticabile ed un prodotto liofilizzato;
- III Step: della durata di 4 settimane, anch'esso suddiviso in 2 fasi: 3a) reinserimento di latticino a colazione, un solo prodotto masticabile, un frutto come spuntino; 3b) reinserimento di una porzione di legumi a pranzo o a cena 3 volte a settimana, una porzione di cereali (pane o pasta) a pranzo, un prodotto masticabile.

Il gruppo della dieta standard segue un regime dietetico a basso indice glicemico, senza assunzione di pasti sostitutivi. Al termine delle 12 settimane dei due regimi dietetici, tutti i pazienti proseguono con una dieta a basso indice glicemico per ulteriori 12 settimane. Durante lo studio vengono eseguiti ai pazienti prelievi seriatati di campioni ematici per esami di laboratorio (emocromo, glicemia, ALT, AST, gammaGT, creatinina, Na⁺, K⁺, TSH, eventuale fT4), parametri di infiammazione (IL-6, proteina C Reattiva, rapporto Neutrofili/Leucociti, rapporto Monociti/Piastri) ed immunofenotipo.

Il corretto metabolismo neuronale ed il maggior supporto energetico ristabilito dalla KD potrebbe ridurre la frequenza mensile dei giorni emicranici, la durata degli attacchi ed il consumo di analgesici, migliorare la qualità di vita dei soggetti emicranici ed evitare la disabilità della cronicizzazione. Nei soggetti con terapia KD è attesa inoltre una riduzione del potenziale infiammatorio, valutato considerando le percentuali di linfociti T (CD4 e CD8), NK (CD16+CD56+), e B (CD19). Saranno inoltre valutate le modifiche nelle percentuali di monociti CD16+, CD16++ e CD16-, nella percentuale di linfociti T regolatori (CD4+ CD25+ CD127+), e nella percentuale di linfociti naive (CD45RA+ CD62L+).

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

Studio comparativo sulla capacità di due diversi integratori alimentari di agire sul profilo lipidico e sulla qualità di vita associati alla malattia venosa cronica. già: Studio comparativo sull'efficacia e la sicurezza di nutraceutici sul profilo lipidico e sull'insufficienza venosa

La malattia venosa cronica (CVD) e l'ipercolesterolemia nello stesso paziente sono frequenti. La malattia venosa cronica è una condizione clinica, spesso progressiva, che non solo limita la qualità di vita dei pazienti che ne sono affetti ma che può evolvere verso patologie gravi, quali la comparsa di ulcere venose. L'ipercolesterolemia è un noto fattore di rischio cardiovascolare ed è un obiettivo comune di trattamento.

Nei pazienti a basso rischio cardiovascolare, e/o in prevenzione primaria che rifiutano l'assunzione di agenti ipolipemizzanti o nei pazienti intolleranti alle statine, l'uso di integratori alimentari può essere aggiunto allo stile di vita per ottenere una riduzione dei livelli plasmatici del colesterolo. Numerosi sono gli integratori alimentari disponibili; molti di questi sono in grado di agire contemporaneamente su diversi parametri metabolici, quali il colesterolo, ed emodinamici, quali la malattia venosa, aumentando quindi la compliance al trattamento da parte del paziente.

L'obiettivo specifico di questo studio, che fa parte di un progetto più ampio di valutazione dell'efficacia e sicurezza di diversi nutraceutici su parametri metabolici ed emodinamici, è quello di paragonare l'efficacia di integratori alimentari sul metabolismo lipidico e sui sintomi e segni clinici associati alla malattia venosa ed alla qualità di vita.

Il primo di questi studi coinvolge 123 pazienti ambulatoriali affetti da malattia venosa cronica (MVC) e ipercolesterolemia che non abbiano assunto negli ultimi tre mesi farmaci e/o nutraceutici e/o integratori alimentari per il trattamento dell'ipercolesterolemia e/o della MVC.

I pazienti eleggibili vengono randomizzati secondo lo schema a blocchi permutati 1:1:1 ed assegnati ad uno dei tre bracci di trattamento: A (Armolipid plus, efarma), B (Colven, PhytoActiva Srl), C (placebo).

Dall'inizio dello studio alla fine del 2018, 22 pazienti hanno iniziato il trattamento (1 screening failure) e solo un paziente ha interrotto lo studio. Allo stato attuale 2 individui sono ancora in trattamento e 19 pazienti hanno completato lo studio. Non si è registrato nessun avvento avverso serio. Il progetto continuerà nell'anno 2019.

Ci si aspetta che il presente progetto permetta di ampliare le conoscenze sull'uso dei nutraceutici per migliorare il profilo lipidico e la qualità di vita nei pazienti con malattia venosa cronica, e di aumentare la consapevolezza sull'efficacia e sicurezza dei due integratori alimentari oggetto di studio.

Valutazione prospettica di parametri innovativi di rischio cardiovascolare in pazienti con aumentato rischio cardiovascolare e/o malattie cardiovascolari

Le malattie cardiovascolari (CV), in particolare scompenso cardiaco, ipertensione arteriosa, angina pectoris, fibrillazione atriale, malattia coronarica e cardiopatia valvolare, rappresentano la principale causa di morbilità e mortalità nella popolazione mondiale, in entrambi i sessi, e la loro incidenza è destinata ad aumentare nei prossimi decenni.

L'attuale sistema di prevenzione - basato sulla stratificazione del rischio - non è capace di stimare in maniera ottimale il rischio stesso, sottostimandolo in popolazioni ad alto rischio CV e sovrastimando il medesimo in popolazioni a basso rischio CV, e inoltre non tiene conto del diverso impatto che i fattori di rischio CV e le risposte ai trattamenti farmacologici, hanno nei due sessi. Tutto ciò impone la ricerca di nuovi parametri con un valore prognostico forte, anche basato sulle differenze di genere. Negli ultimi anni lo studio della funzione endoteliale e della elasticità vascolare e nuovi biomarkers hanno dimostrato la possibilità di predire il rischio cardiovascolare futuro indipendentemente dai classici fattori di rischio sia in prevenzione primaria, sia secondaria nella popolazione generale e nei

pazienti con malattie CV, pur non rivelando ancora differenze di genere nel determinismo della importanza prognostica anche di questi nuovi fattori di rischio.

Inoltre, se la riabilitazione cardio-metabolica si è dimostrata capace di ridurre l'incidenza di eventi CV, non è ancora noto l'impatto che una stratificazione del rischio elaborata utilizzando anche i nuovi parametri suddetti possa avere sulla risposta alla riabilitazione.

Lo studio, di tipo osservazionale longitudinale prospettico, prevede l'arruolamento di un minimo di 100 e fino a un massimo di 200 soggetti/pazienti anno, di ambo i sessi, età 18-80 anni, diagnosi di malattia CV (in particolare scompenso cardiaco, ipertensione arteriosa, angina pectoris, fibrillazione atriale, malattia coronarica e cardiopatia valvolare, etc.) o presenza di malattia dismetabolica (metabolismo glucidico o lipidico) afferenti all'IRCCS San Raffaele Pisana.

Lo studio si prefigge di:

- valutare prospetticamente la rilevanza di parametri innovativi di rischio CV;
- valutare l'effetto dell'esercizio fisico in pazienti con aumentato rischio e/o malattie CV;
- valutare il rischio di insorgenza di eventi CV futuri in pazienti con aumentato rischio CV e/o malattie CV;
- identificare il ruolo di fattori di rischio emergenti (fattori psico-ambientali, qualità di vita, umore) e/o di indici precoci di aterosclerosi (stiffness e funzionalità vascolare, microalbuminuria e nuovi biomarcatori) in pazienti a basso rischio CV.

Inoltre, si propone anche di:

- valutare la concordanza di diverse carte del rischio CV (SCORE e carta del Rischio del Progetto Cuore dell'Istituto Superiore di Sanità) in una popolazione di soggetti a basso rischio;
- valutare prospetticamente l'effetto dell'aderenza alle diverse strategie di prevenzione e/o di intervento (educazionali e/o terapeutiche) riabilitativo.

I pazienti verranno sottoposti a una valutazione basale del rischio individuale di eventi CV (morte, infarto del miocardio o ictus) per mezzo di carte del rischio CV validate (carta SCORE e carta del rischio del Progetto Cuore dell'Istituto Superiore di Sanità), e a una valutazione dei fattori di rischio emergenti (fattori psico-ambientali, valutazione della qualità di vita (mediante WHOQOL test), valutazione dello stato cognitivo (mediante MMSE test), valutazione dello stato dell'umore (mediante GDS test) e valutazione dei disturbi del desiderio sessuale (Hypoactive Sexual Desire Disorder - IIEF). Inoltre i pazienti sono sottoposti a una valutazione della funzionalità e morfologia del cuore (ecocardiogramma), alla registrazione grafica dell'attività elettrica del cuore (elettrocardiogramma) e suo monitoraggio nelle 24 ore (ECG Holter delle 24 ore con valutazione di Heart Rate Variability), degli indici precoci di aterosclerosi (stiffness vascolare, valutazione della velocità dell'onda di polso e della pressione aortica centrale, mediante devices dedicati, quali il Complior e lo Sphygmocor), della funzione endoteliale (mediante EndoPAT, pletismografia e/o metodica ecografica), di parametri basali (peso, altezza, circonferenza vita e fianchi e misurazione della pressione arteriosa). Infine i pazienti sono sottoposti ad un prelievo di sangue (due aliquote di sangue saranno trasferite in bio-banca) e alla raccolta delle urine. Tutti i pazienti sono sottoposti ad un ecocardiogramma Doppler, colorDoppler con valutazione di parametri emergenti di contrattilità loco-regionale e di flusso intracardiaco e ad un test da sforzo con uno studio del consumo di ossigeno, quando appropriato.

I soggetti con aumentato rischio cardiovascolare ed i pazienti con malattie cardiovascolari e/o metaboliche vengono sottoposti, a discrezione del medico, a prova da sforzo con o senza consumo di ossigeno, ecocardiogramma, ecoDoppler vascolare, monitoraggio ambulatoriale dell'ECG o della Pressione Arteriosa, TC cardiaca, RMN cardiaca. Le suddette valutazioni vengono ripetute annualmente durante il follow-up. I pazienti vengono quindi inclusi in un programma di riabilitazione cardiometabolica che include dieta individualizzata ed esercizio fisico commisurato alle capacità funzionali.

Ad ogni visita annuale, atta a valutare eventi e stato di salute, viene effettuato il calcolo del rischio cardiovascolare.

Il periodo di reclutamento previsto è di 48 mesi ed il follow-up minimo per ciascun soggetto/paziente è di dieci anni.

Lo studio ha lo scopo di valutare il ruolo e l'impatto dei fattori di rischio cardiovascolari tradizionali ed emergenti nel calcolo del rischio cardiovascolare globale. La valutazione di fattori di rischio emergenti ed indici subclinici di aterosclerosi ha lo scopo di meglio caratterizzare la prognosi cardiovascolare in pazienti con scompenso cardiaco, pazienti anziani o in altri sottogruppi "fragili". La valutazione più accurata del rischio di morbidità individuale permetterà di ottimizzare le strategie di prevenzione ed intervento, con importanti ripercussioni di tipo socio-economico.

Effetti di diverse modalità di training fisico sulla variabilità a breve termine della pressione arteriosa

L'obiettivo dello studio consiste nel mettere a confronto due tipologie diverse di esercizio fisico, correntemente utilizzate nel recupero funzionale dei pazienti cardiopatici: esercizio aerobico con intensità continua ed un'attività di tipo misto, comprendente sia l'esercizio aerobico, che esercizi di resistenza. L'ipotesi degli sperimentatori è che un periodo di training di tre mesi sia sufficiente a dimostrare che l'attività combinata sia più efficace nel ridurre la variabilità pressoria nelle 24 ore rispetto all'attività aerobica continua.

Si prevede di arruolare 40 pazienti allocati randomicamente in due gruppi: gruppo A, attività aerobica continua; gruppo B, esercizio fisico combinato. Il tempo previsto di arruolamento è di 12 mesi.

L'end-point primario dello studio è rappresentato dalle modificazioni della variabilità della pressione sistolica nelle 24 ore.

End-point secondari sono: modificazione della variabilità della pressione sistolica diurna, notturna e variabilità della pressione diastolica nelle 24 ore.

Nel corso del 2018 sono stati reclutati 22 pazienti. Il progetto continuerà e terminerà nel corso del 2019.

Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo volto a valutare l'efficacia e la sicurezza di omecamtiv mecarbil (OM) in termini di morbidità 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 CV condotto su pazienti con scompenso cardiaco (HF) con frazione di eiezione ridotta (HFrEF), inclusi i soggetti attualmente ospedalizzati o con anamnesi di ricoveri ospedalieri per insufficienza cardiaca. Si tratta di uno studio "event-driven" che si concluderà 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 devono essere trattati con terapie standard compatibili con le LG 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 dell'insufficienza cardiaca congestizia (CHF), che deve essere ottimizzata alla dose massima tollerata, se non controindicata.

Lo studio prevede 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 dei 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 ai pazienti viene sottoposto un questionario, 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.

Inoltre lo studio si prefigge di:

- Valutare gli effetti OM fino a:
 - Morte per causa CV
 - Ospedalizzazione per insufficienza cardiaca
 - Decesso per tutte le cause
- Valutare gli effetti del trattamento con OM sulla variazione degli esiti riferiti dai pazienti (PRO, Patient-Reported Outcome)
- Valutare la 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 verrà 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 lungo o più breve del previsto.

(Dual Antiplatelet Therapy) DoUble Anti Platelet therapy LOng term registry (UPLOAD)

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.

Molti pazienti presentano un rischio residuo di eventi avversi dopo 12 mesi dall'infarto del miocardio (IM), nonostante abbiano ricevuto un trattamento invasivo nella fase acuta e nonostante l'applicazione di strategie di prevenzione secondaria per un anno, compresa la terapia Dual Antiplatelet (DAPT). L'incidenza di eventi avversi dopo 12 mesi aumenta proporzionalmente ai fattori di rischio del paziente, tuttavia questi ultimi hanno un'influenza minore sull'incidenza di eventi emorragici (TIMI. Indagine sull'associazione tra fattori di rischio e loro inclusione in modelli più complessi: modelli (o punteggi) potrebbero consentire l'identificazione di quei pazienti che potrebbero ricevere un significativo beneficio clinico dal proseguimento della terapia DAPT.

Lo scopo di questo registro è quello di descrivere gli eventi associati alla DAPT a lungo termine (oltre 12 mesi) in un profilo ad alto rischio di post-IM.

Lo studio si prefigge di descrivere il numero e il tipo di eventi cardiaci avversi gravi (IM, ictus, morte cardiovascolare), sanguinamenti maggiori in base ai criteri TIMI associati a DAPT dopo 12 mesi.

Si intende inoltre:

- Descrivere le possibili cause dell'interruzione precoce associata a DAPT.
- Identificare la popolazione di pazienti con precedente IM che potrebbe maggiormente beneficiare in termini di MACE (endpoint composito MI, ictus, morte cardiovascolare, sanguinamento maggiore) da una prolungata continuazione del DAPT.

Il rischio ischemico è valutato usando il punteggio di rischio GRACE, il rischio di sanguinamento attraverso il CRUSADE bleeding score se registrato nella fase acuta, i rischi ischemici ed emorragici sono valutati in base al punteggio DAPT a, 12 e 24 mesi dopo l'inclusione del registro.

Indagine Sicoa NOAC 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 ablativistiche 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 multicentrico, osservazionale 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 recluterà 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 saranno sottoposti a valutazione clinica completa comprendente la rilevazione al momento dell'arruolamento e con follow up a 6 e 12 mesi.

Nell'anno 2018 è cominciato l'arruolamento tra i pazienti afferenti alle strutture ambulatoriali e di ricovero di unità operative del network nazionale SICOA, di 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 stata inviata 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 dallo 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 NOACS in pazienti molto anziani.

Sono stati arruolati 15 pazienti dei 20 che ogni centro partecipante ha come obiettivo. Si prevede di completare l'arruolamento entro marzo 2019.

VICTORIA (VeriCiguaT gLObal study in subjects with heart failure and Reduced ejection frAction).

Studio pivotal di outcome clinico di fase III multicentrico, randomizzato a gruppi paralleli, controllato con placebo, in doppio cieco, *guidato dagli eventi*, sull'efficacia e la sicurezza dello stimolatore della sGC orale vericiguat nei soggetti affetti da scompenso cardiaco con frazione di eiezione ridotta (HFrEF).

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 avvieranno 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 sono 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 verrà sottoposto un questionario ai pazienti.

L'obiettivo primario dello studio è valutare l'efficacia dello stimolatore orale della guanilato ciclasi 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 consistono nel:

- Valutare l'efficacia di MK-1242 (vericiguat) nel prolungare il tempo di insorgenza di morte CV rispetto al placebo.
- Valutare l'efficacia di MK-1242 (vericiguat) nel prolungare il tempo di insorgenza del primo ricovero per scompenso cardiaco rispetto al placebo.
- 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.
- 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.
- Valutare l'efficacia di MK-1242 (vericiguat) nel prolungare il tempo di insorgenza di mortalità per tutte le cause rispetto al placebo.
- 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.

Sono stati screenati 9 pazienti di cui 7 arruolati e 2 screening failure.

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 tramite 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, comunque, 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.

L'ipotesi dello studio è che l'intervento combinato determini un significativo miglioramento della meccanica respiratoria e dell'efficienza ventilatoria rispetto al solo training aerobico e che questo si traduca in una migliore performance al 6mwt.

Il test del cammino di sei minuti (6mwt) è diffusamente utilizzato in ambito riabilitativo (cardiologico- pneumologico) per valutare: 1) il grado di limitazione funzionale dei pazienti con recente evento acuto; 2) il miglioramento ottenuto in tali pazienti, attraverso un programma di riabilitazione cardiologica.

Integrare 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).

Per valutare le alterazioni della meccanica respiratoria in corso di esercizio ed il loro miglioramento alla fine dell'intervento riabilitativo si effettua anche la misurazione degli scambi gassosi durante l'esecuzione del 6mwt.

Lo studio prevede l'arruolamento di 70 pazienti con i seguenti requisiti: recente intervento cardiochirurgico (<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 h 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 O₂ 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 all'volontà del paziente. L'analisi dei gas respiratori viene effettuata durante il test in pedana.

Vengono valutati i seguenti parametri: l'analisi VO₂ a riposo, massimo valore ottenuto durante il test e dopo 1 minuto di recupero; VE/CO₂ basale, massimo valore ottenuto durante il test e dopo 1

minuto di recupero; PETCO₂: 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 saranno effettuati al momento del ricovero ed in dimissione (3 settimane).

Una volta che il paziente viene arruolato, è 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 viene 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-cardiochirurgici.

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 presente progetto al fine di fornire nuove prospettive cliniche per una medicina personalizzata e nuove proposte tecnologiche nel management e nel trattamento di pazienti con patologie croniche invalidanti quali l'insufficienza cardiaca cronica (Chronic Heart Failure - CHF). Ricerca di tipo interdisciplinare, sviluppo ed innovazione tecnologica sono alla base di questo progetto che si pone in maniera coordinata l'obiettivo di valorizzare i 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 scientifica alla luce dei nuovi risultati ottenuti. Ciascuna Unità coinvolta dispone di laboratori attrezzati e strumentazione ampiamente operativa e idonea alle attività di ricerca proposte e ai test previsti. L'obiettivo finale è la realizzazione dell'innovativo "cycle medical personal trainer". In particolare, quest'ultimo, al contrario dei ciclo-ergometri tradizionali, è in grado di "somministrare la dose ottimale" ed in piena sicurezza di esercizio aerobico in maniera individualizzata, concorrendo al miglioramento di "outcomes" prognostici, quali la modulazione autonoma cardiaca ed altri parametri clinici, quali la capacità funzionale. Per far ciò non vengono utilizzati metodi invasivi e costosi o indiretti e complessi quali metodi di analisi del lattato o metodi di misurazione dei gas di scambio ma l'analisi della HRV (variabilità della frequenza cardiaca) durante le singole sessioni di allenamento. In questo contesto non è richiesta la conoscenza a priori delle caratteristiche del paziente che effettua il test al ciclo-ergometro, eccetto che per il grado di severità del quadro clinico - dati questi utilizzati per generare i riferimenti di HR sulla base della HRV misurata.

Nuovi contributi scientifici del progetto includono lo sviluppo di un nuovo algoritmo di identificazione non-parametrico per l'analisi in frequenza della variabilità della frequenza cardiaca (Heart Rate Variability - HRV) che è utilizzato per individuare in modo preciso durante la singola sessione di allenamento i cambiamenti delle diverse componenti dello spettro di frequenza della HRV e stimare accuratamente la densità spettrale (potenza) delle sue componenti. Ulteriori punti di forza

del presente progetto riguardano la possibilità di individuare nuovi parametri "dinamici" (sulla base della resistenza di carico del ciclo-ergometro e della frequenza cardiaca registrate durante le sessioni di allenamento) che possano essere utilizzati: 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 (VO₂ max, VE/VCO₂ slope etc.). La possibilità di monitorare la HRV "on line" durante lo svolgimento dell'attività fisica può rappresentare un utile e decisivo strumento a tale scopo.

Nessuno studio ha affrontato la possibilità di definire programmi di allenamento in pazienti affetti da insufficienza cardiaca cronica sulla base della HRV monitorata "on line" nel corso dell'esercizio fisico stesso, durante il quale si verificano variazioni della HRV dovute alla modulazione sia di origine neurovegetativa che meccanica dell'attività del nodo 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.

Si intende effettuare una validazione del metodo del "cycle medical personal trainer", basato sulla rilevazione, e conseguente analisi spettrale della variabilità della FC, sul segnale di FC acquisito mediante cardiotaografo con il metodo standard basato sul segnale di FC (QRS) acquisito direttamente mediante una derivazione elettrocardiografica.

Si intende inoltre procedere con 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.

Infine si intende effettuare un 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.

Ci si aspetta di poter verificare se i risultati ottenuti da programmi di training fisico basati sulle modificazioni della HRV valutata durante le sessioni di allenamento, siano superiori o parimenti efficaci nel migliorare parametri che rappresentano indicatori di "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 cardiociclografo con quelli ottenuti dalla contemporanea misurazione del segnale ECG ottenuto tramite derivazione elettrocardiografica diretta.

Sono iniziati e sono tutt’ora in corso gli esperimenti di validazione del "cycle medical personal trainer" con gli altri metodi di “assessment” della soglia anaerobica ventilatoria descritti nel capitolo precedente.

E’ stata implementata una nuova interfaccia di comunicazione tra device e paziente e si sta sviluppando un sistema di intelligenza artificiale che sia in grado di gestire comandi vocali .

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 . Si è deciso di procedere con il deposito di una domanda internazionale per chiedere l’estensione della registrazione del brevetto italiano.

Infine si prevede l’estensione del progetto per la fase II dopo la validazione, valutazione di brevetto.

Studio di fattibilità, sicurezza ed efficacia di un programma di riabilitazione mediante esercizio fisico tele monitorato a domicilio, in pazienti molto anziani con scompenso cardiaco

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. Esso è gravato inoltre da elevata mortalità, compresa fra il 5 ed il 60% annuo, sulla base della gravità dei sintomi.

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

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

Il progetto si prefigge di 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 riguardano 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:

- 1) IRCCS Centro Cardiologico; 2) IRCCS Multimedica; 3) Policlinico San Donato; 4) Fondazione Ca' Grande, Ospedale Maggiore Policlinico; 5) Fondazione Policlinico San Matteo; 6) Fondazione Salvatore Maugeri; 7) IRCCS Ospedale San Raffaele; 8) Istituto Auxiologico Italiano; 9) Istituto Clinico Humanitas; 10) Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri; 11) Ospedale Pediatrico Bambino Gesù; 12) IRCCS San Raffaele Pisana; 13) ISMETT; 14) SDN; 15) 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 sono randomizzati in due gruppi (gruppo A e gruppo B).

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

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

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

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

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

Ci si 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 ha 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 2019, essendo tutt'ora in attesa del materiale necessario per il monitoraggio domiciliare del paziente.

Liposculid plus vs Ezetimibe (LIPLEZ) studio multicentrico randomizzato, in doppio cieco, crossover, prevede l'arruolamento di pazienti affetti da cardiopatia ischemica e intolleranti alle statine

Lo studio multicentrico randomizzato, in doppio cieco, crossover, prevede l'arruolamento di 200 pazienti affetti da cardiopatia ischemica e intolleranti alle statine. Dopo la valutazione dei criteri di inclusione ed esclusione, il paziente firma il consenso informato e viene arruolato nello studio. Lo studio prevede la 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 vengono 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 ripetute la valutazione

clinica e gli esami ematochimici eseguiti all'arruolamento. Dopo una sospensione di 15 giorni, del trattamento farmacologico in entrambi i gruppi, è previsto 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, il protocollo prevede la ripetizione delle 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 verranno 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.

Obiettivi secondari

- 1) sicurezza del trattamento con nutraceutico
- 2) miglioramento qualità della vita (questionario da def.)

Si ritiene di potere dimostrare la validità terapeutica di nutraceutici nel ridurre la colesterolemia totale in pazienti con pregresso evento cardiovascolare.

CENTRO DI RICERCA CLINICA E SPERIMENTALE

Studio comparativo sulla capacità di due diversi integratori alimentari di agire sul profilo lipidico e sulla qualità di vita associati alla malattia venosa cronica

La malattia venosa cronica (CVD) e l'ipercolesterolemia nello stesso paziente sono frequenti. La malattia venosa cronica è una condizione clinica, spesso progressiva, che non solo limita la qualità di vita dei pazienti che ne sono affetti, ma che può evolvere verso patologie gravi, quali la comparsa di ulcere venose. L'ipercolesterolemia è un noto fattore di rischio cardiovascolare ed è un obiettivo comune di trattamento.

Nei pazienti a basso rischio cardiovascolare, e/o in prevenzione primaria che rifiutano l'assunzione di agenti ipolipemizzanti o nei pazienti intolleranti alle statine, l'uso di integratori alimentari può essere aggiunto allo stile di vita per ottenere una riduzione dei livelli plasmatici del colesterolo. Numerosi sono gli integratori alimentari disponibili; molti di questi sono in grado di agire contemporaneamente su diversi parametri metabolici, quali il colesterolo, ed emodinamici, quali la malattia venosa, aumentando quindi la compliance al trattamento da parte del paziente.

L'obiettivo specifico di questo studio, che fa parte di un progetto più ampio di valutazione dell'efficacia e sicurezza di diversi nutraceutici su parametri metabolici ed emodinamici, è quello di paragonare l'efficacia di integratori alimentari sul metabolismo lipidico e sui sintomi e segni clinici associati alla malattia venosa ed alla qualità di vita.

Il primo di questi studi coinvolge 123 pazienti ambulatoriali affetti da malattia venosa cronica (MVC) e ipercolesterolemia che non abbiano assunto negli ultimi tre mesi farmaci e/o nutraceutici e/o integratori alimentari per il trattamento dell'ipercolesterolemia e/o della MVC.

I pazienti eleggibili vengono randomizzati secondo lo schema a blocchi permutati 1:1:1 ed assegnati ad uno dei tre bracci di trattamento: A (Armolipid plus, efarma), B (Colven, PhytoActiva Srl), C (placebo)

Nel 2018, 22 pazienti hanno iniziato il trattamento (1 screening failure) e solo un paziente ha interrotto lo studio. Due individui sono ancora in trattamento e 19 pazienti hanno completato lo studio; non si è registrato nessun avvento avverso serio.

Il progetto continuerà nell'anno 2019.

Il presente progetto permetterà di ampliare le conoscenze sull'uso dei nutraceutici per migliorare il profilo lipidico e la qualità di vita nei pazienti con malattia venosa cronica, e di aumentare la consapevolezza sull'efficacia e sicurezza dei due integratori alimentari oggetto di studio.

Valutazione prospettica di parametri innovativi di rischio cardiovascolare in pazienti con aumentato rischio cardiovascolare e/o malattie cardiovascolari

Le malattie cardiovascolari (CV), in particolare scompenso cardiaco, ipertensione arteriosa, angina pectoris, fibrillazione atriale, malattia coronarica e cardiopatia valvolare, rappresentano la principale causa di morbidità e mortalità nella popolazione mondiale, in entrambi i sessi, e la loro incidenza è destinata ad aumentare nei prossimi decenni.

L'attuale sistema di prevenzione basato sulla stratificazione del rischio non è capace di stimare in maniera ottimale il rischio, sottostimandolo in popolazioni ad alto rischio CV e sovrastimando il medesimo in popolazioni a basso rischio CV, e inoltre non tiene conto del diverso impatto che i fattori di rischio CV e le risposte ai trattamenti farmacologici, hanno nei due sessi. Tutto ciò impone la ricerca di nuovi parametri con un valore prognostico forte, anche basato sulle differenze di genere.

Negli ultimi anni lo studio della funzione endoteliale e della elasticità vascolare e nuovi biomarkers, hanno dimostrato la possibilità di predire il rischio cardiovascolare futuro indipendentemente dai classici fattori di rischio sia in prevenzione primaria, sia secondaria nella popolazione generale e nei pazienti con malattie CV, pur non rivelando ancora differenze di genere nel determinismo della importanza prognostica anche di questi nuovi fattori di rischio.

Inoltre, se la riabilitazione cardio-metabolica si è dimostrata capace di ridurre l'incidenza di eventi CV, non è ancora noto l'impatto che una stratificazione del rischio elaborata utilizzando anche i nuovi parametri suddetti possa avere sulla risposta alla riabilitazione.

Lo studio, di tipo osservazionale longitudinale prospettico, prevede l'arruolamento di un minimo di 100 e fino a un massimo di 200 soggetti/pazienti anno, di ambo i sessi, età 18-80 anni, diagnosi di malattia CV (in particolare scompenso cardiaco, ipertensione arteriosa, angina pectoris, fibrillazione atriale, malattia coronarica e cardiopatia valvolare, etc.) o presenza di malattia dismetabolica (metabolismo glucidico o lipidico) afferenti all'IRCCS San Raffaele Pisana.

La ricerca di parametri innovativi ad alto valore prognostico, anche basati sulle differenze di genere, è di primaria importanza. s

Lo studio si prefigge di:

- valutare prospetticamente la rilevanza di parametri innovativi di rischio CV;
- valutare l'effetto dell'esercizio fisico in pazienti con aumentato rischio e/o malattie CV;
- valutare il rischio di insorgenza di eventi CV futuri in pazienti con aumentato rischio CV e/o malattie CV;
- identificare il ruolo di fattori di rischio emergenti (fattori psico-ambientali, qualità di vita, umore) e/o di indici precoci di aterosclerosi (stiffness e funzionalità vascolare, microalbuminuria e nuovi biomarcatori) in pazienti a basso rischio CV.

Si intende inoltre:

- valutare la concordanza di diverse carte del rischio CV (SCORE e carta del Rischio del Progetto Cuore dell'Istituto Superiore di Sanità) in una popolazione di soggetti a basso rischio;
- valutare prospetticamente l'effetto dell'aderenza alle diverse strategie di prevenzione e/o di intervento (educazionali e/o terapeutiche) riabilitativo.

I pazienti vengono sottoposti a una valutazione basale del rischio individuale di eventi CV (morte, infarto del miocardio o ictus) per mezzo di carte del rischio CV validate (carta SCORE e carta del rischio del Progetto Cuore dell'Istituto Superiore di Sanità), e a una valutazione dei fattori di rischio emergenti (fattori psico-ambientali, valutazione della qualità di vita (mediante il The World Health Organization Quality of Life- WHOQOL test), valutazione dello stato cognitivo (mediante il Mini-Mental State Examination -MMSE test), valutazione dello stato dell'umore (mediante il Geriatric Depression Scale -GDS test) e valutazione dei disturbi del desiderio sessuale (Hypoactive Sexual Desire Disorder - IIEF). Inoltre i pazienti sono sottoposti a una valutazione della funzionalità e morfologia del cuore (ecocardiogramma), alla registrazione grafica dell'attività elettrica del cuore (elettrocardiogramma) e suo monitoraggio nelle 24 ore (ECG Holter delle 24 ore con valutazione di Heart Rate Variability), degli indici precoci di aterosclerosi (stiffness vascolare, valutazione della velocità dell'onda di polso e della pressione aortica centrale, mediante devices dedicati, quali il Complior e lo Sphygmocor), della funzione endoteliale (mediante EndoPAT, pletismografia e/o metodica ecografica), di parametri basali (peso, altezza, circonferenza vita e fianchi e misurazione della pressione arteriosa). Infine i pazienti sono sottoposti ad un prelievo di sangue (due aliquote di sangue saranno trasferite in bio-banca) e alla raccolta delle urine. Tutti i pazienti sono sottoposti ad ecocardiogramma Doppler, colorDoppler con valutazione di parametri emergenti di contrattilità loco-regionale e di flusso intracardiaco e ad un test da sforzo con, quando appropriato, uno studio del consumo di ossigeno.

I soggetti con aumentato rischio cardiovascolare ed i pazienti con malattie cardiovascolari e/o metaboliche vengono sottoposti, a discrezione del medico, a prova da sforzo con o senza consumo di ossigeno, ecocardiogramma, ecoDoppler vascolare, monitoraggio ambulatoriale dell'ECG o della Pressione Arteriosa, TC cardiaca, RMN cardiaca. Le suddette valutazioni vengono ripetute annualmente durante il follow-up. I pazienti vengono quindi inclusi in un programma di riabilitazione cardiometabolica che include dieta individualizzata ed esercizio fisico commisurato alle capacità funzionali.

Ad ogni visita annuale, atta a valutare eventi e stato di salute, viene effettuato il calcolo del rischio cardiovascolare.

Il periodo di reclutamento previsto è di 48 mesi ed il follow-up minimo per ciascun soggetto/paziente è di dieci anni.

Lo studio avrà una immediata trasferibilità per il Servizio Sanitario, in quanto ha lo scopo di valutare il ruolo e l'impatto dei fattori di rischio cardiovascolari tradizionali ed emergenti nel calcolo del rischio cardiovascolare globale. La valutazione di fattori di rischio emergenti ed indici subclinici di aterosclerosi avrà lo scopo di meglio caratterizzare la prognosi cardiovascolare in pazienti con scompenso cardiaco, pazienti anziani o in altri sottogruppi "fragili". La valutazione più accurata del rischio di morbidità individuale permetterà di ottimizzare le strategie di prevenzione ed intervento, con importanti ripercussioni di tipo socio-economico.

AREA DI RICERCA EPIDEMIOLOGIA CLINICA E MOLECOLARE

Studio di impatto di un intervento psicologico in pazienti affetti da Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO): valutazione della qualità di vita e potenziali benefici sulla risposta riabilitativa (IMPROVE)

Le Malattie Respiratorie costituiscono la terza causa di morte dopo i tumori e le malattie cardiovascolari (NCDs, malattie non trasmissibili). Tra queste patologie la Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO) rappresenta l'entità nosologica più frequente, che si stima arriverà ad essere entro il 2030 la seconda causa di morte nel mondo, dopo cardiopatia e ictus [European Lung Foundation, 2012].

La BPCO è una malattia respiratoria progressiva, non completamente reversibile e altamente invalidante che compromette la qualità di vita dei soggetti che ne sono affetti [Vermeire, 2002]. Provoca una persistente ostruzione delle vie aeree e i sintomi respiratori più comuni comprendono la dispnea, la tosse e/o la produzione di espettorato. Tale condizione rende difficile la respirazione ed è dovuta alla somma degli insulti che si verificano nei polmoni nel corso degli anni, principalmente a causa del fumo di sigaretta. Tende ad essere progressiva e si associa ad un'importante risposta infiammatoria cronica delle vie aeree in seguito ad una malattia infettiva o all'esposizione a particelle, fumi e vapori irritanti (riacutizzazioni di BPCO) [GOLD, 2017].

L'impatto economico della BPCO sul PIL italiano è di circa 9 miliardi di euro; in Italia è la causa del 50% circa delle morti per malattie respiratorie, la mortalità è quasi 3 volte maggiore nel sesso maschile [<https://www.erswhitebook.org/>].

Un'approfondita e recente indagine, "La BPCO: le conoscenze, i vissuti, l'impatto sulla qualità di vita", condotta in cinque Paesi europei dalla GfK Eurisko - Gesellschaft für Konsumforschung, Society for Consumer Research - ha evidenziato il grave impatto della malattia sulla qualità della vita: la BPCO influenza la vita in generale nel 75% dei casi, il lavoro e le attività quotidiane nel 66%, la vita sociale, le relazioni e la vita familiare nel 56% e la vita di coppia nel 51% [<http://www.tecnomedicina.it/gfk-eurisko>].

La terapia farmacologica per la BPCO è utilizzata per ridurre i sintomi, ridurre la frequenza e la gravità delle riacutizzazioni, migliorare la tolleranza allo sforzo e lo stato di salute. Ad oggi, tuttavia, non vi è alcuna evidenza conclusiva di studi clinici che i farmaci disponibili per la BPCO possano modificare il declino a lungo termine della funzione polmonare. In tale contesto la riabilitazione polmonare svolge un ruolo cruciale, dimostrando di essere la strategia terapeutica più efficace per migliorare la dispnea, lo stato di salute, la tolleranza all'esercizio fisico e per ridurre i ricoveri ospedalieri tra i pazienti con precedente recente riacutizzazione [GOLD 2017].

Il recente piano di ricerca dei National Institutes of Health (NIH) sulla riabilitazione propone come obiettivo specifico di ricerca traslazionale il far progredire la comprensione degli approcci di medicina di precisione rilevanti per la medicina riabilitativa [<https://doi.org/10.1080/10400435.2017.1306411>].

Pertanto l'approccio alla riabilitazione del paziente cronico e complesso, come anche il paziente affetto da BPCO, si basa su una medicina orientata alla persona caratterizzata da un approccio olistico nella presa in carico del paziente nelle sue componenti biologica, fisica, psicologica, sociale e spirituale. L'obiettivo è inoltre quello di costruire un'alleanza terapeutica basata su fiducia, empatia, partecipazione e comprensione rispondente ai bisogni individuali del singolo paziente. Questo approccio è in accordo alla moderna teoria della Medicina P6: Predittiva, Personalizzata, Preventiva, Partecipatoria, Psico-cognitiva, Pubblica/Population-based [Hood & Friend, 2011; Gorini & Pravettoni, 2011; Ozdemir & Knoppers, 2013; Bragazzi, 2013]. Secondo tale prospettiva, il paziente diventa gradualmente consapevole del proprio stile di vita, comprendendo come le sue decisioni possano influenzare il suo stato di salute. Variabili psicologiche e personali influenzano l'esito clinico in termini di qualità della vita (QoL), contribuendo a preservare la vitalità e la soddisfazione percepita dal paziente.

Sir William Osler ha detto: “Il buon medico tratta la malattia; il grande medico tratta il paziente portatore di malattia.” In accordo con Ippocrate “È molto più importante sapere quale persona ha la malattia rispetto a quale malattia ha la persona”.

I pazienti affetti da BPCO soffrono frequentemente di depressione ed ansia e mostrano una ridotta qualità della vita, aspetti considerati come fattori di rischio per le riacutizzazioni e le riospedalizzazioni [Huber MB, et al., 2015]. Inoltre, l’impatto della malattia sullo stato psicologico si manifesta anche con una riduzione dell’aspettativa di vita [Wagena EJ, et al., 2005; Baraniak A, et al., 2011].

La BPCO, quindi, non solo deteriora gli aspetti funzionali e biologici dell’organismo del paziente ma influenza anche la sua vita familiare, relazionale e sociale. In questo contesto si colloca l’importanza di attuare programmi di Riabilitazione Respiratoria globali e multidisciplinari volti a ridurre i sintomi, ottimizzare lo stato funzionale e promuovere la qualità di vita di tali soggetti. La Riabilitazione Respiratoria multidisciplinare si colloca all’interno dei 9 domini di outcomes evidenziati nel BES 2015 in cui la salute è definita: “...dimensione essenziale del benessere individuale che incide su tutte le dimensioni della vita delle persone e in tutte le sue diverse fasi, modificando le condizioni di vita e condizionando i comportamenti, le relazioni sociali, le opportunità e le prospettive dei singoli e, spesso, delle loro famiglie” [www.istat.it/it/files/2015/12/Rapporto_BES_2015.pdf].

Gli eventi quali lo stress psicologico e la depressione, possono alterare la funzione del sistema immunitario periferico e viceversa alterazioni del sistema immunitario periferico, come quelle che si verificano durante una malattia, possono influenzare il cervello, determinando modificazioni dell’umore, stati d’ansia e alterazioni cognitive. Secondo il concetto che lo stato mentale può influire sulla gravità di una malattia fisica in un dato momento, è stato riportato che la BPCO è una sorta di malattia “somatopsichica” [Chen et al., 2015].

“Il sintomo non è mai una entità fenomenica unica, ma l’effetto finale, non standardizzato, di un convergere di molteplici azioni e reazioni. Indica un’alterazione della normale sensazione di sé e del proprio corpo in relazione ad uno stato patologico, riferito dal paziente. Si differenzia dal segno che è invece un reperto obiettivo patologico riconosciuto dal medico all’esame obiettivo del paziente stesso. La malattia è sempre un linguaggio dell’uomo totale, una parola che vuole essere capita. Non esiste la malattia, ma "l'uomo malato" [Antonio Meneghetti, 2008].

Un intervento psicologico, basato sia sul supporto psicologico ed emotivo sia sulla psicoeducazione, potrebbe rivelarsi una chiave importante nel processo di promozione della qualità di vita di tali pazienti, aiutandoli a sviluppare una maggiore percezione, responsabilizzazione e consapevolezza del proprio stato di salute, nell’ambito di una malattia cronica complessa, quale è la BPCO. Inoltre tale intervento potrebbe risultare efficace nel mantenere la capacità funzionale di tali pazienti dopo il percorso di Riabilitazione Respiratoria.

Il punto di vista del paziente, attraverso le sue percezioni, credenze, emozioni, esperienze di vita quotidiana, è un nuovo parametro, che si affianca agli indicatori medico/clinici nella valutazione dell’esito di trattamenti, o di cambiamenti nello stato di salute e si rivela tanto più importante quanto più la pratica medica ed epidemiologica si trova di fronte a quadri clinici complessi, spesso composti da più patologie ad andamento cronico.

In accordo con un approccio multidisciplinare e personalizzato al paziente, obiettivo primario del presente studio è di valutare gli effetti di un intervento psicologico, condotto mediante colloqui clinici vis à vis e telefonici, su pazienti affetti da BPCO, volto al miglioramento del benessere e della qualità di vita di tali pazienti.

Inoltre tale intervento potrebbe risultare efficace nel mantenere la capacità funzionale di tali pazienti dopo il percorso di Riabilitazione Respiratoria (obiettivo secondario).

Ci si aspetta di ottenere:

1. Cambiamento della qualità della vita del paziente affetto da BPCO, valutato mediante i seguenti questionari: the Short Form Health Survey General and Mental Health (SF-36); the Quality Of Life Enjoyment And Satisfaction Questionnaire (Q-LES-Q); the Mageri Foundation Respiratory Failure Questionnaire (MRF-26).

2. Mantenimento della capacità funzionale e respiratoria, valutato mediante i seguenti: il test del cammino (Six Minute Walking Test); The Medical Research Council; The Borg scale; The Barthel scale.
3. Cambiamento dello stato psicologico e dell'uso delle strategie di coping del paziente, valutati mediante i seguenti test: The Symptom check list - SCL-90-R; Beck Depression Inventory - BDI-II; State-Trait Anxiety Inventory – STAI-Y; Brief COPE.
4. Valutazione dei costi e dei benefici e dell'estrapolazione al SSN.

Il progetto sposta l'attenzione clinica e di ricerca verso terapie dirette ai pazienti e di medicina personalizzata. Un intervento psicologico focalizzato sul supporto psicologico e sulla psicoeducazione nei pazienti con BPCO è una possibile chiave per migliorare la loro QdV, per alleviare l'ansia-depressione e per portare questi soggetti a mostrare una maggiore consapevolezza del loro stato di salute. Il miglioramento della QdV e dello stato psicologico è chiaramente significativo, dal momento che gli interventi che migliorano la gestione del proprio stato emotivo nei pazienti con BPCO sono correlati ad un'alta assistenza sanitaria.

La popolazione in studio consiste di uomini e donne, arruolati presso l'Unità Operativa di Riabilitazione Respiratoria, dell'IRCCS San Raffaele Pisana, secondo specifici criteri di inclusione ed esclusione (previsione arruolamento di 36 soggetti).

I criteri inclusione prevedono: diagnosi clinica di BPCO; punteggio Mini Mental State Examination (MMSE) ≥ 26 ; Six Minute Walking Test ≥ 90 metri; rilascio del consenso informato scritto.

I criteri di esclusione prevedono: comorbidità che influenzino la funzionalità polmonare; delta Six Minute Walking Distance < 60 metri dopo le tre settimane di Riabilitazione Respiratoria.

Lo studio, condotto in un setting di Real Life e della durata complessiva di 12 mesi, è articolato secondo le seguenti quattro fasi: Selezione e arruolamento dei soggetti partecipanti; valutazione pre-intervento IMPROVE; intervento IMPROVE; valutazione post-intervento IMPROVE.

Intervento IMPROVE (6 mesi)

L'intervento psicologico dello studio IMPROVE è effettuato dopo il periodo di Riabilitazione Respiratoria ed è condotto da uno Psicologo Psicoterapeuta mediante colloqui clinici individuali, condotti sia vis à vis che telefonicamente, a seconda del gruppo cui il soggetto è assegnato.

Tale intervento, personalizzato per ogni paziente a seconda delle specifiche esigenze e da quanto emerso dai test psicodiagnostici somministrati in fase di ricovero, si basa sul supporto psicologico ed emotivo e sulla psicoeducazione ed ha come obiettivo quello di promuovere una maggiore percezione, responsabilizzazione e consapevolezza dello stato di salute del soggetto affetto da BPCO nella gestione della sua malattia cronica.

L'intervento IMPROVE è articolato in diverse sessioni, nell'arco dei 6 mesi:

- per il Face-Telephone Group sono previsti 10 colloqui clinici vis à vis (della durata di 45-60 minuti) e 10 colloqui telefonici (della durata 30 minuti), con cadenza quindicinale alternata. Per gli incontri vis à vis i pazienti sono invitati a recarsi presso l'IRCCS
- per il gruppo Telephone Group sono previsti 10 colloqui telefonici (della durata di 30 minuti) con cadenza quindicinale;
- il gruppo di controllo non segue alcun tipo di intervento psicologico ed è richiamato per le valutazioni, relative allo stato psicologico e della qualità di vita, come previste dal protocollo dello studio IMPROVE.

Alla fine dei 6 mesi tutti i soggetti partecipanti allo studio IMPROVE vengono contattati telefonicamente e invitati a tornare presso l'Unità Operativa di Riabilitazione Respiratoria. Viene valutata la qualità di vita e lo stato psicologico attuale mediante specifici questionari.

Viene valutata la capacità funzionale mediante il test del cammino (Six Minutes Walking Test - 6MWT) e saranno rilevati i parametri di funzionalità respiratoria (The Medical Research Council – MRC; The Mageri Foundation Respiratory Failure Questionnaire - MRF26; The Borg scale; The Barthel scale) (rilevazione T2, dopo 6 mesi di trattamento).

La dimensione del presente studio (N=30) non è stata dettata da considerazioni statistiche, ma risulta essere propedeutica e sufficiente per lo studio successivo.

L'obiettivo tuttavia è quello di arruolare un numero maggiore di soggetti in previsione di un'uscita anticipata dallo studio, drop-out, pari al 15%.

La fase di reclutamento e selezione dei soggetti è iniziata in data 02/01/2018 con arruolamento del primo paziente in data 12/01/2018 ed arruolamento dell'ultimo paziente in data 31/07/2018.

38 soggetti hanno firmato il consenso informato e aderito allo Studio IMPROVE: di questi due pazienti sono usciti dallo studio una settimana dopo la firma del consenso informato. Attualmente sono 36 i soggetti partecipanti allo Studio IMPROVE, in corso di valutazione e trattamento.

Il primo paziente entrato nello Studio IMPROVE in data 12/01/2018, dimesso dal Reparto di Riabilitazione Respiratoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana in data 31/01/2018, ha concluso nel mese di Settembre l'intervento IMPROVE, come previsto dal protocollo IMPROVE del gruppo cui era stato assegnato.

Il termine del trattamento e delle valutazioni, dell'ultimo paziente arruolato in data 31 Luglio 2018, con dimissione dal Reparto di Riabilitazione Respiratoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana in data 02/08/2018, è previsto per Gennaio 2019.

Il trattamento, le valutazioni, con relative analisi statistiche, dei soggetti partecipanti allo studio IMPROVE sono attualmente ancora in corso.

Tutti i soggetti in studio, nel corso del periodo di ricovero, della durata di 4 settimane (in accordo alle nuove linee guida della regione Lazio), hanno effettuato le seguenti valutazioni:

- Valutazione socio-demografica (Tabella 1).

Tabella 1. CARATTERISTICHE DEMOGRAFICHE DEI 36 SOGGETTI IN STUDIO	
Variabili	m±SD *
Maschi	16 (44.4 %)
Femmine	20 (55.6%)
Età (anni)	71.64±7.71
Anni di scolarità	11.5±3.82
New BMI	27.71±7.35
Obesità (new BMI≥30)	30%
MMSE	27.54±1.50
Stato civile	
Sposato	36.1%
Divorziato/Vedovo/ Single	63.9%
Abitudine al fumo	
Non fumatori	20 %
Fumatori	31.4 %
Ex Fumatori	48.6 %
Abitudine all'alcol	
Non Bevitore	59.3%
Bevitore	40.7%
Stato Occupazionale	
Pensione	75 %
Attivi	25%
Convivenza	
Caregiver Assente	36.1 %
Caregiver Presente	63.9%

* Media±Deviazione standard

- Valutazione respiratoria e funzionale, in entrata ed in uscita (Tabella 2).

Tabella 2. PARAMETRI FUNZIONALI E DI QUALITÀ DI VITA RELATIVI ALLA PATOLOGIA RESPIRATORIA DEI 36 SOGGETTI IN STUDIO

<i>Test respiratori e funzionali</i>	Riabilitazione Respiratoria			Significatività statistica
	<i>INGRESSO</i>	<i>USCITA</i>	Δ	
6MWD - Six Minutes Walking Distance (<i>metri</i>)	140.28±77.00*	259.72±77.44	119.44±60.19	p<0.001
Borg	7.50 ±0.81	3.69±1.19	-3.81±1.24	p<0.001
SGRQ - St. George's Respiratory Questionnaire				
<i>Sintomi</i>	51.95±24.08	-	-	
<i>Attività</i>	56.82±23.85			
<i>Impatto</i>	36.64±19.58			
<i>Salute Generale</i>	43.54±18.12			
BARTHEL	75.00±22.92	92.53±11.07	17.53±18.65	p<0.001
MRF26	54.54 ±18.26	33.61±20.09	-20.94±20.77	p<0.001
MRC	4.11±0.75	2.78±0.90	-1.33±0.86	p<0.001
NORTON	17.36±2.47	18.78±1.81	1.42±2.73	p=0.004
NRS	0.17±0.61	0.47±1.23	0.31±1.17	p=0.125 n.s.
Indice CIRS	1.56±0.18	-	-	
BRASS	10.92±4.02	-	-	
CONLEY	1.36±1.59	-	-	

* Media±Deviazione standard

- Valutazione della qualità di vita e dello stato psicologico, al baseline (Tabella 3).

Tabella 3. PARAMETRI DI QUALITÀ DI VITA E STATO PSICOLOGICO DEI 36 SOGGETTI IN STUDIO	
	1° Valutazione
Sf-36 – 36 Item Short Form Health Survey	
General and Mental Health	
<i>Attività Fisica</i>	43.45±25.57*
<i>Limitazione Salute Fisica</i>	16.38±32.24
<i>Limitazione Stato Emotivo</i>	40.34±38.09
<i>Dolore Fisico</i>	63.10±10.89
<i>Salute generale</i>	60.93±13.59
<i>Vitalità</i>	46.98±13.22
<i>Attività Sociale</i>	35.63±42.66
<i>Salute mentale</i>	58.81±9.20
Q-Les-Q - Quality Of Life Enjoyment And Satisfaction Questionnaire	
<i>Salute Fisica</i>	45.63±21.61
<i>Emozioni</i>	62.13±19.71
<i>Attività e Tempo libero</i>	55.95±21.07
<i>Relazioni Sociali</i>	70.45±22.08
<i>Attività Generali</i>	54.10±19.01
SCL-90 - The Symptom check list	
<i>General Severity index</i>	0.75±0.47
<i>Positive Symptom Distress index</i>	1.53±0.42
<i>Somatizzazione</i>	0.98±0.66
<i>Ossessività-Compulsività</i>	0.89±0.61
<i>Ipersensibilità interpersonale</i>	0.63±0.45
<i>Depressione</i>	0.94±0.78
<i>Ansia</i>	0.75±0.63
<i>Ostilità</i>	0.52±0.47
<i>Ansia fobica</i>	0.43±0.51
<i>Ideazione paranoide</i>	0.63±0.48
<i>Psicoticismo</i>	0.53±0.46
BDI-II- Beck Depression Inventory II	
	14.19±9.34
STAI - State-Trait Anxiety Inventory – Y	
<i>STAI-Y-2</i>	45.80±5.54
<i>STAI-Y-1</i>	43.87±5.89
Brief-Cope	
<i>1. RISTRUTTURAZIONE POSITIVA</i>	5.82±2.04
<i>2. DISTOGLIERE ATTENZIONE</i>	5.11±2.15
<i>3. ESPRESSIONE</i>	4.39±1.87
<i>4. USO DEL SUPPORTO STRUMENTALE</i>	4.54±1.71
<i>5. AFFRONTARE OPERATIVAMENTE</i>	6.14±1.72
<i>6. NEGAZIONE</i>	3.68±1.93
<i>7. RELIGIONE</i>	4.15±2.30
<i>8. UMORISMO</i>	4.85±2.01
<i>9. DISIMPEGNO COMPORTAMENTALE</i>	3.61±1.59
<i>10. USO DEL SUPPORTO EMOTIVO</i>	4.11±1.45
<i>11. USO DI SOSTANZE</i>	2.11±0.42
<i>12. ACCETTAZIONE</i>	6.22±1.78
<i>13. PIANIFICAZIONE</i>	6.74±1.48
<i>14. AUTOACCUSA</i>	5.04±1.89

* Media±Deviazione standard

Tutti i soggetti attualmente in studio (N=36) sono stati assegnati, in modo casuale, a tre diversi gruppi di trattamento in accordo al protocollo IMPROVE:

- Face-Telephone Group (F-TPI, N=12): I soggetti inclusi in questo gruppo, dopo le quattro settimane di Riabilitazione Respiratoria, ricevono per 6 mesi un trattamento di supporto psicologico e di psicoeducazione, sia vis à vis che telefonico. Tali colloqui clinici si focalizzano sui diversi aspetti di vita del paziente: ricostruzione biografica, storia familiare,

relazioni con i caregivers e con altre figure significative, attività e interessi. È dato spazio al significato che la malattia ha nella vita quotidiana del paziente ed i relativi vissuti. Si lavora sull'esplorazione del mondo onirico di tali pazienti e sulla promozione di strategie di coping più funzionali. Sono previsti 10 colloqui clinici vis à vis (della durata di 45-60 minuti), effettuati presso l'IRCCS e 10 colloqui telefonici (della durata 30 minuti), con cadenza quindicinale alternata.

- Telephone Group (TPI, N=12): I soggetti inclusi in questo gruppo, dopo le quattro settimane di Riabilitazione Respiratoria, ricevono per 6 mesi un trattamento di supporto psicologico e di psicoeducazione, di tipo telefonico. Tali colloqui clinici si focalizzano sul significato che la malattia ha nella vita quotidiana del paziente, con relativi vissuti, e su interventi di psicoeducazione per promuovere strategie di coping più funzionali. Sono previsti 10 colloqui telefonici (della durata di 30 minuti) con cadenza quindicinale.
- Control Group (CTRL, N=12): I soggetti inclusi in questo gruppo, dopo le quattro settimane di Riabilitazione Respiratoria, continuano a seguire le indicazioni terapeutiche ricevute dal Medico di Riabilitazione post Riabilitazione Respiratoria. Il gruppo di controllo non segue alcun tipo di intervento psicologico ed è richiamato, dopo sei mesi, per le valutazioni, relative allo stato psicologico e della qualità di vita, come previste dal protocollo dello studio IMPROVE.

Un primo risultato ottenuto è relativo alla partecipazione dei soggetti al gruppo sperimentali F-TPI: i 12 pazienti hanno effettuato in media 5 dei colloqui vis à vis. Diverse ragioni logistiche e principalmente l'impossibilità a raggiungere autonomamente la sede dell'IRCCS, hanno indotto tali pazienti a rinunciare ai colloqui vis à vis. Tenendo conto di tale problematica, sono stati incrementati, con tali pazienti, i colloqui telefonici, rispettando la struttura interna dei colloqui clinici e la cadenza quindicinale prevista.

Studi futuri dovranno tenere in considerazione queste osservazioni, in cui il paziente è compliant e aderisce allo studio ma che fattori estrinseci e indipendenti dalla volontà del paziente ne potrebbero limitare la partecipazione, prevedendo interventi riabilitativi e di assistenza psicologica mediante telemonitoraggio.

Studi condotti presso l'IRCCS San Raffaele Pisana hanno dimostrato che i pazienti anziani con malattia cronica accettano favorevolmente gli interventi di teleriabilitazione e telemonitoraggio [Caggianese et al., 2018].

Lo studio IMPROVE mostra un'alta compliance dei pazienti per la modalità telefonica, in entrambi in gruppi in studio.

Dopo sei mesi, dall'entrata in studio per ogni soggetto, è previsto il follow up completo, presso l'Unità Operativa di Riabilitazione Respiratoria. Sarà valutata la qualità di vita, generale e relativa alla condizione di malattia, e lo stato psicologico attuale di tutti i pazienti mediante gli specifici strumenti di misura.

Sarà valutata in tale sede la capacità funzionale mediante il test del cammino allo scopo di valutare in quale dei tre gruppi di studio i benefici della Riabilitazione Respiratoria sono stati maggiormente conservati.

La gestione della BPCO risulta complessa: in Italia è una malattia respiratoria molto diffusa con alti costi e sostenibilità per il SSN. Nondimeno, il numero di reparti ospedalieri di riabilitazione respiratoria e di posti letto continua a diminuire senza alternative organizzative coerenti. Gli strumenti riportati dalle linee guida della Regione Lazio per la riabilitazione respiratoria comprendono 6MWT, Borg, MRC, MRF26 e BMI. La sfida è fornire agli specialisti nuovi strumenti in grado di valutare ampiamente lo stato globale e il profilo specifico dei pazienti, supportando scelte cliniche e decisioni riabilitative con strategie predittive. L'effettiva possibilità di ridurre le esacerbazioni e le riospedalizzazioni è di fondamentale importanza per la sostenibilità del sistema sanitario, alla luce dei costi sempre maggiori in una popolazione che invecchia sempre più.

RICERCA TRASLAZIONALE

Laboratorio di Brain Connectivity

Studio della connettività cerebrale in condizioni fisiologiche e patologiche

Il progetto intende individuare dei marcatori neurofisiologici che riflettano lo stato cerebrale che possa identificare alterazioni della plasticità corticale, attraverso investigazioni con tecniche elettrofisiologiche (TMS-EEG ed EEG a riposo).

Vengono studiate le patologie presenti all'interno dell'IRCCS San Raffaele Pisana e strutture coinvolte.

Possono essere utilizzate anche registrazioni EEG prima e dopo riabilitazione motoria o cognitiva, e possono essere utili per lo scopo del progetto anche registrazioni riguardanti apprendimento o compiti etici.

Dal punto di vista preclinico possono essere prese in considerazione anche registrazioni su modelli animali come topi o primati.

L'obiettivo di questo progetto è la valutazione dei network cerebrali per lo studio della connettività funzionale, strutturale ed effettiva. L'attività è specificatamente rivolta alla valutazione delle modulazioni dei network cerebrali dovuti a patologie neurodegenerative e non (come pazienti affetti da Alzheimer, epilessia, sclerosi, 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), dati di risonanza magnetica (MRI), registrazioni simultanee di dati elettroencefalografici e stimolazione elettrica e magnetica (EEG-TMS, EEG-tDCS, EEG-tACS).

Le maggiori innovazioni apportate a questo progetto riguardano prima di tutto l'approccio multimodale alla patologia e l'integrazione tra dati di origini diverse, come quelli già elencati, ma anche dati provenienti da test neuropsicologici e clinici che permettano una correlazione con le valutazioni neurofisiologiche per seguire il paziente durante la progressione della malattia o il recupero funzionale e cognitivo attraverso nuovi approcci di riabilitazione, come quelli legati a compiti cognitivi e stimolazioni magnetiche ed elettriche mirati allo specifico recupero cognitivo di determinate aree cerebrali.

Ci si attende di individuare marcatori neurofisiologici che riflettano lo stato cerebrale, che possano identificare alterazioni della plasticità corticale attraverso investigazioni con tecniche elettrofisiologiche:

- Modulazioni EEG nelle bande di frequenza di interesse (delta, theta, alpha 1, alpha 2, beta 1, beta 2, gamma);
- Impatto delle stimolazioni NIBS sui meccanismi di plasticità cerebrale nel recupero funzionale e nel decorso patologico e fisiologico;
- Indici di predizione delle patologie e miglioramento ed efficacia delle metodiche di neuroriabilitazione.

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

L'attività elettrica cerebrale è stata registrata tramite EEG (0,3-100 Hz passa-banda, frequenza di campionamento: 512 Hz) da 32 elettrodi posizionati secondo Sistema Internazionale 10-20 aumentato durante le condizioni di riposo ad occhi chiusi e aperti (5 minuti ciascuno). Per monitorare i movimenti degli occhi, è stato 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 stato frammentato in epoche da 2-s e sono stati utilizzati due processi: i dati sono stati rivisti per eliminare manualmente le epoche con forme d'onda aberranti; la rilevazione degli

artefatti è stata completata con un algoritmo per l'analisi delle componenti indipendenti (ICA) sviluppato in EEGLAB. Sono stati 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).

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

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

La Connettività cerebrale è stata 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 stata 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 stati usati come peso del grafo calcolato con la teoria dei grafi.

Sono state 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 stati calcolati 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.

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

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

Sono state calcolate correlazioni specifiche tra indici comportamentali e neurofisiologici.

PUBBLICAZIONI

Franceschini M, Fugazzaro S, Agosti M, Sola C, Di Carlo A, Cecconi L, Ferro S; Italian Study Group on Implementation of Stroke Care (ISC Study).

Acute Phase Predictors of 6-Month Functional Outcome in Italian Stroke Patients Eligible for In-Hospital Rehabilitation.

Am J Phys Med Rehabil. 2018 Jul;97(7):467-475.

The aim of the study was to assess early poststroke prognostic factors in patients admitted for postacute phase rehabilitation.

A 1-yr multicenter prospective project was conducted in four Italian regions on 352 patients who were hospitalized after a first stroke and were eligible for postacute rehabilitation. Clinical data were collected in the stroke or acute care units (acute phase), then in rehabilitation units (postacute phase), and, subsequently, after a 6-mo poststroke period (follow-up). Clinical outcome measures were represented using the Barthel Index and the modified Rankin Scale. Univariate and multivariate analyses were performed to identify the most important prognostic index.

Modified Rankin Scale score, minor neurologic impairment, and early out-of-bed mobilization (within 2 days after the stroke) proved to be important factors related to a better recovery according to Barthel Index (power of prediction = 37%). Similarly, age, premorbid modified Rankin Scale score, and early out-of-bed mobilization were seen to be significant factors in achieving better overall participation and activity according to the modified Rankin Scale (power of prediction = 48%). Barthel Index at admission and certain comorbidities were also significant prognostic factors correlated with a better outcome.

According to the Barthel Index and modified Rankin Scale, early mobilization is an early predictor of favorable outcome.

Complete the self-assessment activity and evaluation online at <http://www.physiatry.org/JournalCME> CME OBJECTIVES: Upon completion of this article, the reader should be able to: (1) Incorporate prognostic factors of good clinical outcomes after stroke in developing treatment plans for patients admitted to rehabilitation; (2) Identify acute phase indicators associated with favorable 6-mo outcome after stroke; and (3) Recognize the cut-off for early mobilization linked to better outcome in stroke survivors admitted to rehabilitation.

Franceschini M, Goffredo M, Pournajaf S, Paravati S, Agosti M, De Pisi F, Galafate D, Posteraro F.

Predictors of activities of daily living outcomes after upper limb robot-assisted therapy in subacute stroke patients.

PLoS One. 2018 Feb 21;13(2):e0193235. eCollection 2018.

Upper limb recovery is one of the main goals of post-stroke rehabilitation due to its importance for autonomy in Activities of Daily Living (ADL). Although the efficacy of upper limb Robot-assisted Therapy (RT) is well established in literature, the impact of the initial status of the patient on the effects of RT is still understudied. This paper aims to identify whether demographic, clinical and motor characteristics of stroke patients may influence the ability to independently perform ADL after RT.

A retrospective study was conducted on sixty stroke patients who conducted planar upper limb goal-directed tasks with the InMotion 2.0 robot. The RT was administered 5 days/week for 4 weeks and each session lasted 45 minutes. The primary outcome measure was the Modified Barthel Index (BI), dichotomized into favourable ($BI \geq 75$) and unfavourable ($BI < 75$) outcomes. The potential predictors were the demographic and clinical records, and the following clinical assessment scores: Modified Ashworth Scale-Shoulder (MAS-S); Modified Ashworth Scale-Elbow (MAS-E); Fugl-Meyer Assessment Upper Extremity (FMA-UE); upper limb section of the Motricity Index (MIul); total passive Range Of Motion (pROM); and Box and Block Test (BBT).

Statistical analysis showed that the BBT, FMA-UE and MIul scores were significant predictors of a favourable outcome in ADL. The cut-off scores of the independent variables were calculated (FMA-UE = 32; MIul = 48; BBT = 3) with respect to the dichotomic BI outcome. Their robustness was assessed with the Fragility Index (FMA-UE = 2; MIul = 3; BBT = 7), showing that BBT is the most robust predictor of favourable BI outcome. Moreover, subjects with all predictors higher than the cut-off scores had higher probability to increase their independence in ADL at the end of the therapy. Demographic records, spasticity and pROM were not identified as predictors.

Stroke patients with greater manual dexterity and less impairment appear to have a higher probability of achieving clinically significant ADL outcomes after upper limb RT. The obtained results can help to optimise

the management of RT treatment planning. Further studies on a larger number of patients with a long-term follow up are recommended in order to evaluate other potential predictors and to validate the results.

Di Carlo A, Lamassa M, Franceschini M, Bovis F, Cecconi L, Pournajaf S, Paravati S, Biggeri A, Inzitari D, Ferro S; Italian Study Group on Implementation of Stroke Care.

Impact of acute-phase complications and interventions on 6-month survival after stroke. A prospective observational study.

PLoS One. 2018 Mar 23;13(3):e0194786. eCollection 2018.

The outcome of stroke patients is complex and multidimensional. We evaluated the impact of acute-phase variables, including clinical state, complications, resource use and interventions, on 6-month survival after first-ever stroke, taking into account baseline conditions exerting a possible effect on outcome. As part of a National Research Program, we performed a prospective observational study of acute stroke patients in four Italian Regions. Consecutive patients admitted for a period of 3 months to the emergency rooms of participating hospitals were included. A total of 1030 patients were enrolled (median age 76.0 years, 52.1% males). At 6 months, 816 (79.2%) were alive, and 164 (15.9%) deceased. Survival status at the 6-month follow-up was missing for 50 (4.9%). Neurological state in the acute phase was significantly worse in patients deceased at 6 months, who showed also higher frequency of acute-phase complications. Cox regression analysis adjusted for demographics, pre-stroke function, baseline diseases and risk factors, indicated as significant predictors of 6-month death altered consciousness (HR, 1.70; 95% CI, 1.14-2.53), total anterior circulation infarct (HR, 2.13; 95% CI, 1.44-3.15), hyperthermia (HR, 1.70; 95% CI, 1.18-2.45), pneumonia (HR, 1.76; 95% CI, 1.18-2.61), heart failure (HR, 2.87; 95% CI, 1.34-6.13) and nasogastric feeding (HR, 2.35; 95% CI, 1.53-3.60), while antiplatelet therapy during acute phase (HR, 0.56; 95% CI, 0.39-0.79), and early mobilisation (HR, 0.55; 95% CI, 0.36-0.84) significantly increased 6-month survival. In a prospective observational study, stroke severity and some acute-phase complications, potentially modifiable, significantly increased the risk of 6-month death, independently of baseline variables. Early mobilisation positively affected survival, highlighting the role of early rehabilitation after stroke.

Gasparini G, Gaffuri M, E. Guanziroli¹, Goffredo M, Pournajaf S, Galafate D, Russo E, Filoni S, Franceschini M, Molteni F.

Recovery of gait function with a wearable powered exoskeleton in sub-acute stroke patients using sEMG for fine tuning: Preliminary results

Annals of Physical and Rehabilitation Medicine 61S (2018) e1–e102

Gait recovery in post-stroke patients is one of the main goals of post-stroke rehabilitation. Wearable over-ground powered exoskeletons allow individuals with gait dysfunctions to perform an over-ground gait training. Literature lacks of clinical studies on exoskeleton-supported gait rehabilitation in stroke patients and on setting modalities. Ekso is a wearable exoskeleton equipped with 4 motors, which allows the patient to stand up, sit and walk on a flat hard surface. The aim of this study is to investigate the clinical effects of an over-ground walking training with a wearable powered exoskeleton (Ekso), after a sEMG fine tuning, in sub-acute stroke patients.

This is a pilot pre-post, open label, non randomized, non controlled experimental study. 47 sub-acute stroke patients underwent a walking rehabilitation training of 15 sessions (60 min/session, 3 times/week) using Ekso. A surface electromyography (sEMG) of rectus femoris, hamstrings, tibialis anterior and soleus of both limbs was collected in order to define the best setting for each patient. Clinical evaluation was performed at the beginning of the training period (t1), and after 15 sessions (t2) using: Barthel Index, Ashworth scale, Motricity Index, Trunk Control Test, Functional Ambulation Scale, 10 meter walking test, 6 minutes walking test, and Walking Handicap Scale. Wilcoxon's tests ($P < 0.05$) was used to detect significant changes between data.

Significant statistical improvements were found between t0–t2 in Barthel Index, Motricity Index, Trunk Control Test, Functional Ambulation Scale, 10 meter walking test, and 6 minutes walking test.

Fifteen sessions of over-ground gait training using a powered wearable robotic exoskeleton, set with sEMG, improve ambulatory functions in sub-acute post-stroke patients. Further studies are needed to better understand the treatment effect.

Franceschini M, Fugazzaro S, Agosti M, Sola C, Di Carlo A, Cecconi L, Ferro S; Italian Study Group on Implementation of Stroke Care (ISC Study).

Acute Phase Predictors of 6-Month Functional Outcome in Italian Stroke Patients Eligible for In-Hospital Rehabilitation.

Am J Phys Med Rehabil. 2018 Jul;97(7):467-475.

The aim of the study was to assess early poststroke prognostic factors in patients admitted for postacute phase rehabilitation.

A 1-yr multicenter prospective project was conducted in four Italian regions on 352 patients who were hospitalized after a first stroke and were eligible for postacute rehabilitation. Clinical data were collected in the stroke or acute care units (acute phase), then in rehabilitation units (postacute phase), and, subsequently, after a 6-mo poststroke period (follow-up). Clinical outcome measures were represented using the Barthel Index and the modified Rankin Scale. Univariate and multivariate analyses were performed to identify the most important prognostic index.

Modified Rankin Scale score, minor neurologic impairment, and early out-of-bed mobilization (within 2 days after the stroke) proved to be important factors related to a better recovery according to Barthel Index (power of prediction = 37%). Similarly, age, premorbid modified Rankin Scale score, and early out-of-bed mobilization were seen to be significant factors in achieving better overall participation and activity according to the modified Rankin Scale (power of prediction = 48%). Barthel Index at admission and certain comorbidities were also significant prognostic factors correlated with a better outcome.

According to the Barthel Index and modified Rankin Scale, early mobilization is an early predictor of favorable outcome.

Pournajaf S, Goffredo M, Agosti M, Massucci M, Ferro S, Franceschini M; Italian Study Group on Implementation of Stroke Care (ISC Study).

Community ambulation of stroke survivors at 6 months follow-up: an observational study on sociodemographic and sub-acute clinical indicators.

Eur J Phys Rehabil Med. 2018 Dec 13. [Epub ahead of print]

Despite the importance of walking recovery in real life contexts, only 7% of stroke survivors at discharge from neuro-rehabilitation units recover independent walking in the community. However, studies on outcome indicators of walking ability restoration following stroke rarely regard the community ambulation.

To investigate how socio-demographic and sub-acute clinical characteristics of stroke survivors at admission and at discharge may predict a good participation in community walking activity 6 months post-stroke.

Retrospective observational study.

Setting: Inpatient neuro-rehabilitation centres.

Population: Three-hundred-ten stroke survivors.

analysis were performed on collected socio-demographic and clinical data of subjects after first-ever stroke within 72-hours of admission to acute care facilities (T1), at discharge (T2), and subsequently after 6-months post-stroke (T3). The regression analysis between every independent variable at T1 and T2 and Walking Handicap Scale-WHS (negative: 1-3; positive: 4-6) assessed at T3 were performed to identify the most important early predictors.

At T1, being younger, having a good ability to walk, early mobilization out of bed, not having TACI, and being female are significant positive indicators while, clinical complications are significantly negative for a WHS:4-6 at T3. No correlation were found between WHS and gender, aetiology, the side of lesion, the presence of aphasia, and the presence of risk factors. The combination of risk factors indicates a negative WHS at T3.

The presence of risk factors and clinical complications delay significantly the walking ability restoration and return to social life. Such status consistently with the patient's compliance must not postpone the rehabilitation relatively, rehabilitation must be facilitated with targeted programs taking care particularly of people with negative indicators for recovery of community ambulation 6 months post-stroke.

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. 2018 Feb;48:88-96.

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.

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

Functional cortical source connectivity of resting state electroencephalographic alpha rhythms shows similar abnormalities in patients with mild cognitive impairment due to Alzheimer's and Parkinson's diseases.

Clin Neurophysiol. 2018 Apr;129(4):766-782.

This study tested the hypothesis that markers of functional cortical source connectivity of resting state eyes-closed electroencephalographic (rsEEG) rhythms may be abnormal in subjects with mild cognitive impairment due to Alzheimer's (ADMCI) and Parkinson's (PDMCI) diseases compared to healthy elderly subjects (Nold). rsEEG data had been collected in ADMCI, PDMCI, and Nold subjects (N=75 for any group). eLORETA freeware estimated functional lagged linear connectivity (LLC) from rsEEG cortical sources. Area under receiver operating characteristic (AUROC) curve indexed the accuracy in the classification of Nold and MCI individuals.

Posterior interhemispheric and widespread intrahemispheric alpha LLC solutions were abnormally lower in both MCI groups compared to the Nold group. At the individual level, AUROC curves of LLC solutions in posterior alpha sources exhibited moderate accuracies (0.70-0.72) in the discrimination of Nold vs. ADMCI-PDMCI individuals. No differences in the LLC solutions were found between the two MCI groups.

These findings unveil similar abnormalities in functional cortical connectivity estimated in widespread alpha sources in ADMCI and PDMCI. This was true at both group and individual levels.

The similar abnormality of alpha source connectivity in ADMCI and PDMCI subjects might reflect common cholinergic impairment.

Hampel H, Toschi N, Babiloni C, Baldacci F, Black KL, Bokde ALW, Bun RS, Cacciola F, Cavado E, Chiesa PA, Colliot O, Coman CM, Dubois B, Duggento A, Durrleman S, Ferretti MT, George N, Genthon R, Habert MO, Herholz K, Koronyo Y, Koronyo-Hamaoui M, Lamari F, Langevin T, Lehericy S, Lorenceau J, Neri C, Nisticò R, Nyasse-Messene F, Ritchie C, Rossi S, Santarnecchi E, Sporns O, Verdooner SR, Vergallo A, Villain N, Younesi E, Garaci F, Lista S; Alzheimer Precision Medicine Initiative (APMI).

Revolution of Alzheimer Precision Neurology. Passageway of Systems Biology and Neurophysiology.

J Alzheimers Dis. 2018;64(s1):S47-S105.

The Precision Neurology development process implements systems theory with system biology and neurophysiology in a parallel, bidirectional research path: a combined hypothesis-driven investigation of systems dysfunction within distinct molecular, cellular, and large-scale neural network systems in both animal models as well as through tests for the usefulness of these candidate dynamic systems biomarkers in different diseases and subgroups at different stages of pathophysiological progression. This translational research path is paralleled by an "omics"-based, hypothesis-free, exploratory research pathway, which will collect multimodal data from progressing asymptomatic, preclinical, and clinical neurodegenerative disease (ND) populations, within the wide continuous biological and clinical spectrum of ND, applying high-throughput and high-content technologies combined with powerful computational and statistical modeling tools, aimed at identifying novel dysfunctional systems and predictive marker signatures associated with ND. The goals are to identify common biological denominators or differentiating classifiers across the continuum of ND during detectable stages of pathophysiological progression, characterize systems-based intermediate endophenotypes, validate multi-modal novel diagnostic systems biomarkers, and advance clinical intervention trial designs by utilizing systems-based intermediate endophenotypes and candidate surrogate markers. Achieving these goals is key to the ultimate development of early and effective individualized treatment of ND, such as Alzheimer's disease. The Alzheimer Precision Medicine Initiative (APMI) and cohort program (APMI-CP), as well as the Paris based core of the Sorbonne University Clinical Research Group "Alzheimer Precision Medicine" (GRC-APM) were recently launched to facilitate the passageway from conventional clinical diagnostic and drug development toward breakthrough innovation based on the investigation of the comprehensive biological nature of aging individuals. The APMI movement is gaining momentum to systematically apply both systems neurophysiology and systems biology in exploratory translational neuroscience research on ND.

Neurobiol Aging. 2019 Jan 24;77:112-127. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2019.01.013. [Epub ahead of print]

Abnormalities of functional cortical source connectivity of resting-state electroencephalographic alpha rhythms are similar in patients with mild cognitive impairment due to Alzheimer's and Lewy body diseases.

Babiloni C, Del Percio C, Pascarelli MT, Lizio R, Noce G, Lopez S, Rizzo M, Ferri R, Soricelli A, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Salvetti M, Cipollini V, Franciotti R, Onofri M, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Aarsland D, Parnetti L, Farotti L, Marizzoni M, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Yener G, Emek-Savaş DD, Triggiani AI, Taylor JP, McKeith I, Stocchi F, Vacca L, Hampel H, Frisoni GB, De Pandis MF, Bonanni L.

Previous evidence has shown different resting-state eyes-closed electroencephalographic delta (<4 Hz) and alpha (8-10.5 Hz) source connectivity in subjects with dementia due to Alzheimer's (ADD) and Lewy body (DLB) diseases. The present study tested if the same differences may be observed in the prodromal stages of mild cognitive impairment (MCI). Here, clinical and resting-state eyes-closed electroencephalographic data in age-, gender-, and education-matched 30 ADMCI, 23 DLBMCI, and 30 healthy elderly (Nold) subjects were available in our international archive. Mini-Mental State Evaluation (MMSE) score was matched in the ADMCI and DLBMCI groups. The eLORETA freeware estimated delta and alpha source connectivity by the tool called lagged linear connectivity (LLC). Area under receiver operating characteristic curve (AUROC) indexed the classification accuracy among individuals. Results showed that widespread interhemispheric and intrahemispheric LLC solutions in alpha sources were abnormally lower in both MCI groups compared with

the Nold group, but with no differences were found between the 2 MCI groups. AUROCCs of LLC solutions in alpha sources exhibited significant accuracies (0.72-0.75) in the discrimination of Nold versus ADMCI-DLBMCI individuals, but not between the 2 MCI groups. These findings disclose similar abnormalities in ADMCI and DLBMCI patients as revealed by alpha source connectivity. It can be speculated that source connectivity mostly reflects common cholinergic impairment in prodromal state of both AD and DLB, before a substantial dopaminergic derangement in the dementia stage of DLB.

Chou KL, Stacy M, Simuni T, Miyasaki J, Oertel WH, Sethi K, Fernandez H, Stocchi F.
The spectrum of "off" in Parkinson's disease: What have we learned over 40 years?
Parkinsonism Relat Disord. 2018 Jun;51:9-16.

The terms "on" and "off" were used by Marsden and his contemporaries over 40 years ago to describe times when Parkinson's disease patients experienced good motor function ("on") and immobility ("off"). Yet there remains no published consensus definition of "off", leading clinicians and patients to develop individualized impressions of "off" determinations. In this paper, we first discuss the evolution of the terminology and understanding of "off" states since Marsden's time, which now include non-motor as well as motor symptoms. We then review pathophysiology and risk factors for the development of "off" states as well as tools to detect the "off" state, before proposing a practical definition of "off" for consideration. A common, practical definition of the "off" state could improve clinical recognition of "off" symptoms and lead to significant benefit for patients.

Galli M, Vicidomini C, Rozin Kleiner AF, Vacca L, Cimolin V, Condoluci C, Stocchi F, De Pandis MF.

Peripheral neurostimulation breaks the shuffling steps patterns in Parkinsonian gait: a double blind randomized longitudinal study with automated mechanical peripheral stimulation.
Eur J Phys Rehabil Med. 2018 Dec;54(6):860-865.

The shuffling steps pattern is a typical feature of gait in patients affected by Parkinson's disease (PD), which progressively reduces their quality of life, being related to the risk of falls in this population. Recently, Automated Mechanical Peripheral Stimulation (AMPS) was presented as an integrative rehabilitative treatment based on peripheral stimulation able to improve the gait spatiotemporal parameters in PD patients. The aim of this study was to evaluate the effects of AMPS on shuffling steps pattern by analyzing the kinematic and spatio-temporal gait parameters.

This is a double blind randomized longitudinal study. Setting: Outpatients. Population: PD patients.

In this double blind randomized longitudinal study, 14 patients with PD were treated with effective-AMPS (AMPS group), while 14 PD patients were treated with placebo-AMPS (SHAM group); 32 healthy subjects were deemed the control group (CG). A dedicated medical device (Gondola™ Medical Technologies, Stabio, Switzerland) was used to deliver both stimulations. Each treatment session lasted about 15 minutes, including preparation (approx. 10 to 13 minutes) and stimulation (approx. 2 minutes). All PD patients were given six AMPS/SHAM treatments sessions, twice a week, delivered during the off-levodopa phase, having withdrawn from dopaminergic medication overnight. We evaluated spatio-temporal and kinematic variables of gait with quantitative 3D-gait analysis as follows: before and after the first intervention (acute phase), then after the sixth session (long term phase).

We detected differences in all gait variables immediately after the first session of AMPS treatment and again after the sixth stimulation session.

AMPS treatment changes the shuffling steps pattern that is typical of PD subjects, increasing the ROM of hip, knee and ankle joints during the gait cycle.

This data presents further evidence that a rehabilitative approach based on the AMPS treatment can induce improvements in the gait pattern of patients affected by PD.

Pagnussat AS, Kleiner AFR, Rieder CRM, Frantz A, Ehlers J, Pinto C, Dorneles G, Netto CA, Peres A, Galli M.

Plantar stimulation in parkinsonians: From biomarkers to mobility - randomized-controlled trial.

Restor Neurol Neurosci. 2018;36(2):195-205.

The decrease of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) serum levels has been related to the pathophysiology of several neurodegenerative diseases as well as to neural plasticity and rehabilitation. Automated Mechanical Peripheral Stimulation (AMPS) has been investigated as a complementary therapy for Parkinson Disease (PD).

The aims of the study are: (1) to investigate the effects of AMPS on BDNF and Cortisol serum levels of subjects with PD; (2) to evidence the interplay between BDNF and Cortisol serum levels and the functional mobility improvement after AMPS treatment.

Thirty-three subjects with PD were randomized into two groups: effective stimulation (AMPS, n=16) or placebo stimulation (AMPS SHAM, n=17). Fourteen healthy aged-matched subjects were included as a reference group. Each AMPS group received eight sessions of treatment using a commercial medical device (Gondola™). BDNF and Cortisol serum levels, spatiotemporal gait parameters and TUG test were assessed at baseline and after eight sessions of treatment.

After the treatment, AMPS group showed significantly higher levels of BDNF and lower levels of Cortisol compared to AMPS SHAM. AMPS group also showed a positive effect on gait pattern as a higher improvement on gait velocity, stride length, and TUG performance was shown.

Effective AMPS treatment increased BDNF and decreased Cortisol serum levels and produced improvements in functional mobility.

Pinto C, Pagnussat AS, Rozin Kleiner AF, Marchese RR, Salazar AP, Rieder CRM, Galli M.

Automated Mechanical Peripheral Stimulation Improves Gait Parameters in Subjects With Parkinson Disease and Freezing of Gait: A Randomized Clinical Trial.

Am J Phys Med Rehabil. 2018 Jun;97(6):383-389.

This study aimed to assess spatiotemporal gait parameters and range of motion of lower limbs in subjects with Parkinson disease (PD) and freezing of gait, treated with automated mechanical peripheral stimulation (AMPS) or AMPS SHAM (placebo).

This randomized clinical trial included 30 subjects allocated into two groups: AMPS (15 subjects with PD) and AMPS SHAM (15 subjects with PD). Fourteen age-matched healthy subjects were also included as a reference group. Both PD groups received the treatment twice a week during 4 weeks. Automated mechanical peripheral stimulation was applied using a commercial medical device (Gondola) and consisted of mechanical pressure in four areas of feet. For AMPS SHAM group, a subliminal stimulus was delivered. Gait analysis were measured before, after the first, after the fourth, and after the eighth sessions.

We did not find significant differences between AMPS and AMPS SHAM groups either for spatiotemporal gait parameters or for range of motion of lower limbs. However, within-group analysis showed that AMPS group significantly improved spatiotemporal gait parameters and hip rotation range of motion throughout the treatment period. The AMPS SHAM group did not show any improvement.

Automated mechanical peripheral stimulation therapy induces improvements in spatiotemporal parameters and hip rotation range of motion of subjects with PD and freezing of gait.

Complete the self-assessment activity and evaluation online at <http://www.physiatry.org/JournalCME> CME

OBJECTIVES: Upon completion of this article, the reader should be able to: (1) Understand the impact of reduced plantar sensitivity on gait in individuals with Parkinson disease; (2) Identify the improvements on spatiotemporal gait parameters in subjects with Parkinson disease and freezing of gait after automated mechanical peripheral stimulation therapy; and (3) Recommend the use of new strategies of plantar stimulus for gait disorders of subjects with Parkinson disease.

de Melo GEL, Kleiner AFR, Lopes JBP, Dumont AJL, Lazzari RD, Galli M, Oliveira CS.

Effect of virtual reality training on walking distance and physical fitness in individuals with Parkinson's disease.

NeuroRehabilitation. 2018;42(4):473-480.

The aim of the study is to evaluate the effects of gait training with virtual reality (VR) on walking distance and physical fitness in individuals with Parkinson's Disease (PD).

Thirty-seven individuals with PD participated in this prospective, randomized, controlled clinical trial. They were randomly allocated to a control group submitted to conventional training (n=12), a treadmill group submitted to gait training on a treadmill (n=13) and a VR group submitted to gait training using the Xbox™

(n=12). Clinical measures, gait variables and the Six-Minute Walk Test (6MWT) were evaluated: pre-intervention, after one intervention session, post-intervention and follow up (30 days after intervention).

The VR and treadmill groups travelled longer distances on the 6MWT and had faster gait speed in comparison to the control group. The VR and treadmill groups demonstrated an increase in pre-6MWT HR. The VR group had more intense HR after the first session and throughout training, but these gains were not maintained at the follow-up.

The present findings demonstrate that gait training with a VR program is as effective as treadmill training with regard to gains in walking distance and improvements in temporal gait variables in individuals with PD.

Kleiner AFR, Pacifici I, Condoluci C, Sforza C, Galli M.

Slip avoidance strategies in children with bilateral spastic cerebral palsy and crouch gait.

Clin Biomech (Bristol, Avon).2018 Jun; 55:36-39.

A slip occurs when the required friction (RCOF) to prevent slipping at the foot/floor interfaces exceeds the available friction. The RCOF is dependent upon the biomechanics features of individuals and their gait. On the other hand, the available friction depends on environmental features. Once individuals with crouch gait have their biomechanics of gait completely altered, how do they interact with a supporting surface? The aim was to quantify the RCOF in children with bilateral spastic cerebral palsy (BSCP) and crouch gait.

11 children with crouch gait and 11 healthy age-matched children were instructed to walk barefoot at self-selected speed over a force platform. The RCOF curve was obtained as the ratio between the tangential forces (FT), and the vertical ground reaction force (FZ). Three points were extracted by the RCOF, FT and FZ curves at the loading response, midstance and push-off phases.

Children with BSCP presented higher values of RCOF in all support phase and lower gait velocity relative to the healthy controls. For BSCP group no correlation between FT and FZ were found, indicating that this group is not able to negotiate the forces during the support phase.

Children with BSCP and crouch gait are not able to negotiate the forces applied on the ground in support phase, so to avoid the fall, their strategy is to reduce the gait velocity.

Babiloni C, Del Percio C, Lizio R, Noce G, Lopez S, Soricelli A, Ferri R, Pascarelli MT, Catania V, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Aarsland D, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Onofri M, Stocchi F, Vacca L, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Garn H, Fraioli L, 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, Taylor JP, De Pandis MF, Bonanni L.

Abnormalities of Resting State Cortical EEG Rhythms in Subjects with Mild Cognitive Impairment Due to Alzheimer's and Lewy Body Diseases.

J Alzheimers Dis. 2018;62(1):247-268.

The present study tested the hypothesis that cortical sources of resting state eyes-closed electroencephalographic (rsEEG) rhythms reveal different abnormalities in cortical neural synchronization in groups of patients with mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease (ADMCI) and dementia with Lewy bodies (DLBMCI) as compared to cognitively normal elderly (Nold) subjects. Clinical and rsEEG data in 30 ADMCI, 23 DLBMCI, and 30 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) score was matched between the ADMCI and DLBMCI 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 (ROCC) classified these sources across individuals. Compared to Nold, IAF showed marked slowing in DLBMCI and moderate in ADMCI. Furthermore, the posterior alpha 2 and alpha 3 source activities were more abnormal in the ADMCI than the DLBMCI group, while widespread delta source activities were more abnormal in the DLBMCI than the ADMCI group. The posterior delta and alpha sources correlated with the MMSE score and correctly classified the Nold and MCI individuals (area under the ROCC >0.85). In conclusion, the ADMCI and DLBMCI 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 the clinical validity of these rsEEG markers.

Zago M, Sforza C, Bonardi DR, Guffanti EE, Galli M.

Gait analysis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review.

Gait Posture. 2018 Mar;61:408-415.

Gait instability is a major fall-risk factor in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Clinical gait analysis is a reliable tool to predict fall onsets. However, controversy still exists on gait impairments associated with COPD.

Thus, the aims of this review were to evaluate the current understanding of spatiotemporal, kinematic and kinetic gait features in patients with COPD.

In line with PRISMA guidelines, a systematic literature search was performed throughout Web of Science, PubMed Medline, Scopus, PEDro and Scielo databases. We considered observational cross-sectional studies evaluating gait features in patients with COPD as their primary outcome. Risk of bias and applicability of these papers were assessed according to the QUADAS-2 tool.

Seven articles, cross-sectional studies published from 2011 to 2017, met the inclusion criteria. Sample size of patients with COPD ranged 14-196 (mean age range: 64-75 years). The main reported gait abnormalities were reduced step length and cadence, and altered variability of spatiotemporal parameters. Only subtle biomechanical changes were reported at the ankle level.

A convincing mechanistic link between such gait impairments and falls in patients with COPD is still lacking. The paucity of studies, small sample sizes, gender and disease status pooling were the main risk of biases affecting the results uncertainty. Two research directions emerged: stricter cohorts characterization in terms of COPD phenotype and longitudinal studies. Quantitative assessment of gait would identify abnormalities and sensorimotor postural deficiencies that in turn may lead to better falling prevention strategies in COPD.

Warren Olanow C., Stocchi F, Poewe W, Ellenbogen A, Djaldetti R, Rachmilewitz Minei T, Cohen Y, Oren S, Kieburtz K.

Efficacy and safety of subcutaneous L-dopa/carbidopa (ND0612H) infusion in fluctuating PD patients (S26.003)

April 10, 2018; 90 (15 Supplement) APRIL 24, 2018

The aim of the study is to evaluate the efficacy and safety of two dosing regimens of continuous subcutaneous L-dopa/carbidopa (ND0612H).

ND0612 is a proprietary levodopa/carbidopa (LD/CD) liquid solution designed for continuous subcutaneous infusion.

This was a 28-day randomized, parallel-group, open-label, blinded-rater study. Subjects with fluctuating PD were randomized to either: Regimen-1 (24h infusion with 720/90mg LD/CD) or Regimen-2 (14h 'waking-day' infusion with 538/68mg LD/CD + morning oral LD/CD 150/15mg). Supplemental oral LD/CD was used as needed. Primary endpoint: Change from baseline to Day 28 in daily OFF-time (blinded rater standard 8h observation normalized to 16h day). Key Secondary endpoints included Change from baseline in percent of subjects with full-ON at 8 & 9 AM.

Of the 38 randomized subjects (mean age: 63.5y; disease duration: 11.5y; mean OFF-time 5.3h/day), 33 (87%) completed the study. Regimen-1 met the primary endpoint (mean reduction in OFF-time of 2.8h, $p=0.004$); 8 of 19 (42%) subjects had a complete reduction in OFF-time to 0 hours. The proportion of subjects with full-ON was significantly increased at 8AM ($p=0.02$) and 9AM ($p=0.007$). 'Good' ON-time also increased (mean 3.7h; $p<0.001$). In Regimen-2, mean reduction in OFF time was 1.3h (NS) and 'good' ON-time increased by 2.8h ($p=0.003$). Both regimens were well-tolerated; the most frequent AEs were mild-moderate infusion-site reactions: nodules (47%), bruising (18%) and erythema (18%).

Both regimens were well-tolerated. The 24h infusion significantly reduced daily OFF-time while increasing morning ON-time and total daily good ON-time. R2 did not provide optimal dosing for ND0612 but still showed a significant improvement in good ON-time. A longer daytime regimen of 16h (LD/CD 720/90 mg) starting immediately upon waking up is under evaluation. These findings suggest that ND0612 SC infusion can provide important benefits for advanced PD patients without the risks associated with a surgical procedure.

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

Timed Up and Go evaluation with wearable devices: Validation in Parkinson's disease.

J Bodyw Mov Ther. 2018 Apr;22(2):390-395.

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.

Delasta Lazzaria R, RozinKleinerbc AF, PalmaLopes JB, LopesDumonta AJ, BraunFerreira LA, Galli M, SantosOliveira C, MalosaSampaio LM.

P 081 - Required friction curve patterns in a child with unilateral spastic cerebral palsy and true equinus gait

Gait & Posture, Volume 65, Supplement 1, September 2018, 363-364.

The aim of this study was to describe the required coefficient of friction (RCOF) curve pattern of a child with unilateral spastic cerebral palsy (USPC). A child with USCP and true equinus and a healthy age-matched child participated in this study. They walked barefoot at a self-selected pace along a carpeted path and over two force platforms. RCOF was obtained as the ratio between the tangential forces (FT), and the vertical ground reaction force, (FZ). The RCOF curve present different patters when the USCP child was compared with the control, mainly for the affected side where it was observed lower RCOF peaks and valley as respected the nonaffected side and control values.

Cau N, Galli M, Cimolin V, Grossi A, Battarin I, Puleo G, Balzarini A, Caraceni A.

Quantitative comparison between the laser scanner three-dimensional method and the circumferential method for evaluation of arm volume in patients with lymphedema.

J Vasc Surg Venous Lymphat Disord. 2018 Jan;6(1):96-103.

Several methods are used to evaluate arm volumes. The most commonly used methods are water displacement and the circumferential method (CM), but these techniques have some limitation in application in clinical settings and accuracy. Recently, the laser scanner three-dimensional (LS3D) method was successfully proposed as a valid method for volume measurements of the upper limb in healthy individuals. The aim of the study was to compare, in terms of intraobserver and interobserver reliability, the CM and LS3D method to measure the upper limb in a group of women with upper limb lymphedema.

There were 200 women with upper limb lymphedema (mean age, 64 ± 9 years; body mass index, 24.72 ± 2.94 kg/m²) involved in this study. Arm measurements were obtained with both the CM and LS3D method. Statistical analysis was conducted to compare the CM and LS3D method.

Both the CM and LS3D method have a satisfactory level of agreement, but we found some statistically significant differences in terms of some measurements (both circumferential and volume measurements).

The data obtained in this study indicate that the LS3D method could represent a reliable, valid method to measure arm circumferences and volumes in arms with lymphedema, suitable for daily clinical use. It combines precision, reproducibility, and ease of use with the possibility of measuring geometric parameters and shape information of scanned limbs.

de Almeida Carvalho Duarte N, Collange Grecco LA, Delasta Lazzari R, Pasini Neto H, Galli M, Santos Oliveira C.

Effect of Transcranial Direct Current Stimulation of Motor Cortex in Cerebral Palsy: A Study Protocol.

Pediatr Phys Ther. 2018 Jan;30(1):67-71.

The aim of the study is to assess the best electrode position of transcranial direct current stimulation combined with treadmill training in children with unilateral spastic cerebral palsy.

Thirty children with cerebral palsy were randomly allocated to 3 groups: (1) treadmill training combined with anodal electrode positioned over the primary motor cortex in the region of the dominant hemisphere and the cathode positioned in the supraorbital region contralateral to anode; (2) sham anodal transcranial direct current stimulation over the primary motor cortex and sham cathode over the contralateral supraorbital region combined with treadmill training; (3) treadmill training combined with the anodal electrode positioned over the primary motor cortex in the region of the injured hemisphere and the cathode positioned contralateral to anode over the primary motor cortex. Evaluations of gait, balance, quality of life, and electromyographic activity were performed.

This is the protocol for an intervention study investigating electrode position to achieve improved function.

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. 2018 Jan;40(2):144-151.

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.

Zago M, Sforza C, Pacifici I, Cimolin V, Camerota F, Celletti C, Condoluci C, De Pandis MF, Galli M.

Gait evaluation using inertial measurement units in subjects with Parkinson's disease.

J Electromyogr Kinesiol. 2018 Oct;42:44-48.

We investigated whether a wearable system based on a commercial Inertial Measurement Unit (IMU) can reliably provide the main spatiotemporal gait parameters in subjects with Parkinson's disease (PD), compared to a gold-standard optoelectronic motion capture system. The gait of 22 subjects with PD (Age: 69.4 (6.1) years; UPDRS-III: 28.0 (9.2)) was recorded simultaneously with an optoelectronic system and a commercial IMU-based wearable system. Eight spatiotemporal parameters describing the step cycle (cadence, velocity, stride length, stride duration, step length, stance, swing and double support duration) were compared between the two systems. The IMU and the optical system reported comparable gait parameters, with the exception of walking velocity (optical system, 0.72 (0.27) m·s⁻¹ vs. IMU: 0.86 (0.26) m·s⁻¹, p<0.05). Although most parameters detected by the two systems were not statistically different, some of them like stride length, double support and step duration showed notable root mean square and mean absolute errors. In conclusion, the algorithm embedded in the current release of the commercial IMU requires further improvements to be

properly used with subjects with PD. Overall, the IMU system was sufficiently accurate in the assessment of fundamental gait spatiotemporal parameters. The fast and simplified data recording process allowed by wearables makes this technology appealing and represents a possible solution for the quantification of gait in the clinical context, especially when using a traditional 3D optoelectronic gait analysis is not possible, and when subjects are not fully cooperative.

J Brooks D, Calabresi P, Fox S, Müller T, Poewe W, Rascol O, Stocchi F.

Expert Perspectives – Parkinson's Disease Pathophysiology and Management

European Neurological Review. 2018;13(Suppl. 2):3–13.

The Fourth Edition of the PD Academy, sponsored by Zambon, was held in Barcelona on 1–2 February 2018. During the pan-European event, world-renowned experts in Parkinson's disease (PD) presented the latest findings in the pathophysiology and management of the disease. Delegates attended a series of lectures by specialists that largely focused on non-dopaminergic dysfunction in PD. These were explored in terms of pathophysiology and imaging, as well as in-depth discussion of the clinical consequences in terms of nondopaminergic dysfunction on the serotonin, acetylcholine, adenosine and glutamate systems. The effects of non-dopaminergic dysfunction on PD symptoms is now known to play a role in motor and non-motor functions (pain and mood) as well as in motor fluctuations and dyskinesia. The experts also showed the latest findings in these areas. Of interest, safinamide is a relatively new player in the PD spectrum of therapeutics, but it now appears consolidated that it affects multiple systems and as a consequence, has an array of activities that are not associated with other drugs used to treat non-dopaminergic dysfunction in patients with PD. Indeed, safinamide was held to be a highly promising adjunct therapy to treat a variety of motor and non-motor symptoms in PD, potentially improving efficacy and removing the need for further increases in levodopa dose. Safinamide, one name, two actions, four benefits. The experts considered the meeting to be a success and discussed possible topics and new avenues to explore for the future.

Babiloni C, Del Percio C, Lizio R, Noce G, Lopez S, Soricelli A, Ferri R, Pascarelli MT, Catania V, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Bonanni L, Franciotti R, Onofri M, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Fraioli L, Parnetti L, Farotti L, Pievani M, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Yener G, Emek-Savaş DD, Triggiani AI, Taylor JP, McKeith I, Stocchi F, Vacca L, Frisoni GB, De Pandis MF.

Levodopa may affect cortical excitability in Parkinson's disease patients with cognitive deficits as revealed by reduced activity of cortical sources of resting state electroencephalographic rhythms.

Neurobiol Aging. Epub 2018 Aug 30.

We hypothesized that dopamine neuromodulation might affect cortical excitability in Parkinson's disease (PD) patients set in quiet wakefulness, as revealed by resting state eyes-closed electroencephalographic (rsEEG) rhythms at alpha frequencies (8-12 Hz). Clinical and rsEEG rhythms in PD with dementia (N = 35), PD with mild cognitive impairment (N = 50), PD with normal cognition (N = 35), and normal (N = 50) older adults were available from an international archive. Cortical rsEEG sources were estimated by exact low-resolution brain electromagnetic tomography. Compared with the normal older group, the PD groups showed reduced occipital alpha sources and increased widespread delta (<4 Hz) sources. Widespread frontal and temporal alpha sources exhibited an increase in PD with dementia compared with PD with mild cognitive impairment and PD with normal cognition groups, as function of dopamine depletion severity, typically greater in the former than the latter groups. A daily dose of levodopa induced a widespread reduction in cortical delta and alpha sources in a subgroup of 13 PD patients under standard chronic dopaminergic regimen. In PD patients in quiet wakefulness, alpha cortical source activations may reflect an excitatory effect of dopamine neuromodulation.

Ferreira LAB, Cimolin V, Neto HP, Grecco LAC, Lazzari RD, Dumont AJ, Galli M, Oliveira CS.

Effect of postural insoles on gait pattern in individuals with hemiparesis: A randomized controlled clinical trial.

J Bodyw Mov Ther. 2018 Jul;22(3): 792-797.

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.

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 Bodyw Mov Ther. 2018 Jul;22(3):747-751.

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.

Area di Ricerca Parkinson e Disturbi del Movimento

Torti M, Vacca L, Stocchi F.

Istradefylline for the treatment of Parkinson's disease: is it a promising strategy?

Expert Opin Pharmacother. 2018 Nov;19(16):1821-1828.

Istradefylline (ISD) is a new drug developed for the treatment of Parkinson's disease (PD). It is an adenosine receptor A2A antagonists that will represent an important option for patients with advanced PD where it has been demonstrated efficacy in decreasing daily OFF time and is well tolerated. ISD has been marketed in Japan since May 2013. Areas covered: The objective of this review is to summarize evidences emerged from clinical studies that have demonstrated the efficacy of ISD in advanced parkinsonian patients. It will then focus on the potential role in treating non-motor symptoms (NMS) and cognitive decline, which heavily affect quality of life for PD patients. Its putative role as neuroprotective agent will also be discussed. Expert opinion: ISD might represent an alternative option for patients with advanced PD. The reduction of OFF time highlighted in pivotal trials is comparable to that obtained with different levodopa adjunct therapies. The low profile of side effects makes ISD a more suitable drug for advanced patients whose illness is complicated by

depression or cognitive impairment. Future studies are warranted to investigate the possible effects of this drug to delay the occurrence of dyskinesia and to impact significantly on NMS.

Olivola E, Brusa L, Rocchi C, Schillaci O, Liguori C, Cerroni R, Pierantozzi M, Chiaravalloti A, Stefani A, Stocchi F.

Does fatigue in Parkinson's disease correlate with autonomic nervous system dysfunction?

Neurol Sci. 2018 Dec;39(12):2169-2174..

Despite its negative impact on quality of life, fatigue in Parkinson's disease (PD) remains an under-recognized issue and the underlying pathology is undetermined.

The aim of the study is to contribute at understanding the pathogenesis of fatigue in a naturalistic cohort of cognitively intact PD patients.

In a Caucasian population of PD patients (n = 27), we evaluated to what extent fatigue (quantified as PFS-16 score) is associated with PD duration and with autonomic dysfunction, studied by both MIBG scintigraphy and autonomic nervous system testing. The latter included the head-up tilt test, Valsalva maneuver, deep breathing, and handgrip tests.

PFS-16 score correlated with disease duration (R = 0.57, p = 0.002). Fatigue showed a clear correlation with deep breathing test (R = - 0.53, p = 0.004) but not with the MIBG H/M ratios.

Our data are consistent with a multifactorial pathogenesis of fatigue and with effects of dopamine depletion in PD-related fatigue; on the other hand, our findings do not support a role for sympathetic denervation in PD-related fatigue.

Fabrizio M, Ferreira JJ, Lees A, Stocchi F, Poewe W, Tolosa E, Rascol O.

Opicapone for the treatment of Parkinson's disease: A review of a new licensed medicine.

Mov Disord. 2018 Oct;33(10):1528-1539.

Catechol-O-methyl transferase inhibitors are currently used as first-line add-on therapy to levodopa for the treatment of end-of-dose motor fluctuations in Parkinson's disease patients, as they increase levodopa bioavailability. Several factors hamper the use of current available catechol-O-methyl transferase inhibitors, that is, the moderate efficacy and multiple dosing for entacapone and the risk of liver toxicity with tolcapone. Opicapone, a new long-acting, peripherally selective, once-daily catechol-O-methyl transferase inhibitor, was recently licensed in Europe. Two phase 3 double-blind clinical trials demonstrated opicapone efficacy in reducing OFF time by an average of about 60 minutes daily compared with placebo, without increasing ON time with troublesome dyskinesias. These effects were also maintained during a subsequent open-label extension consisting of 1-year follow-up. Opicapone showed a good safety profile. From June 2016, Opicapone received the approval for marketing authorization from the European Commission as adjunctive therapy to levodopa/DOPA decarboxylase inhibitors in patients with PD and end-of-dose motor fluctuations. We aimed to review the clinical pharmacological data of opicapone, summarize its clinical efficacy and safety issues, and discuss its potential role in the management of Parkinson's disease.

Eur J Phys Rehabil Med. 2018 Oct 10. [Epub ahead of print]

Comparison of three scales to evaluate personality traits in Parkinson's disease: which one to use?

Gison A, Bonassi S, Rizza F, Giaquinto S.

Personality traits have gained interest in the field of disability and stress, because they may either prompt or deny compliance. They can also foster motivation and influence outcome. Parkinson disease (PD) is a disabling and stressful condition that requires coping strategies and rehabilitation plans. Three constructs and their relative scales have been a matter of investigation, namely Dispositional Optimism (DO), Locus-of-Control (LOC), and Sense-of-Coherence (SOC).

The present study compared the psychometric properties of three constructs in Parkinson's Disease (PD). The health-related variables were: Emotional Distress (ED), Quality of Life (HR-QoL) and Activities of Daily Living (ADL). The final objective was to provide guidance on scale selection to be implemented in clinical protocols.

This is a cross sectional study.

Participants: with PD (n = 84) from community-based general physicians.

PD patients completed 3 self-report scales, namely Life Orientation Test -Revised (LOT-R, measuring Dispositional Optimism), Internal and External Locus Of Control (LOC-int. LOC-ext) and Sense of Coherence (SOC). All participants had Magnetic Resonance Imaging. The MDS-UPDRS and the Barthel scale were compiled by the investigator with the assistance of a caregiver.

LOC-ext was the only scale to be associated with PD severity and disability ($P < 0.05$). A higher level of LOC-ext was also associated with a higher level of ED ($p < 0.005$). LOT-R was inversely associated with ED. Subjects in the highest tertile had a 41% lower ED ($p < 0.001$). SOC was also inversely associated with degree of ED. Subjects in the highest tertile have a 44% lower ED ($P < 0.01$). Moreover, HR-QoL is associated with several parameters, but LOT-R is the one with the strongest association ($P < 0.001$).

DO and SOC are predictive of important end-points, namely HR-QoL and ED. DO is even better under this respect. Conversely, those clinicians who are more interested in motor problems may find LOC more suitable. DO may be the most efficient construct to use in PD because of its favorable psychometric properties.

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. 2018 Sep;30(9):1137-1142.

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.

Stocchi F, Vacca L, Stirpe P, Torti M.

Pharmacokinetic drug evaluation of CVT-301 for the treatment of Parkinson's disease.

Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2018 Dec;14(12):1189-1195.

Levodopa (LD), in combination with a decarboxylase inhibitor, is a mainstay and the most effective therapeutic agent in the treatment of Parkinson's disease (PD). Unfortunately, during chronic treatment with this agent, ON-OFF phenomena and dyskinesia appear. Despite the many medical treatment options available, unpredictable OFF episodes can still occur and be severe and disabling. A rescue therapy that provides a rapid and predictable ON response for patients with OFF periods would be of great value for such patients. Areas covered: CVT-301 is a self-administered dry powder aerosol inhaled formulation of LD that is being developed as a self-administered treatment for OFF periods. The PK profile of CVT-301, the efficacy, and the safety highlighted in randomized clinical trials will be reviewed. Expert opinion: CVT-301 may offer several potential advantages including increased systemic bioavailability through pulmonary absorption, rapid onset of action, avoidance of first-pass drug metabolism and less plasma-level variability. List of Abbreviations: PD: Parkinson's disease; LD: Levodopa; CD: Carbidopa; AADC: aromatic L-amino acid decarboxylase; IR: immediate-release; FPD: fine particle dose; GI: gastrointestinal; PK: pharmacokinetic; CVs: coefficient of variation; UPDRS: Unified Parkinson's Disease Rating Scale; AEs: adverse events; FEV: forced expiratory volume; FVC: forced vital capacity; DLCO: diffuse lung CO ; tmax: time to maximum concentration.

Stocchi F, Coletti C, Bonassi S, Radicati FG, Vacca L.

Early-morning OFF and levodopa dose failures in patients with Parkinson's disease attending a routine clinical appointment using Time-to-ON Questionnaire.

Eur J Neurol. 2018 Dec 26. [Epub ahead of print]

In patients with Parkinson's disease (PD) with motor fluctuations, total daily OFF time is comprised of both end-of-dose time and the time taken to turn ON with medication. However, little is known about the impact of delays in ON time.

This was a single-visit pilot study of fluctuating patients with PD attending a routine appointment. During a single visit, adult patients with idiopathic PD who were treated with levodopa for at least 1 year completed a questionnaire evaluating the time waiting for ON and the symptoms experienced while waiting to turn ON. Patients then completed a 5-day home time-to-ON diary, where they documented how long it took to turn ON following their first morning dose of levodopa in 5-min increments.

A total of 151 consecutive patients completed the study survey, of whom 97 (64.2%) experienced motor fluctuations. Of the patients experiencing motor fluctuations, 54 (56%) reported delays in ON time (latency >30 min) following their first morning dose of levodopa. Half (51%) reported that they had experienced delayed ON at least once in the previous week and 21% reported having delayed ON during all seven mornings of the previous week. In addition, 10% of patients reported having dose failures on four or more mornings during the previous week. The most common symptoms experienced while waiting for ON were slowness (94.8%), fatigue (87.6%), reduced dexterity (82.5%), problems in walking (66.0%) and problems with balance (59.8%).

Early-morning OFF problems such as delays in time to ON and dose failures are common in levodopa-treated patients with PD.

Babiloni C, Del Percio C, Pascarelli MT, Lizio R, Noce G, Lopez S, Rizzo M, Ferri R, Soricelli A, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Salvetti M, Cipollini V, Franciotti R, Onofri M, Stirpe P, Fuhr P, Gschwandtner U, Ransmayr G, Aarsland D, Parnetti L, Farotti L, Marizzoni M, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Yener G, Emek-Savaş DD, Triggiani AI, Taylor JP, McKeith I, Stocchi F, Vacca L, Hampel H, Frisoni GB, De Pandis MF, Bonanni L.

Abnormalities of functional cortical source connectivity of resting-state electroencephalographic alpha rhythms are similar in patients with mild cognitive impairment due to Alzheimer's and Lewy body diseases.

Neurobiol Aging. 2019 Jan 24;77: 112-127.

Previous evidence has shown different resting-state eyes-closed electroencephalographic delta (<4 Hz) and alpha (8-10.5 Hz) source connectivity in subjects with dementia due to Alzheimer's (ADD) and Lewy body (DLB) diseases. The present study tested if the same differences may be observed in the prodromal stages of mild cognitive impairment (MCI). Here, clinical and resting-state eyes-closed electroencephalographic data in age-, gender-, and education-matched 30 ADMCI, 23 DLBMCI, and 30 healthy elderly (Nold) subjects were available in our international archive. Mini-Mental State Evaluation (MMSE) score was matched in the ADMCI and DLBMCI groups. The eLORETA freeware estimated delta and alpha source connectivity by the tool called lagged linear connectivity (LLC). Area under receiver operating characteristic curve (AUROCC) indexed the classification accuracy among individuals. Results showed that widespread interhemispheric and intrahemispheric LLC solutions in alpha sources were abnormally lower in both MCI groups compared with the Nold group, but with no differences were found between the 2 MCI groups. AUROCCs of LLC solutions in alpha sources exhibited significant accuracies (0.72-0.75) in the discrimination of Nold versus ADMCI-DLBMCI individuals, but not between the 2 MCI groups. These findings disclose similar abnormalities in ADMCI and DLBMCI patients as revealed by alpha source connectivity. It can be speculated that source connectivity mostly reflects common cholinergic impairment in prodromal state of both AD and DLB, before a substantial dopaminergic derangement in the dementia stage of DLB.

Tassorelli C, Grazi L, De Tommaso M, Pierangeli G, Martelletti P, Rainero I, Geppetti P, Ambrosini A, Sarchielli P, Liebler E, Barbanti P.

Randomized Controlled Study of Non-invasive Vagus Nerve Stimulation (nVNS) for the Acute Treatment of Migraine: The PRESTO Trial (S43.005)

Neurology, April 10, 2018; 90 (15 Supplement) APRIL 26, 2018

The aim of the study is to evaluate non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS; gammaCore®) for the acute treatment of migraine in a multicenter, double-blind, randomized, sham-controlled trial.

nVNS is easy to use, flexible, and well tolerated, making it an attractive option for patients. Its safety, tolerability, and preliminary efficacy have been suggested in pilot studies of migraine.

Patients with episodic migraine with or without aura (N=248) were recruited from 10 Italian tertiary headache centers. Entry criteria and efficacy measures were consistent with existing guidelines and previous nVNS studies. For up to 5 migraine attacks, patients self-administered two 120-second stimulations bilaterally to the neck within 20 minutes of migraine pain onset. If pain did not improve at 15 minutes post treatment, patients were instructed to repeat both stimulations; a third set of optional stimulations was administered by those who were not pain-free at 120 minutes. Rescue medication use before 120 minutes was considered a treatment failure.

Acute nVNS treatment (n=120) led to significantly higher pain-free rates than sham (n=123) for the first treated migraine attack at 30 minutes (12.7% vs 4.2%; P=0.012) and 60 minutes (21.0% vs 10.0%; P=0.023) but not at 120 minutes (30.4% vs 19.7%; P=0.067; primary end point; sensitivity analysis). A post hoc repeated-measures test performed to address the time-dependent findings confirmed that nVNS was superior to sham through 120 minutes (odds ratio: 2.3; 95% CI: 1.2, 4.4; P=0.012). Results also favored nVNS for the rate of mild/no pain at 120 minutes (40.8% vs 27.6%; P=0.030) and 50% responder rates for no pain (32.4% vs 18.2%; P=0.020) and mild/no pain (47.6% vs 32.3%; P=0.026). Adverse effects of nVNS were infrequent and mostly mild and transient.

This randomized sham-controlled trial supports the use of nVNS as a rapidly effective, well-tolerated, and practical option for the acute treatment of episodic migraine.

Covelli V, Guastafierro E, Raggi A, Grazzi L, Leonardi M, Scaratti C, Bartolini M, Viticchi G, Cevoli S, Pierangeli G, Tedeschi G, Russo A, Barbanti P, Aurilia C, Lovati C, Giani L, Frediani F, Di Fiore P, Bono F, Rapisarda L, D'Amico D.

The evaluation of difficulties with work-related activities caused by migraine: towards a specific questionnaire.

Neurol Sci. 2018 Jun;39(Suppl 1):131-133.

Tassorelli C, Grazzi L, de Tommaso M, Pierangeli G, Martelletti P, Rainero I, Dorlas S, Geppetti P, Ambrosini A, Sarchielli P, Liebler E, Barbanti P; PRESTO Study Group.

Noninvasive vagus nerve stimulation as acute therapy for migraine: The randomized PRESTO study.

Neurology. 2018 Jul 24;91(4):e364-e373. doi: 10.1212/WNL.0000000000005857. Epub 2018 Jun 15.

The aim of the study is to evaluate the efficacy, safety, and tolerability of noninvasive vagus nerve stimulation (nVNS; gammaCore; electroCore, LLC, Basking Ridge, NJ) for the acute treatment of migraine in a multicenter, double-blind, randomized, sham-controlled trial.

A total of 248 participants with episodic migraine with/without aura were randomized to receive nVNS or sham within 20 minutes from pain onset. Participants were to repeat treatment if pain had not improved in 15 minutes.

nVNS (n = 120) was superior to sham (n = 123) for pain freedom at 30 minutes (12.7% vs 4.2%; p = 0.012) and 60 minutes (21.0% vs 10.0%; p = 0.023) but not at 120 minutes (30.4% vs 19.7%; p = 0.067; primary endpoint; logistic regression) after the first treated attack. A post hoc repeated-measures test provided further insight into the therapeutic benefit of nVNS through 30, 60, and 120 minutes (odds ratio 2.3; 95% confidence interval 1.2, 4.4; p = 0.012). nVNS demonstrated benefits across other endpoints including pain relief at 120 minutes and was safe and well-tolerated.

This randomized sham-controlled trial supports the abortive efficacy of nVNS as early as 30 minutes and up to 60 minutes after an attack. Findings also suggest effective pain relief, tolerability, and practicality of nVNS for the acute treatment of episodic migraine.

J Headache Pain. 2018 Sep 10;19(1):85. doi: 10.1186/s10194-018-0914-7.

Validation of a self-reported instrument to assess work-related difficulties in patients with migraine: the HEADWORK questionnaire.

Raggi A, Covelli V, Guastafierro E, Leonardi M, Scaratti C, Grazzi L, Bartolini M, Viticchi G, Cevoli S, Pierangeli G, Tedeschi G, Russo A, Barbanti P, Aurilia C, Lovati C, Giani L, Frediani F, Di Fiore P, Bono F, Rapisarda L, D'Amico D.

The degree to which work-related difficulties are recognized in headache research is poor and often carried out with inadequate information such as "reduced ability to work as usual", which do not capture at all the variety of difficulties and the factors that impact over them. The aim of this paper is to present the validation of the HEADWORK questionnaire, which addresses the amount and severity of difficulties in work-related tasks and the factors that impact over them.

We developed a set of items based on a previous literature review and patients' focus groups and tested it on a wide set of patients with episodic and chronic migraine attending eight different Italian headache centers. HEADWORK factor structure was assessed with exploratory and confirmatory factor analysis; internal consistency and construct validity were addressed as well.

The validation sample (N=373) was mostly composed of patients with episodic migraine without aura (64.3%) and of females (81%). Factor analysis retrieved two different scales: "Work-related difficulties", composed of eleven items which explain 67.1% of the total variance, and "Factors contributing to work difficulties", composed of six items which explain 52.1% of the total variance. Both HEADWORK subscales have good measurement properties, with higher scores being associated to higher disability, lower quality of life, lower productivity, higher headache frequency and pain intensity.

HEADWORK is a 17-item, two-scale questionnaire addressing the impact of migraine on work-related difficulties in terms of difficulties in general or specific skills, and the factors contributing to these difficulties, defined as negative impact on work tasks. It can be used to address disability weights for the purpose of calculating the burden of migraine, and to assess the balance between therapeutic and side effects of medication on productivity.

J Headache Pain. 2018 Oct 19;19(1):98.

Practical and clinical utility of non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS) for the acute treatment of migraine: a post hoc analysis of the randomized, sham-controlled, double-blind PRESTO trial.

Grazzi L, Tassorelli C, de Tommaso M, Pierangeli G, Martelletti P, Rainero I, Geppetti P, Ambrosini A, Sarchielli P, Liebler E, Barbanti P; PRESTO Study Group.

The PRESTO study of non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS; gammaCore®) featured key primary and secondary end points recommended by the International Headache Society to provide Class I evidence that for patients with an episodic migraine, nVNS significantly increases the probability of having mild pain or being pain-free 2 h post stimulation. Here, we examined additional data from PRESTO to provide further insights into the practical utility of nVNS by evaluating its ability to consistently deliver clinically meaningful improvements in pain intensity while reducing the need for rescue medication.

Patients recorded pain intensity for treated migraine attacks on a 4-point scale. Data were examined to compare nVNS and sham with regard to the percentage of patients who benefited by at least 1 point in pain intensity. We also assessed the percentage of attacks that required rescue medication and pain-free rates stratified by pain intensity at treatment initiation.

A significantly higher percentage of patients who used acute nVNS treatment (n=120) vs sham (n=123) reported a ≥ 1 -point decrease in pain intensity at 30 min (nVNS, 32.2%; sham, 18.5%; $P=0.020$), 60 min (nVNS, 38.8%; sham, 24.0%; $P=0.017$), and 120 min (nVNS, 46.8%; sham, 26.2%; $P=0.002$) after the first attack. Similar significant results were seen when assessing the benefit in all attacks. The proportion of patients who did not require rescue medication was significantly higher with nVNS than with sham for the first attack (nVNS, 59.3%; sham, 41.9%; $P=0.013$) and all attacks (nVNS, 52.3%; sham, 37.3%; $P=0.008$). When initial pain intensity was mild, the percentage of patients with no pain after treatment was significantly higher with nVNS than with sham at 60 min (all attacks: nVNS, 37.0%; sham, 21.2%; $P=0.025$) and 120 min (first attack: nVNS, 50.0%; sham, 25.0%; $P=0.018$; all attacks: nVNS, 46.7%; sham, 30.1%; $P=0.037$).

This post hoc analysis demonstrated that acute nVNS treatment quickly and consistently reduced pain intensity while decreasing rescue medication use. These clinical benefits provide guidance in the optimal use of nVNS in everyday practice, which can potentially reduce use of acute pharmacologic medications and their associated adverse events.

Martelletti P, Barbanti P, Grazzi L, Pierangeli G, Rainero I, Geppetti P, Ambrosini A, Sarchielli P, Tassorelli C, Liebler E, de Tommaso M; PRESTO Study Group.

Consistent effects of non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS) for the acute treatment of migraine: additional findings from the randomized, sham-controlled, double-blind PRESTO trial.

J Headache Pain. 2018 Nov 1;19(1):101.

Non-invasive vagus nerve stimulation (nVNS) has been shown to be practical, safe, and well tolerated for treating primary headache disorders. The recent multicenter, randomized, double-blind, sham-controlled PRESTO trial provided Class I evidence that for patients with episodic migraine, nVNS significantly increases the probability of having mild pain or being pain-free 2 h post stimulation. We report additional pre-defined secondary and other end points from PRESTO that demonstrate the consistency and durability of nVNS efficacy across a broad range of outcomes.

After a 4-week observation period, 248 patients with episodic migraine with/without aura were randomly assigned to acute treatment of migraine attacks with nVNS (n = 122) or a sham device (n = 126) during a double-blind period lasting 4 weeks (or until the patient had treated 5 attacks). All patients received nVNS therapy during the subsequent 4-week/5-attack open-label period.

The intent-to-treat population consisted of 243 patients. The nVNS group (n = 120) had a significantly greater percentage of attacks treated during the double-blind period that were pain-free at 60 (P = 0.005) and 120 min (P = 0.026) than the sham group (n = 123) did. Similar results were seen for attacks with pain relief at 60 (P = 0.025) and 120 min (P = 0.018). For the first attack and all attacks, the nVNS group had significantly greater decreases (vs sham) in pain score from baseline to 60 min (P = 0.029); the decrease was also significantly greater for nVNS at 120 min for the first attack (P = 0.011). Results during the open-label period were consistent with those of the nVNS group during the double-blind period. The incidence of adverse events (AEs) and adverse device effects was low across all study periods, and no serious AEs occurred.

These results further demonstrate that nVNS is an effective and reliable acute treatment for multiple migraine attacks, which can be used safely while preserving the patient's option to use traditional acute medications as rescue therapy, possibly decreasing the risk of medication overuse. Together with its practicality and optimal tolerability profile, these findings suggest nVNS has value as a front-line option for acute treatment of migraine.

Barbanti P, Grazzi L, Egeo G.

Pharmacotherapy for acute migraines in children and adolescents.

Expert Opin Pharmacother. Epub 2018 Dec 7.

Migraine is increasingly recognized as an extremely burdensome and disabling disorder in both children and adolescents. A proper treatment plan is needed to improve the quality of life of both children and families as well as to minimize the risk of disease progression. Areas covered: This review focuses on the current pharmacotherapy for acute migraine in pediatric populations, taking into account specific considerations for those drugs tested in randomized, placebo-controlled trials (RCTs). Expert opinion: A large number of RCTs have documented the efficacy, tolerability, and safety of different compounds. Triptans appears more effective than placebo but results are variable and inconsistent. Almotriptan and rizatriptan are effective as oral formulations, as well as sumatriptan and zolmitriptan as both oral and nasal spray formulations. Adding non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) reinforces triptan's effectiveness. Furthermore, small RCTs have documented both the efficacy of ibuprofen and the ineffectiveness of acetaminophen. Naproxen, ketoprofen, diclofenac, and indomethacin - NSAIDs effective in acute migraines in adults - should be tested also in pediatric subjects. Furthermore, the authors suggest that dopamine receptor antagonists should be considered in cases of severe migraines. Lastly, better designed RCTs are needed to fine-tune current therapeutic resources.

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. 2018 Jan;41(1):3-19.

Infante M, Sears B, Rizzo AM, Mariani Cerati D, Caprio M, Ricordi C, Fabbri A.

Omega-3 PUFAs and vitamin D co-supplementation as a safe-effective therapeutic approach for core symptoms of autism spectrum disorder: case report and literature review.

Nutr Neurosci. 2018 Dec 13:1-12.[Epub ahead of print]

Autism spectrum disorder (ASD) is a group of neurodevelopmental disorders characterized by abnormal development of cognitive, social, and communicative skills. Although ASD aetiology and pathophysiology are still unclear, various nutritional factors have been investigated as potential risk factors for ASD development, including omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and vitamin D deficiency. In fact, both omega-3 PUFAs and vitamin D are important for brain development and function.

Herein, we report the case of a 23-year-old young adult male with autism who was referred to our Unit due to a 12-month history of cyclic episodes of restlessness, agitation, irritability, oppositional and self-injurious behaviours. Laboratory tests documented a markedly altered omega-6/omega-3 balance, along with a vitamin D deficiency, as assessed by serum levels of 25-hydroxyvitamin D. Omega-3 and vitamin D co-supplementation was therefore started, with remarkable improvements in ASD symptoms throughout a 24-month follow-up period. A brief review of the literature for interventional studies evaluating the efficacy of omega-3 or vitamin D supplementation for the treatment of ASD-related symptoms is also provided.

To our knowledge, this is the first case reporting remarkable beneficial effects on ASD symptoms deriving from omega-3 and vitamin D combination therapy. This case report suggests omega-3 and vitamin D co-supplementation as a potential safe-effective therapeutic strategy to treat core symptoms of ASD. However, larger studies are needed to evaluate the real efficacy of such therapeutic approach in a broader sample of ASD patients.

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. 2018 Jan;74(1):119-129.

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 ≥ 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.

Coats AJS.

Cardiac Cachexia - A Window to the Wasting Disorders
Cardiac cachexia: perspectives for prevention and treatment
Skeletal muscle aging: influence of oxidative stress and physical exercise
Cancer-induced muscle wasting: latest findings in prevention and treatment
Cancer-induced cardiac cachexia: pathogenesis and impact of physical activity (Review)
Muscle wasting and cachexia in heart failure: mechanisms and therapies
Effects of growth hormone on cardiac remodeling and soleus muscle in rats with aortic stenosis-induced heart failure.

Arq Bras Cardiol. 2018 Jan;110(1):102-103.

Yeoh EK, Wong MCS, Wong ELY, Yam C, Poon CM, Chung RY, Chong M, Fang Y, Wang HHX, Liang M, Cheung WWL, Chan CH, Zee B, Coats AJ.

Benefits and limitations of implementing Chronic Care Model (CCM) in primary care programs: A systematic review.

Int J Cardiol. 2018 May 1;258: 279-288.

Chronic Care Model (CCM) has been developed to improve patients' health care by restructuring health systems in a multidimensional manner. This systematic review aims to summarize and analyse programs specifically designed and conducted for the fulfilment of multiple CCM components. We have focused on programs targeting diabetes mellitus, hypertension and cardiovascular disease.

This review was based on a comprehensive literature search of articles in the PubMed database that reported clinical outcomes. We included a total of 25 eligible articles. Evidence of improvement in medical outcomes and the compliance of patients with medical treatment were reported in 18 and 14 studies, respectively. Two studies demonstrated a reduction of the medical burden in terms of health service utilization, and another two studies reported the effectiveness of the programs in reducing the risk of heart failure and other cardiovascular diseases. However, CCMs were still restricted by limited academic robustness and social constraints when they were implemented in primary care. Higher professional recognition, tighter system collaborations and increased financial support may be necessary to overcome the limitations of, and barriers to CCM implementation.

This review has identified the benefits of implementing CCM, and recommended suggestions for the future development of CCM.

Anker SD, von Haehling S, Coats AJS.

More variety with the Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle: JCSM Clinical Reports and JCSM Rapid Communications have both gone live.

J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2018 Apr;9(2):217-219.

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. 2018 Feb;20(2):199-215.

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.

Barbanti P, Egeo G.

Predictors of response to onabotulinumtoxin A in chronic migraine.

Eur J Neurol. 2018 Mar;25(3):e40.

Vera Regitz-Zagrosek (Chairperson) (Germany), Jolien W. Roos-Hesselink (Co-Chairperson) (The Netherlands), Johann Bauersachs (Germany), Carina Blomström-Lundqvist (Sweden), Renata Cifkova (Czech Republic), Michele De Bonis (Italy), Bernard Iung (France), Mark Richard Johnson (UK), Ulrich Kintscher (Germany), Peter Kranke (Germany), Irene Marthe Lang (Austria), Joao Morais (Portugal), Petronella G. Pieper (The Netherlands), Patrizia Presbitero (Italy), Susanna Price (UK), Giuseppe M. C. Rosano (UK/Italy), Ute Seeland (Germany), Tommaso Simoncini (Italy), Lorna Swan (UK), Carole A. Warnes (USA)

2018 ESC Guidelines for the management of cardiovascular diseases during pregnancy

European Heart Journal (2018) 00, 1–83

The ESC Guidelines represent the views of the ESC and were produced after careful consideration of the scientific and medical knowledge and the evidence available at the time of their dating. The ESC is not responsible in the event of any contradiction, discrepancy and/or ambiguity between the ESC Guidelines and any other official recommendations or guidelines issued by the relevant public health authorities, in particular in relation to good use of health care or therapeutic strategies. Health professionals are encouraged to take the ESC Guidelines fully into account when exercising their clinical judgment as well as in the determination and the implementation of preventive, diagnostic or therapeutic medical strategies. However, the ESC Guidelines do not override in any way whatsoever the individual responsibility of health professionals to make appropriate and accurate decisions in consideration of each patient's health condition and in consultation with that patient and the patient's caregiver where appropriate and/or necessary.

Nor do the ESC Guidelines exempt health professionals from taking careful and full consideration of the relevant official updated recommendations or guidelines issued by the competent public health authorities in order to manage each patient's case in light of the scientifically accepted data pursuant to their respective ethical and professional obligations.

It is also the health professional's responsibility to verify the applicable rules and regulations relating to drugs and medical devices at the time of prescription.

Botto F, Obregon S, Rubinstein F, Scuteri A, Nilsson PM, Kotliar C.

Frequency of early vascular aging and associated risk factors among an adult population in Latin America: the OPTIMO study.

J Hum Hypertens. 2018 Mar;32(3):219-227.

The main objective was to estimate the frequency of early vascular aging (EVA) in a sample of subjects from Latin America, with emphasis in young adults. We included 1416 subjects from 12 countries in Latin America who provided information about lifestyle, cardiovascular risk factors (CVRF), and anthropometrics. We measured pulse wave velocity (PWV) as a marker of arterial stiffness, and blood pressure (BP) using an oscillometric device (Mobil-O-Graph). To determine the frequency of EVA, we used multiple linear regression to estimate each subject's PWV expected for his/her age and systolic BP, and compared with observed values to obtain standardized residuals (z-scores). We defined EVA when z-score was ≥ 1.96 . Finally, a multivariable logistic regression analysis was performed to determine baseline characteristics associated with EVA. Mean age was 49.9 ± 15.5 years, male gender was 50.3%. Mean PWV was 7.52 m/s (SD 1.97), mean systolic BP was 125.3 mmHg (SD 16.7) and mean diastolic BP was 78.9 mmHg (SD 12.2). The frequency of EVA was 5.7% in the total population, 9.8% in adults of 40 years or less and 18.7% in those 30 years or less. In these young adults, multiple logistic regression analyses demonstrated that dyslipidemia and hypertension

showed an independent association with EVA, and smoking a borderline association ($p = 0.07$). In conclusion, the frequency of EVA in a sample from Latin America was around 6%, with higher rates in young adults. These results would support the search of CVRF and EVA during early adulthood.

Gorini S, De Angelis A, Berrino L, Malara N, Rosano G, Ferraro E.

Chemotherapeutic drugs and mitochondrial dysfunction: focus on Doxorubicin, Trastuzumab, and Sunitinib.

Oxid Med Cell Longev. 2018 Mar 18;2018:7582730. eCollection 2018.

Many cancer therapies produce toxic side effects whose molecular mechanisms await full elucidation. The most feared and studied side effect of chemotherapeutic drugs is cardiotoxicity. Also, skeletal muscle physiology impairment has been recorded after many chemotherapeutic treatments. However, only doxorubicin has been extensively studied for its side effects on skeletal muscle. Chemotherapeutic-induced adverse side effects are, in many cases, mediated by mitochondrial damage. In particular, trastuzumab and sunitinib toxicity is mainly associated with mitochondria impairment and is mostly reversible. Vice versa, doxorubicin-induced toxicity not only includes mitochondria damage but can also lead to a more robust and extensive cell injury which is often irreversible and lethal. Drugs interfering with mitochondrial functionality determine the depletion of ATP reservoirs and lead to subsequent reversible contractile dysfunction. Mitochondrial damage includes the impairment of the respiratory chain and the loss of mitochondrial membrane potential with subsequent disruption of cellular energetic. In a context of increased stress, AMPK has a key role in maintaining energy homeostasis, and inhibition of the AMPK pathway is one of the proposed mechanisms possibly mediating mitochondrial toxicity due to chemotherapeutics. Therapies targeting and protecting cell metabolism and energy management might be useful tools in protecting muscular tissues against the toxicity induced by chemotherapeutic drugs.

Liguori I, Curcio F, Russo G, Cellurale M, Aran L, Bulli G, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P.

Risk of malnutrition evaluated by Mini Nutritional Assessment and sarcopenia in noninstitutionalized elderly people.

Nutr Clin Pract. 2018 Dec;33(6):879-886.

Malnutrition indices and muscle mass and strength in the elderly are poorly investigated. Moreover, malnutrition seems to be 1 of the more important factors in the cause of sarcopenia. The presence of sarcopenia and its relationship with malnutrition indices were studied in noninstitutionalized elderly people who underwent Comprehensive Geriatric Assessment (CGA).

A total of 473 elderly subjects (mean age, 80.9 ± 6.6 years) admitted to CGA were studied. Malnutrition risk was evaluated with Mini Nutritional Assessment (MNA) score, whereas muscle mass and muscle strength were evaluated by bioimpedentiometry and hand grip, respectively. Sarcopenia was assessed as indicated in the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) consensus.

Overall prevalence of sarcopenia was 13.1%, and it increased from 6.1% to 31.4% as MNA decreased ($P < .001$). MNA score was lower in elderly subjects with sarcopenia (15.4 ± 4.2) than without sarcopenia (22.0 ± 4.0) ($P = .024$). Linear regression analysis showed that MNA score is linearly related both with muscle mass ($r = 0.72$; $P < .001$) and strength ($r = 0.42$; $P < .001$). Multivariate analysis, adjusted for several confounding variables including comorbidity and disability, confirmed these results.

MNA score is low in noninstitutionalized elderly subjects with sarcopenia, and it is linearly related to muscle mass and muscle strength. These data indicate that MNA score, when evaluated with muscle mass and strength, may recognize elderly subjects with sarcopenia.

Liguori I, Russo G, Curcio F, Sasso G, Della-Morte D, Gargiulo G, Pirozzi F, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P, Testa G.

Depression and chronic heart failure in the elderly: an intriguing relationship.

J Geriatr Cardiol. 2018 Jun;15(6):451- 459.

Chronic heart failure and depressive disorders have a high prevalence and incidence in the elderly. Several studies have shown how depression tends to exacerbate coexisting chronic heart failure and its clinical outcomes and vice versa, especially in the elderly. The negative synergism between chronic heart failure and

depression in the elderly may be approached only taking into account the multifaceted pathophysiological characteristics underlying both these conditions, such as behavioural factors, neurohormonal activation, inflammatory mediators, hypercoagulability and vascular damage. Nevertheless, the pathophysiological link between these two conditions is not well established yet. Despite the high prevalence of depression in chronic heart failure elderly patients and its negative prognostic value, it is often unrecognized especially because of shared symptoms. So the screening of mood disorders, using reliable questionnaires, is recommended in elderly patients with chronic heart failure, even if cannot substitute a diagnostic interview by mental health professionals. In this setting, treatment of depression requires a multidisciplinary approach including: psychotherapy, antidepressants, exercise training and electroconvulsive therapy. Pharmacological therapy with selective serotonin reuptake inhibitors, despite conflicting results, improves quality of life but does not guarantee better outcomes. Exercise training is effective in improving quality of life and prognosis but at the same time cardiac rehabilitation services are vastly underutilized.

Lund LH, Claggett B, Liu J, Lam CS, Jhund PS, Rosano GM, Swedberg K, Yusuf S, Granger CB, Pfeffer MA, McMurray JJV, Solomon SD.

Heart failure with mid-range ejection fraction in CHARM: characteristics, outcomes and effect of candesartan across the entire ejection fraction spectrum.

Eur J Heart Fail. 2018 Aug;20(8):1230-1239. doi: 10.1002/ejhf.1149. Epub 2018 Feb 12.

We tested the hypothesis that candesartan improves outcomes in heart failure (HF) with mid-range ejection fraction [HFmrEF; ejection fraction (EF) 40-49%].

In 7598 patients enrolled in the CHARM Programme (HF across the spectrum of EF), we assessed characteristics, outcomes and treatment effect of candesartan according to EF. Patients with HFmrEF (n = 1322, 17%) were similar to those with HF with reduced EF (HFrfEF; n = 4323, 57%) with respect to some characteristics, and intermediate between HFrfEF and HF with preserved EF (HFpEF; n = 1953, 26%) with respect to others. Over a mean follow-up of 2.9 years, the incidence rates for the primary outcome of cardiovascular death or HF hospitalization were 15.9, 8.5 and 8.9 per 100 patient-years in HFrfEF, HFmrEF and HFpEF. In adjusted analyses, the rates of the primary outcome declined with increasing EF up to 50%. For treatment effect, the incidence rates for the primary outcome for candesartan vs. placebo were 14.4 vs. 17.5 per 100 patient-years in HFrfEF [hazard ratio (HR) 0.82, 95% confidence interval (CI) 0.75-0.91; P < 0.001], 7.4 vs. 9.7 per 100 patient-years in HFmrEF (HR 0.76, 95% CI 0.61-0.96; P = 0.02), and 8.6 vs. 9.1 per 100 patient-years in HFpEF (HR 0.95, 95% CI 0.79-1.14; P = 0.57). For recurrent HF hospitalization, the incidence rate ratios were 0.68 in HFrfEF (95% CI 0.58-0.80; P < 0.001), 0.48 in HFmrEF (95% CI 0.33-0.70; P < 0.001), and 0.78 in HFpEF (95% CI 0.59-1.03; P = 0.08). With EF as a continuous spline variable, candesartan significantly reduced the primary outcome until EF well over 50% and recurrent HF hospitalizations until EF well over 60%.

Candesartan improved outcomes in HFmrEF to a similar degree as in HFrfEF.

Eur J Clin Pharmacol. 2018 May;74(5):637-643.

NSAIDs utilization for musculoskeletal indications in elderly patients with cerebro/cardiovascular disease.

Roberto G, Bartolini C, Rea F, Onder G, Vitale C, Trifirò G, Kirchmayer U, Chinellato A, Lucenteforte E, Corrao G, Mugelli A, Lapi F, Gini R; Italian Group for Appropriate Drug prescription in the Elderly (I-GrADE).

To describe NSAID utilization for musculoskeletal conditions in a large cohort of Italian elderly with cerebro/cardiovascular disease, a population in which NSAIDs should be generally avoided due to the prothrombotic potential.

Administrative data from five Italian geographic areas were analyzed. Patients aged ≥ 65 with a cerebro/cardiovascular event recorded between 2008 and 2011 (cohort entry) were selected. Prescription NSAIDs reimbursed for musculoskeletal conditions and dispensed during 1 year follow-up were retrieved to describe (i) prevalence of use, (ii) average amount of defined daily doses of NSAIDs claimed by users per day of follow-up, and (iii) distribution of the received daily dose (RDD) among patients with ≥ 2 dispensings. Among new users, i.e., patients without NSAID dispensings during 2 years before cohort entry, the first dispensed NSAID molecule was observed.

Overall, 511,989 patients were selected. Across the five geographic areas, prevalence of use ranged from 48 to 21% and average consumption ranged between 30 and 67 DDD/1000 users/day. Around 10% of patients in the overall cohort had a RDD > 1. Nimesulide (9.6%) and diclofenac (7.5%) had the highest prevalence of use. The most consumed NSAIDs were nimesulide and coxibs with 10.6 and 7.5 DDD/1000 users/day, respectively. Among new users recruited in 2011, 30% had diclofenac or a coxibs as the first prescription. NSAID use was common in the study cohort, particularly in central-southern areas. In contrast with current recommendations, coxibs and diclofenac were among the most prescribed active principles, even in new users. Interventions to promote appropriateness of use are warranted.

Savarese G, Orsini N, Hage C, Vedin O, Cosentino F, Rosano GMC, Dahlström U, Lund LH.
Utilizing NT-proBNP for Eligibility and Enrichment in Trials in HFpEF, HFmrEF, and HFrEF.
JACC Heart Fail. 2018 Mar;6(3):246-256.

The purpose of this study was to assess the association between N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) and cardiovascular (CV) versus non-CV events and between NT-proBNP and potential treatment effects in heart failure (HF) with preserved, mid-range, and reduced ejection fraction (HFpEF, HFmrEF, and HFrEF, respectively) and clinically relevant subgroups.

Optimizing patient eligibility criteria in HF trials requires biomarkers that enrich for CV but not for non-CV events and select patients most likely to respond to the tested intervention.

In the Swedish HF registry population stratified by EF category, we used Kaplan-Meier curves to estimate unadjusted CV and non-CV risks (mortality or hospitalization); Poisson regressions to calculate crude event rates of CV and non-CV events according to NT-proBNP levels; and Cox regressions to calculate the adjusted hazard ratios for HF therapies according to NT-proBNP \leq or $>$ median.

In a cohort of 15,849 patients (23% HFpEF, 21% HFmrEF, 56% HFrEF), median NT-proBNP was 2,037, 2,192, and 3,141 pg/ml, respectively. With increasing NT-proBNP, CV event rates increased more steeply than non-CV rates (range 20 to 160 and 30 to 100 per 100 patient-years in HFpEF; 20 to 130 and 20 to 100 in HFmrEF; and 20 to 110 and 20 to 50 in HFrEF, respectively). The CV-to-non-CV ratio increased with increasing NT-proBNP in HFpEF and HFrEF, but only in the lower range in HFmrEF. The association between treatments (e.g., angiotensin-converting enzyme-inhibitor, angiotensin II receptor blockers, and beta-blockers) and outcomes was consistent in NT-proBNP \leq and $>$ median.

In HF trial design in different EF categories, NT-proBNP may be a useful tool for eligibility and enrichment for CV events, but its role in predicting a potential treatment response remains unclear.

Savarese G, Orsini N, Hage C, Vedin O, Cosentino F, Rosano GMC, Dahlström U, Lund L.
Utilizing NT-proBNP for Eligibility and Enrichment in Trials in HFpEF, HFmrEF, and HFrEF.
JACC Heart Fail. 2018 Mar;6(3):246-256.

The purpose of this study was to assess the association between N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) and cardiovascular (CV) versus non-CV events and between NT-proBNP and potential treatment effects in heart failure (HF) with preserved, mid-range, and reduced ejection fraction (HFpEF, HFmrEF, and HFrEF, respectively) and clinically relevant subgroups.

Optimizing patient eligibility criteria in HF trials requires biomarkers that enrich for CV but not for non-CV events and select patients most likely to respond to the tested intervention.

In the Swedish HF registry population stratified by EF category, we used Kaplan-Meier curves to estimate unadjusted CV and non-CV risks (mortality or hospitalization); Poisson regressions to calculate crude event rates of CV and non-CV events according to NT-proBNP levels; and Cox regressions to calculate the adjusted hazard ratios for HF therapies according to NT-proBNP \leq or $>$ median.

In a cohort of 15,849 patients (23% HFpEF, 21% HFmrEF, 56% HFrEF), median NT-proBNP was 2,037, 2,192, and 3,141 pg/ml, respectively. With increasing NT-proBNP, CV event rates increased more steeply than non-CV rates (range 20 to 160 and 30 to 100 per 100 patient-years in HFpEF; 20 to 130 and 20 to 100 in HFmrEF; and 20 to 110 and 20 to 50 in HFrEF, respectively). The CV-to-non-CV ratio increased with increasing NT-proBNP in HFpEF and HFrEF, but only in the lower range in HFmrEF. The association between treatments (e.g., angiotensin-converting enzyme-inhibitor, angiotensin II receptor blockers, and beta-blockers) and outcomes was consistent in NT-proBNP \leq and $>$ median.

In HF trial design in different EF categories, NT-proBNP may be a useful tool for eligibility and enrichment for CV events, but its role in predicting a potential treatment response remains unclear.

Seferović PM, Petrie MC, Filippatos GS, Anker SD, Rosano G, Bauersachs J, Paulus WJ, Komajda M, Cosentino F, de Boer RA, Farmakis D, Doehner W, Lambrinou E, Lopatin Y, Piepoli MF, Theodorakis MJ, Wiggers H, Lekakis J, Mebazaa A, Mamas MA, Tschöpe C, Hoes AW, Seferović JP, Logue J, McDonagh T, Riley JP, Milinković I, Polovina M, van Veldhuisen DJ, Lainscak M, Maggioni AP, Ruschitzka F, McMurray JJV.

Type 2 diabetes mellitus and heart failure: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2018 May;20(5):853-872.

The coexistence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and heart failure (HF), either with reduced (HFrEF) or preserved ejection fraction (HFpEF), is frequent (30-40% of patients) and associated with a higher risk of HF hospitalization, all-cause and cardiovascular (CV) mortality. The most important causes of HF in T2DM are coronary artery disease, arterial hypertension and a direct detrimental effect of T2DM on the myocardium. T2DM is often unrecognized in HF patients, and vice versa, which emphasizes the importance of an active search for both disorders in the clinical practice. There are no specific limitations to HF treatment in T2DM. Subanalyses of trials addressing HF treatment in the general population have shown that all HF therapies are similarly effective regardless of T2DM. Concerning T2DM treatment in HF patients, most guidelines currently recommend metformin as the first-line choice. Sulphonylureas and insulin have been the traditional second- and third-line therapies although their safety in HF is equivocal. Neither glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists, nor dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) inhibitors reduce the risk for HF hospitalization. Indeed, a DPP4 inhibitor, saxagliptin, has been associated with a higher risk of HF hospitalization. Thiazolidinediones (pioglitazone and rosiglitazone) are contraindicated in patients with (or at risk of) HF. In recent trials, sodium-glucose co-transporter-2 (SGLT2) inhibitors, empagliflozin and canagliflozin, have both shown a significant reduction in HF hospitalization in patients with established CV disease or at risk of CV disease. Several ongoing trials should provide an insight into the effectiveness of SGLT2 inhibitors in patients with HFrEF and HFpEF in the absence of T2DM.

Savarese G, Orsini N, Hage C, Dahlström U, Vedin O, Rosano GMC, Lund LH.

Associations with and prognostic and discriminatory role of N-Terminal pro-B-Type f.

J Card Fail. 2018 Jun;24(6):365-374.

The aim of this study was to characterize N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) in terms of determinants of levels and of its prognostic and discriminatory role in heart failure with mid-range (HFmrEF) versus preserved (HFpEF) and reduced (HFrEF) ejection fraction.

In 9847 outpatients with HFpEF (n = 1811; 18%), HFmrEF (n = 2122; 22%) and HFrEF (n = 5914; 60%) enrolled in the Swedish Heart Failure Registry, median NT-proBNP levels were 1428, 1540, and 2288 pg/mL, respectively. Many determinants of NT-proBNP differed by ejection fraction, with atrial fibrillation (AF) more important in HFmrEF and HFpEF, diabetes and hypertension in HFmrEF, and age and body mass index in HFrEF and HFmrEF, whereas renal function, New York Heart Association functional class, heart rate, and anemia were similar. Hazard ratios for death and death/HF hospitalization for NT-proBNP above the median ranged from 1.48 to 2.00 and were greatest for HFmrEF and HFpEF. Areas under the receiver operating characteristic curve for death and death/HF hospitalization were greater in HFmrEF than in HFpEF and HFrEF and were reduced by AF in HFpEF and HFmrEF but not in HFrEF.

In HFpEF and especially HFmrEF, NT-proBNP was more prognostic and discriminatory, but also more affected by confounders such as AF. These data support the use of NT-proBNP for eligibility, enrichment, and surrogate end points in HFpEF and HFmrEF trials, and suggest that cutoff levels for eligibility should be carefully tailored to comorbidity.

Severino P, D'Amato A, Netti L, Pucci M, De Marchis M, Palmirotta R, Volterrani M, Mancone M, Fedele F.

Diabetes Mellitus and ischemic heart disease: the role of Ion channels.

Int J Mol Sci. 2018 Mar 10;19(3).

Diabetes mellitus is one of the strongest risk factors for cardiovascular disease and, in particular, for ischemic heart disease (IHD). The pathophysiology of myocardial ischemia in diabetic patients is complex and not fully understood: some diabetic patients have mainly coronary stenosis obstructing blood flow to the myocardium; others present with coronary microvascular disease with an absence of plaques in the epicardial vessels. Ion channels acting in the cross-talk between the myocardial energy state and coronary blood flow may play a role in the pathophysiology of IHD in diabetic patients. In particular, some genetic variants for ATP-dependent potassium channels seem to be involved in the determination of IHD.

Bossone E, Arcopinto M, Iacoviello M, Triggiani V, Cacciatore F, Maiello C, Limongelli G, Masarone D, Perticone F, Sciacqua A, Perrone-Filardi P, Mancini A, Volterrani M, Vriz O, Castello R, Passantino A, Campo M, Modesti PA, De Giorgi A, Monte I, Puzzo A, Ballotta A, Caliendo L, D'Assante R, Marra AM, Salzano A, Suzuki T, Cittadini A; TOSCA Investigators.

Multiple hormonal and metabolic deficiency syndrome in chronic heart failure: rationale, design, and demographic characteristics of the T.O.S.C.A. Registry.

Intern Emerg Med. 2018 Aug;13(5):661-671.

Recent evidence supports the concept that progression of chronic heart failure (CHF) depends upon an imbalance of catabolic forces over the anabolic drive. In this regard, multiple hormonal deficiency syndrome (MHDS) significantly impacts upon CHF progression, and is associated with a worse clinical status and increased mortality. The T.O.S.C.A. (Trattamento Ormonale nello Scompensamento Cardiaco; Hormone Therapy in Heart Failure) Registry ([clinicaltrials.gov = NCT02335801](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02335801)) tests the hypothesis that anabolic deficiencies reduce survival in a large population of mild-to-moderate CHF patients. The T.O.S.C.A. Registry is a prospective multicenter observational study coordinated by "Federico II" University of Naples, and involves 19 centers situated throughout Italy. Thyroid hormones, insulin-like growth factor-1, total testosterone, dehydroepiandrosterone, and insulin are measured at baseline and every year for a patient-average follow-up of 3 years. Subjects with CHF are divided into two groups: patients with one or no anabolic deficiency, and patients with two or more anabolic deficiencies at baseline. The primary endpoint is the composite of all-cause mortality and cardiovascular hospitalization. Secondary endpoints include the composite of all-cause mortality and hospitalization, the composite of cardiovascular mortality and cardiovascular hospitalization, and change of VO₂ peak. Patient enrollment started in April 2013, and was completed in July 2017. Demographics and main clinical characteristics of enrolled patients are provided in this article. Detailed cross-sectional results will be available in late 2018. The T.O.S.C.A. Registry represents the most robust prospective observational trial on MHDS in the field of CHF. The study findings will advance our knowledge with regard to the intimate mechanisms of CHF progression and hopefully pave the way for future randomized clinical trials of single or multiple hormonal replacement therapies in CHF.

Savarese G, Carrero JJ, Pitt B, Anker SD, Rosano GMC, Dahlström U, Lund LH.

Factors associated with underuse of mineralocorticoid receptor antagonists in heart failure with reduced ejection fraction: an analysis of 11 215 patients from the Swedish Heart Failure Registry.

Eur J Heart Fail. 2018 Sep;20(9):1326-1334.

Mineralocorticoid receptor antagonists (MRAs) improve outcomes in heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF), but are underutilized. Hyperkalaemia may be one reason, but the underlying reasons for underuse are unknown. The aim of this study was to investigate the independent predictors of MRA underuse in a large and unselected HFrEF cohort.

We included patients with HFrEF (ejection fraction <40%), New York Heart Association (NYHA) class II-IV and heart failure (HF) duration ≥6 months from the Swedish HF Registry. Logistic regression analysis identified independent associations between 39 demographic, clinical, co-treatment, and socioeconomic predictors and MRA non-use. Of 11 215 patients, 27% were women; mean age was 75 ± 11 years; only 4443 (40%) patients received MRA. Selected characteristics independently associated with MRA non-use were in descending order of magnitude: lower creatinine clearance (<60 mL/min), no need for diuretics, no cardiac

resynchronization therapy/implantable cardioverter-defibrillator, higher blood pressure, no digoxin use, higher ejection fraction, outpatient setting, older age, lower income, ischaemic heart disease, male sex, follow-up in primary vs. specialty care, lower NYHA class, and absence of hypertension diagnosis. Plasma potassium and N-terminal pro B-type natriuretic peptide levels were not associated with MRA non-use.

Mineralocorticoid receptor antagonists remain underused in HFrEF. Their use does not decrease with elevated potassium but does with impaired renal function, even in the creatinine clearance 30-59.9 mL/min range where MRAs are not contraindicated. MRA underuse may be further related to non-specialist care, milder HF and no use of other HF therapy.

Biffi A, Scotti L, Rea F, Lucenteforte E, Chinellato A, Vetrano DL, Vitale C, Agabiti N, Sultana J, Roberto G, Mugelli A, Corrao G; Italian Group for Appropriate Drug prescription in the Elderly (I-GrADE).

Adherence to Antidepressants and Mortality in Elderly Patients with Cardiovascular Disease.
Clin Drug Investig. 2018 Jul;38(7):593-602.

Conflicting findings from studies evaluating the association between use of antidepressant drugs and mortality have been reported. We tested the hypothesis that better adherence to antidepressant therapy may reduce mortality.

The cohort included 29,845 individuals aged ≥ 65 years from several Italian health units who were newly treated with antidepressant drugs after hospital discharge with a diagnosis for cardiovascular disease during 2008-2010. These individuals were observed from the first prescription until the end of data availability (i.e. 2012-2014, depending on the local database). During this period, information on (1) prescription of antidepressants and other medications and (2) death from any cause (outcome) was recorded. Proportional hazards models were fitted to estimate the association between better adherence to antidepressants (defined as proportion of days covered $\geq 75\%$) and outcome, by adjusting and stratifying for several covariates.

Patients with better adherence to antidepressants had a reduced mortality of 9% (95% CI 3-14). Patients who did not use other medications during follow-up had reduced mortality associated with better adherence to antidepressants of 21% (-1-38), 14% (7-20), 20% (13-26) and 13% (7-19) for no users of antihypertensive agents, lipid-lowering agents, other cardiovascular drugs and antidiabetics, respectively.

Better adherence to antidepressants is associated with reduced all-cause mortality, mainly in patients who did not use other pharmacological treatments. Behavioural changes to enhance adherence among the elderly with cardiovascular disease might offer important benefits in reducing their mortality.

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

Polypill, hypertension and medication adherence: The solution strategy?
Int J Cardiol. 2018 Feb 1;252:181-186.

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.

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. 2018 Mar;20(3):548-556.

The aim of the study are: 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 β -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 β -blockers.

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, Hjalmarsen Å, Wikstrand J, Kotecha D; Beta-blockers in Heart Failure Collaborative Group.

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. 2018 Jan 1; 39(1):26-35.

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: NCT0083244; 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%.

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. 2018 Jan 1;47(1):82-88.

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).

Study design: 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) Δ 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.

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. 2018 Feb;15(2):120-132.

In clinical guidelines, drugs for symptomatic angina are classified as being first choice (β -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.

Savarese G1, Orsini N2, Hage C3, Dahlström U4, Vedin O5, Rosano GMC6, Lund LH7.

Associations with and prognostic and discriminatory role of N-Terminal pro-B-Type natriuretic peptide in heart failure with preserved versus mid-range versus reduced ejection fraction.

J Card Fail. 2018 Jun;24(6):365-374.

The aim of this study was to characterize N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) in terms of determinants of levels and of its prognostic and discriminatory role in heart failure with mid-range (HFmrEF) versus preserved (HFpEF) and reduced (HFrEF) ejection fraction.

In 9847 outpatients with HFpEF ($n = 1811$; 18%), HFmrEF ($n = 2122$; 22%) and HFrEF ($n = 5914$; 60%) enrolled in the Swedish Heart Failure Registry, median NT-proBNP levels were 1428, 1540, and 2288 pg/mL, respectively. Many determinants of NT-proBNP differed by ejection fraction, with atrial fibrillation (AF) more important in HFmrEF and HFpEF, diabetes and hypertension in HFmrEF, and age and body mass index in

HFrEF and HFmrEF, whereas renal function, New York Heart Association functional class, heart rate, and anemia were similar. Hazard ratios for death and death/HF hospitalization for NT-proBNP above the median ranged from 1.48 to 2.00 and were greatest for HFmrEF and HFpEF. Areas under the receiver operating characteristic curve for death and death/HF hospitalization were greater in HFmrEF than in HFpEF and HFrEF and were reduced by AF in HFpEF and HFmrEF but not in HFrEF.

In HFpEF and especially HFmrEF, NT-proBNP was more prognostic and discriminatory, but also more affected by confounders such as AF. These data support the use of NT-proBNP for eligibility, enrichment, and surrogate end points in HFpEF and HFmrEF trials, and suggest that cutoff levels for eligibility should be carefully tailored to comorbidity.

Rosano GMC, Tamargo J, Kjeldsen KP, Lainscak M, Agewall S, Anker SD, Ceconi C, Coats AJS, Drexel H, Filippatos G, Kaski JC1, Lund L, Niessner A, Ponikowski P, Savarese G, Schmidt TA, Seferovic P, Wassmann S, Walther T, Lewis BS.

Expert consensus document on the management of hyperkalaemia in patients with cardiovascular disease treated with RAAS-inhibitors - Coordinated by the Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy of the European Society of Cardiology.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2018 Jul 1;4(3):180-188.

Renin angiotensin aldosterone system inhibitors/antagonists/blockers (RAASi) are a cornerstone in treatment of patients with cardiovascular diseases especially in those with heart failure (HF) due to their proven effect on surrogate and hard endpoints. Renin angiotensin aldosterone system inhibitors are also the basis in treatment of arterial hypertension, and they are furthermore indicated to reduce events and target organ damage in patients with diabetes and chronic kidney disease, where they have specific indication because of the evidence of benefit. Renin angiotensin aldosterone system inhibitor therapy, however, is associated with an increased risk of hyperkalaemia. Patients with chronic kidney disease and HF are at increased risk of hyperkalaemia and □50% of these patients experience two or more yearly recurrences. A substantial proportion of patients receiving RAASi therapy have their therapy down-titrated or more often discontinued even after a single episode of elevated potassium (K⁺) level. Since RAASi therapy reduces mortality and morbidity in patients with cardiovascular disease steps should, when hyperkalaemia develops, be considered to lower K⁺ level and enable patients to continue their RAASi therapy. The use of such measures are especially important in those patients with the most to gain from RAASi therapy.

Coats AJ, Rosano G.

Foreword.

Card Fail Rev. 2019 Feb;5(1):4.

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

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

Curr Drug Targets. 2018;19(6):585-592.

Prevention of stroke is a pivotal intervention in the management of patients with atrial fibrillation (AF). 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.

The aim of this review is to summarise the available data on the efficacy of apixaban in patients with AF, with a particular focus on the implications for its clinical management.

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.

Vitale C, Ilaria S, Rosano GM.

Pharmacological interventions effective in improving exercise capacity in heart failure.

Card Fail Rev. 2018 May;4(1):25-27.

Heart failure (HF) is characterised by exercise intolerance, which substantially impairs quality of life (QOL) and prognosis. The aim of this review is to summarise the state of the art on pharmacological interventions that are able to improve exercise capacity in HF. Ivabradine, trimetazidine and intravenous iron are the only drugs included in the European Society of Cardiology HF guidelines that have consistently been shown to positively affect functional capacity in HF. The beneficial effects on HF symptoms, physical performance and QOL using these pharmacological approaches are described.

Canepa M, Fonseca C, Chioncel O, Laroche C, Crespo-Leiro MG, Coats AJS, Mebazaa A, Piepoli MF, Tavazzi L, Maggioni AP; ESC HF Long Term Registry Investigators.Collaborators (641)

Performance of Prognostic Risk Scores in Chronic Heart Failure Patients Enrolled in the European Society of Cardiology Heart Failure Long-Term Registry.

JACC Heart Fail. 2018 Jun;6(6):452-462.

This study compared the performance of major heart failure (HF) risk models in predicting mortality and examined their utilization using data from a contemporary multinational registry.

Several prognostic risk scores have been developed for ambulatory HF patients, but their precision is still inadequate and their use limited.

This registry enrolled patients with HF seen in participating European centers between May 2011 and April 2013. The following scores designed to estimate 1- to 2-year all-cause mortality were calculated in each participant: CHARM (Candesartan in Heart Failure-Assessment of Reduction in Mortality), GISSI-HF (Gruppo Italiano per lo Studio della Streptochinasi nell'Infarto Miocardico-Heart Failure), MAGGIC (Meta-analysis Global Group in Chronic Heart Failure), and SHFM (Seattle Heart Failure Model). Patients with hospitalized HF (n = 6,920) and ambulatory HF patients missing any variable needed to estimate each score (n = 3,267) were excluded, leaving a final sample of 6,161 patients.

At 1-year follow-up, 5,653 of 6,161 patients (91.8%) were alive. The observed-to-predicted survival ratios (CHARM: 1.10, GISSI-HF: 1.08, MAGGIC: 1.03, and SHFM: 0.98) suggested some overestimation of mortality by all scores except the SHFM. Overprediction occurred steadily across levels of risk using both the CHARM and the GISSI-HF, whereas the SHFM underpredicted mortality in all risk groups except the highest. The MAGGIC showed the best overall accuracy (area under the curve [AUC] = 0.743), similar to the GISSI-HF (AUC = 0.739; p = 0.419) but better than the CHARM (AUC = 0.729; p = 0.068) and particularly better than the SHFM (AUC = 0.714; p = 0.018). Less than 1% of patients received a prognostic estimate from their enrolling physician.

Performance of prognostic risk scores is still limited and physicians are reluctant to use them in daily practice. The need for contemporary, more precise prognostic tools should be considered.

Marazzi G, Campolongo G, Pelliccia F, Quattrino S, Cacciotti L, Miano M, Volterrani M, Calabrò P, Rosano G.

Bisoprolol better than atenolol as add on therapy to ACE inhibitors in blood pressure control.

Journal of Hypertension: June 2018 - Volume 36 - Issue - p e43

ACE-inhibitors (ACEi) are a first choice treatment in arterial hypertension as reported in European and American guidelines. However, in order to reach the optimal target blood pressure (BP), frequently adding another drug is needed.

The aim of this study is to evaluate whether the addition of a beta-blocker (BB) can lead BP to target and whether there is a difference between BBs

We have recruited 2 groups of patients (pts) treated with ACEi who weren't to BP target. First group (Group A), (50 pts 23 F; 27 M, age 62,6) has started treatment adding atenolol while second group (group B), (50 pts 21 F, 29 M, age 62,12) bisoprolol. Comorbidities (hypercholesterolemia, diabetes and use of tobacco) were similar in the 2 groups. The doses of BBs were determined by the achievement of a 60 bpm mean heart rate. All pts monitored their BP at home (twice a day during a week) and 24 hours ambulatory monitoring (ABPM) was performed before and 1 month after the treatment.

After 1 month 38 pts of the group A and 43 pts of the group B were to BP target. Furthermore, the systolic BP in group A decreased from 142,38 mm Hg to 131,17 mm Hg (-7,9%, p ns) and the diastolic BP from 89,44 mm Hg to 79,89 mm Hg (- 10,7%); in group B systolic BP decreased from 142,83 mm Hg to 126,05 mm Hg (- 11,7%) and the diastolic from 89,39 mm Hg to 75,04 mm Hg (- 16,05%).

Pts didn't experience any side effects.

Our study demonstrated that adding bisoprolol to a ACEi reduced BP in more pts compared to atenolol allowing to reach target.

Anker MS, von Haehling S, Landmesser U, Coats AJS, Anker SD.

Cancer and heart failure-more than meets the eye: common risk factors and co-morbidities.

Eur J Heart Fail. 2018 Oct;20(10):1382-1384.

Volterrani M, Iellamo F, Alberto C, Pasquale A, Salvatore P, Massimo P, Marco M, Lucia U, Cesare P, Bruno R, Enrico P; SICOA (Società Italiana Cardiologia Ospedalità Accreditata) Investigators.

NOAC in "real world" patients with atrial fibrillation in Italy: results from the ISPAF-2 (Indagine Sicoa Paziente Con Fibrillazione Atriale) survey study.

Intern Emerg Med. 2018 Oct;13(7):1069-1075.

In the past few years, new oral anticoagulants (NOACs) targeting directly a single activated clotting factor, have been developed for the treatment of non-valvular atrial fibrillation (AF), which are currently recommended as first-line therapy in AF. The aim of this study is to provide an overall picture on the extent to which oral anticoagulation (OAC) with NOACs correspond to actually prescribed OAC therapy in an unselected, real world, population of consecutive patients with AF in Italy. Compliance with the therapy and quality of life were also assessed. A 50 cardiology unit network located in different geographic areas of Italy enrolled a total of 1742 consecutive outpatients with AF (54.6% males, 45.4% females, mean age 72.5 years). NOACs were prescribed in 56.1% patients and VKA in 43.9% ($P < 0.0001$). NOACs were significantly more prescribed than VKA in patients with high thrombo-embolic risk score (i.e., $CHA_2DS_2-VASc > 2$) (78.2 vs 67.3%, $P < 0.0001$), but also patients at low risk (i.e., $CHA_2DS_2-VASc < 1$ and $HAS-BLED < 3$) were still under OAC therapy with either NOACs (27%) or VKA (73%). Adherence to therapy (Morisky test) was greater in patients taking NOACs as was the quality of life. The ISPAF-2 study shows that in an Italian population of real-world patients with AF the prescription of OAC according to current guidelines and stroke-risk scoring system is rather high although it still needs to be improved. Contrary to recommendations, in a high proportion of low-risk patients, anticoagulation therapy, with either NOACs and VKA is still prescribed, and this exposes patients to unjustified risks.

Banach M1, Patti AM2, Giglio RV2, Cicero AFG3, Atanasov AG4, Bajraktari G5, Bruckert E6, Descamps O7, Djuric DM8, Ezhov M9, Fras Z10, von Haehling S11, Katsiki N12, Langlois M13, Latkovskis G14, Mancini GBJ15, Mikhailidis DP16, Mitchenko O17, Moriarty PM18, Muntner P19, Nikolic D2, Panagiotakos DB20, Paragh G21, Paulweber B22, Pella D23, Pitsavos C24, Reiner Ž25, Rosano GMC26, Rosenson RS27, Rysz J28, Sahebkar A29, Serban MC30, Vinereanu D31, Vrablík M32, Watts GF33, Wong ND34, Rizzo M2; International Lipid Expert Panel (ILEP).

The role of nutraceuticals in statin intolerant patients.

J Am Coll Cardiol. 2018 Jul 3;72(1):96-118.

Statins are the most common drugs administered for patients with cardiovascular disease. However, due to statin-associated muscle symptoms, adherence to statin therapy is challenging in clinical practice. Certain nutraceuticals, such as red yeast rice, bergamot, berberine, artichoke, soluble fiber, and plant sterols and stanols alone or in combination with each other, as well as with ezetimibe, might be considered as an alternative or add-on therapy to statins, although there is still insufficient evidence available with respect to long-term safety and effectiveness on cardiovascular disease prevention and treatment. These nutraceuticals could exert significant lipid-lowering activity and might present multiple non-lipid-lowering actions, including improvement of endothelial dysfunction and arterial stiffness, as well as anti-inflammatory and antioxidative properties. The aim of this expert opinion paper is to provide the first attempt at recommendation on the management of statin intolerance through the use of nutraceuticals with particular attention on those with effective low-density lipoprotein cholesterol reduction.

Anker MS, Coats AJS, Anker SD.

The importance of registries in today's heart failure therapies.

Kardiol Pol. 2018;76(7):1029-1030.

Rosano GMC, Seferovic P.

2017 ESC guidelines focus on dual antiplatelet therapy.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2018 Jul 1;4(3):131-132.

Di Mario C, Mugelli A, Perrone Filardi P, Rosano G, Rossi F.

Long-term dual antiplatelet therapy: pharmacological and clinical implications.

J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2018 Aug;19(8):399-410.

Patients experiencing an acute coronary syndrome are exposed to an increased residual risk of recurrent coronary events. Dual antiplatelet therapy (DAPT) is highly effective in preventing atherothrombotic complications in patients with previous myocardial infarction and current guidelines recommend the prescription of DAPT for at least 12 months in all patients experiencing an acute event. However, recent findings demonstrated that long-term DAPT (over 12 months) is related to a better outcome in patients at high risk, suggesting the use of a long-term DAPT to achieve a better clinical outcome. The choice of DAPT duration is still a difficult issue and a personalized approach to the patients is mandatory to manage both the residual ischemic risk and the risk of bleeding events. The aim of this review is to analyze the pharmacological characteristics of available antiplatelet agents and to revise the use of DAPT in clinical practice, focusing on the benefits of a long-term approach.

Nilsson PM, Laurent S, Cunha PG, Olsen MH, Rietzschel E, Franco OH, Rylisškytė L, Strazhesko I, Vlachopoulos C, Chen CH, Boutouyrie P, Cucca F, Lakatta EG, Scuteri A; Metabolic syndrome, Arteries REsearch (MARE) Consortium.

Characteristics of healthy vascular ageing in pooled population-based cohort studies: the global Metabolic syndrome and Artery REsearch Consortium.

J Hypertens. 2018 Dec;36(12):2340-2349.

Arterial ageing is characterized by increasing arterial stiffness as measured by pulse wave velocity (PWV). This process is enhanced in participants with early vascular ageing (EVA), but slowed in participants with healthy vascular ageing (HVA). We aimed to describe characteristics of EVA and HVA in a transcontinental study including 11 cohorts.

In all, 18490 participants from the global MARE Consortium, free of cardiovascular disease, participated with data on PWV and cardiometabolic risk factors. We defined HVA as the lowest 10% and EVA as the highest 10% of the standardized PWV distribution, adjusted for age intervals. HVA individuals were compared with the 90% of non-HVA individuals with ANCOVA, adjusted for age, sex and hypertension.

The 1723 HVA participants were at the same age as the rest of the population, more likely women (59.4 vs 57.0%), and with significantly lower levels of established cardiovascular risk factors (blood pressure, lipids, glucose). Similarly, the prevalence rate of obesity, diabetes mellitus, hypertension and the metabolic syndrome was lower in the HVA participants. In the presence of similar levels of cardiovascular risk factors, HVA participants in the 50-64 years of age group presented lower PWV 5.8 (SD 0.5) vs. 7.4 (1.4) m/s ($P < 0.0001$) than control individuals in the 35-49 years of age group, corresponding to an estimated difference in chronological age of 14 years.

Participants with healthy vascular ageing (HVA), belonging to the lowest end of the PWV distribution, are in general characterized by an up to 14 years estimated younger biological (vascular) age than those with higher PWV values, and have lower levels of risk factors.

Vonbank A, Drexel H, Agewall S, Lewis BS, Dopheide JF, Kjeldsen K, Ceconi C, Savarese G, Rosano G, Wassmann S, Niessner A, Schmidt TA, Saely CH, Baumgartner I, Tamargo JI.

Reasons for disparity in statin adherence rates between clinical trials and real-world observations: a review.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2018 Oct 1;4(4):230-236.

With statins, the reported rate of adverse events differs widely between randomized clinical trials (RCTs) and observations in clinical practice, the rates being 1-2% in RCTs vs. 10-20% in the so-called real world. One possible explanation is the claim that RCTs mostly use a run-in period with a statin. This would exclude intolerant patients from remaining in the trial and therefore favour a bias towards lower rates of intolerance. We here review data from RCTs with more than 1000 participants with and without a run-in period, which were included in the Cholesterol Treatment Trialists Collaboration. Two major conclusions arise: (i) the majority of RCTs did not have a test dose of a statin in the run-in phase. (ii) A test dose in the run-in phase was not associated with a significantly improved adherence rate within that trial when compared to trials without a test dose. Taken together, the RCTs of statins reviewed here do not suggest a bias towards an artificially higher adherence rate because of a run-in period with a test dose of the statin. Other possible explanations for the apparent disparity between RCTs and real-world observations are also included in this review albeit mostly not supported by scientific data.

Arcari L, Limite LR, Cacciotti L, Sclafani M, Russo D, Passaseo I, Marazzi G, Ansalone G, Volpe M, Autore C, Musumeci MB.

Admission heart rate and in-hospital course of patients with Takotsubo syndrome.

Int J Cardiol. 2018 Dec 15;273:15-21.

In-hospital course of patients with Takotsubo syndrome (TS) is quite heterogeneous and life-threatening complications are not uncommon in the acute phase. The role of heart rate (HR) as a predictor of prognosis has not been sufficiently investigated in this setting. The study aims to assess the impact of HR at presentation on in-hospital course of patients with TS.

The study population included 221 patients with TS enrolled in a multicentric registry. HR at admission was evaluated on the first electrocardiogram. According to tertile distribution of HR at presentation, 3 groups were identified: Group A (HR \leq 76 beats per minute (bpm), n = 76), Group B (HR 77-95 bpm, n = 74) and Group C (HR > 95 bpm, n = 71). Acute in-hospital complications were defined as occurrence of severe pump failure and major arrhythmias.

32 (14.4%) patients experienced complicated in-hospital course. HR on admission was significantly higher (108 bpm vs. 85 bpm; $p < 0.001$) and ejection fraction (EF) lower (35% vs. 40%; $p = 0.009$) in patients with complications than in those without. Patients in Group C experienced a 5-fold higher rate of complications compared to group A and B. After multivariate analysis, higher HR (odds ratio 1.34 per 10 bpm increase, 95% confidence interval (CI) 1.12-1.59; $p = 0.001$) and lower EF (odds ratio 1.24 per 5% decrease, 95% CI 1.01-1.54; $p = 0.049$) remained independently associated with a worse outcome.

In a large population with TS, high HR on admission independently predicted complicated in-hospital course.

Regitz-Zagrosek V, Roos-Hesselink JW, Bauersachs J, Blomström-Lundqvist C, Cífková R, De Bonis M, Iung B, Johnson MR, Kintscher U, Kranke P, Lang IM, Morais J, Pieper PG, Presbitero P, Price S, Rosano GMC, Seeland U, Simoncini T, Swan L, Warnes CA; ESC Scientific Document Group

2018 ESC Guidelines for the management of cardiovascular diseases during pregnancy.

Eur Heart J. 2018 Sep 7;39(34):3165-3241.

Ferrari R, Pavasini R, Camici PG, Crea F, Danchin N, Pinto F, Manolis A, Marzilli M, Rosano GMC, Lopez-Sendon J, Fox K.

Anti-anginal drugs-beliefs and evidence: systematic review covering 50 years of medical treatment.

Eur Heart J. 2019 Jan 7;40(2):190-194.

Chronic stable angina is the most prevalent symptom of ischaemic heart disease and its management is a priority. Current guidelines recommend pharmacological therapy with drugs classified as being first line (beta blockers, calcium channel blockers, short acting nitrates) or second line (long-acting nitrates, ivabradine, nicorandil, ranolazine, and trimetazidine). Second line drugs are indicated for patients who have contraindications to first line agents, do not tolerate them or remain symptomatic. Evidence that one drug is superior to another has been questioned. Between January and March 2018, we performed a systematic review of articles written in English over the past 50 years English-written articles in Medline and Embase following preferred reporting items and the Cochrane collaboration approach. We included double blind randomized studies comparing parallel groups on treatment of angina in patients with stable coronary artery disease, with a sample size of, at least, 100 patients (50 patients per group), with a minimum follow-up of 1 week and an outcome measured on exercise testing, duration of exercise being the preferred outcome. Thirteen studies fulfilled our criteria. Nine studies involved between 100 and 300 patients, (2818 in total) and a further four enrolled greater than 300 patients. Evidence of equivalence was demonstrated for the use of beta-blockers (atenolol), calcium antagonists (amlodipine, nifedipine), and channel inhibitor (ivabradine) in three of these studies. Taken all together, in none of the studies was there evidence that one drug was superior to another in the treatment of angina or to prolong total exercise duration. There is a paucity of data comparing the efficacy of anti-anginal agents. The little available evidence shows that no anti-anginal drug is superior to another and equivalence has been shown only for three classes of drugs. Guidelines draw conclusions not from evidence but from clinical beliefs.

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

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

Eur J Heart Fail. 2018 Jan;20(1):149-151.

Vitale C, Spoletini I, Rosano GM.

Frailty in Heart Failure: Implications for Management.

Card Fail Rev. 2018 Aug;4(2):104-106.

Frailty is a complex clinical syndrome associated with ageing and chronic illness, resulting from multiple organ impairment; physiological reserves decrease and vulnerability to stressors increase. The role of frailty in cardiovascular disease has become increasingly recognised. Up to 79% of patients with heart failure are frail. Moreover, frailty is associated with a worse quality of life and poor prognosis. This review summarises the available literature on frailty in HF and highlights indications for its management.

Rosano GM, Vitale C.

Metabolic Modulation of Cardiac Metabolism in Heart Failure.

Card Fail Rev. 2018 Aug;4(2):99-103.

Heart failure (HF) is associated with metabolic changes that cause a progressive impairment of cardiac and skeletal muscle high-energy phosphate production. As a consequence of the impaired cardiac metabolism, other processes are activated in the failing heart that further exacerbate the progression of HF. The reduced production of high-energy phosphates has important implications for both systole and diastole in HF with both preserved and reduced left ventricular function. The aim of this review is to summarise the state-of-the-art on metabolic therapy in HF with a particular focus on trimetazidine. Metabolic agents optimise cardiac substrate metabolism without exerting negative haemodynamic effects. In particular, as studies with metabolic agents modulating cardiac metabolism have consistently demonstrated, this approach is effective in improving symptoms, functional capacity and prognosis in people with HF when added to optimal medical therapy. Therefore, the modulation of cardiac metabolism is an important therapeutic approach to the treatment of HF, especially in patients where it is of ischaemic or metabolic origin. Although further studies are needed, metabolic agents might be a new, effective strategy for the treatment of HF.

Taylor RS, Walker S, Smart NA, Piepoli MF, Warren FC, Ciani O, O'Connor C, Whellan D, Keteyian SJ, Coats A, Davos CH, Dalal HM, Dracup K, Evangelista L, Jolly K, Myers J, McKelvie RS, Nilsson BB, Passino C, Witham MD, Yeh GY, Zwisler AO; ExTraMATCH II Collaboration.

Impact of exercise-based cardiac rehabilitation in patients with heart failure (ExTraMATCH II) on mortality and hospitalisation: an individual patient data meta-analysis of randomised trials.

Eur J Heart Fail. 2018 Dec;20(12):1735-1743. doi: 10.1002/ejhf.1311. Epub 2018 Sep 26.

To undertake an individual patient data (IPD) meta-analysis to assess the impact of exercise-based cardiac rehabilitation (ExCR) in patients with heart failure (HF) on mortality and hospitalisation, and differential effects of ExCR according to patient characteristics: age, sex, ethnicity, New York Heart Association functional class, ischaemic aetiology, ejection fraction, and exercise capacity.

Randomised trials of exercise training for at least 3 weeks compared with no exercise control with 6-month follow-up or longer, providing IPD time to event on mortality or hospitalisation (all-cause or HF-specific). IPD were combined into a single dataset. We used Cox proportional hazards models to investigate the effect of ExCR and the interactions between ExCR and participant characteristics. We used both two-stage random effects and one-stage fixed effect models. IPD were obtained from 18 trials including 3912 patients with HF with reduced ejection fraction. Compared to control, there was no statistically significant difference in pooled time to event estimates in favour of ExCR although confidence intervals (CIs) were wide [all-cause mortality: hazard ratio (HR) 0.83, 95% CI 0.67-1.04; HF-specific mortality: HR 0.84, 95% CI 0.49-1.46; all-cause hospitalisation: HR 0.90, 95% CI 0.76-1.06; and HF-specific hospitalisation: HR 0.98, 95% CI 0.72-1.35]. No strong evidence was found of differential intervention effects across patient characteristics.

Exercise-based cardiac rehabilitation did not have a significant effect on the risk of mortality and hospitalisation in HF with reduced ejection fraction. However, uncertainty around effect estimates precludes drawing definitive conclusions.

Caminiti G, Massaro R, Fossati C, Gatta L, Selli S, Sposato B, Volterrani M.

Glyco-metabolic Effects of Ranolazine: A truly Multifaceted Drug?

Journal of Cardiol Ther 2018 September; 5(1): 742-746.

Ranolazine (R) is a non-haemodynamic anti-anginal agent used as adjunctive therapy in patients with chronic coronary heart disease (CHD) whose symptoms are inadequately controlled by conventional treatment. R decreases calcium overload in the ischemic myocytes through the inhibition of late sodium channel current in the myocardium; induces myocardial relaxation and improves myocardial blood flow. In addition to its anti-angina effect, other possible clinical applications of R have also been explored, including treatment of atrial arrhythmias, chronic heart failure and diabetes. With regard to diabetes R has been shown to significantly improve glycemic control in diabetic patients with CHD in post-hoc analysis of large-scale clinical trials. Moreover reduction of glycated hemoglobin and fasting serum glucose levels have been also observed prospectively in small clinical trials conducted on diabetic subjects without CHD by using R alone or in combination with other oral glucose-lowering drugs. Lastly R improved insulin resistance in non-diabetic overweight/obese patients with CHD. Hypothetical mechanisms of this metabolic action are: inhibition of secretion of glucagon from pancreatic islets, preservation of beta cells and increase of insulin delivery to tissues. In light of these observations R appear to be a potential multifaceted drug that offers the opportunity to treat glyco-metabolic disorders alone or in association to CHD. However, prospective studies are too small to be conclusive and new trials are needed to clarify which is the exact role of R in the treatment of glyco-metabolic disorders.

Vitale C, Fini M, Rosano GM.

Trimetazidine in the frail patient

Heart Metab.(2018) 76:23-26.

Frailty encompasses a coexistence of medical factors that reduce resistance to endogenous and exogenous stressors and increase morbidity and mortality. The prevalence of frailty increases with age and in females. Frailty is an important factor to consider in the management of cardiovascular disease (CVD). Patients with CVD often have several overlapping chronic conditions that often require medical therapies, which may negatively affect concurrent diseases. To prioritize treatment strategies, it is necessary to recognize frailty and unnecessary polypharmacy early. Some cardiac medications should be used cautiously in frail patients with CVD as their use may increase the risk of serious adverse events. β -Blockers are associated with an increased

risk of cognitive decline and a reduction in the ability to independently perform activities of daily living. Therefore, in frail and highly vulnerable elderly patients, it is best to avoid prescribing β -blockers, especially when they are not strictly needed. Ivabradine is well tolerated in frail elderly patients with comorbidities and is a sound alternative to β -blockers. ACE inhibitors and indapamide can also be used in frail patients and patients with multimorbidities. Trimetazidine is effective and safe in elderly patients with CVDs and multimorbidities; it also significantly reduces the frequency of angina attacks and contributes to the positive dynamics of the indicators of quality of life in elderly frail patients. Therefore, for treating frail patients with CVD, priority should be given to drugs that have a positive effect on functional capacity and quality of life.

Maack C, Lehrke M, Backs J, Heinzel FR, Hulot JS, Marx N, Paulus WJ, Rossignol P, Taegtmeyer H, Bauersachs J, Bayes-Genis A, Brutsaert D, Bugger H, Clarke K, Cosentino F, De Keulenaer G, Dei Cas A, González A, Huelsmann M, Iaccarino G, Lunde IG, Lyon AR, Pollesello P, Rena G, Riksen NP, Rosano G, Staels B, van Laake LW, Wanner C, Farmakis D, Filippatos G, Ruschitzka F, Seferovic P, de Boer RA, Heymans S.

Heart failure and diabetes: metabolic alterations and therapeutic interventions: a state-of-the-art review from the Translational Research Committee of the Heart Failure Association-European Society of Cardiology.

Eur Heart J. 2018 Dec 21;39(48):4243-4254.

Pelliccia F, Moretti A, Marazzi G, Gaudio C.

Dying from takotsubo syndrome at a young age: the crucial role of brain-heart interactions.

Postepy Kardiologii Interwencyjnej. 2018;14(3):221-224.

Eur Heart J. 2018 Dec 21;39(48):4277-4284. doi: 10.1093/eurheartj/ehy626.

Prognostic implications of atrial fibrillation in heart failure with reduced, mid-range, and preserved ejection fraction: a report from 14 964 patients in the European Society of Cardiology Heart Failure Long-Term Registry.

Zafir B1, Lund LH2,3, Laroche C4, Ruschitzka F5, Crespo-Leiro MG6, Coats AJS7, Anker SD8,9, Filippatos G10, Seferovic PM11, Maggioni AP4,12, De Mora Martin M13, Polonski L14, Silva-Cardoso J15, Amir O16,17; ESC-HFA HF Long-Term Registry Investigators.

The aim of the study is to investigate the characteristics long-term prognostic implications (up to ~2.2 years) of atrial fibrillation (AF) compared to sinus rhythm (SR), between acute and chronic heart failure (HF) with reduced (HFrEF < 40%), mid-range (HFmrEF 40-49%), and preserved (HFpEF \geq 50%) ejection fraction (EF).

Data from the observational, prospective, HF long-term registry of the European Society of Cardiology were analysed. A total of 14 964 HF patients (age 66 ± 13 years, 67% male; 53% HFrEF, 21% HFmrEF, 26% HFpEF) were enrolled. The prevalence of AF was 27% in HFrEF, 29% in HFmrEF, and 39% in HFpEF. Atrial fibrillation was associated with older age, lower functional capacity, and heightened physical signs of HF. Crude rates of mortality and HF hospitalization were higher in patients with AF compared to SR, in each EF subtype. After multivariable adjustment, the hazard ratio of AF for HF hospitalizations was: 1.036 (95% CI 0.888-1.208, $P = 0.652$) in HFrEF, 1.430 (95% CI 1.087-1.882, $P = 0.011$) in HFmrEF, and 1.487 (95% CI 1.195-1.851, $P < 0.001$) in HFpEF; and for combined all-cause death or HF hospitalizations: 0.957 (95% CI 0.843-1.087, $P = 0.502$), 1.302 (95% CI 1.055-1.608, $P = 0.014$), and 1.365 (95% CI 1.152-1.619, $P < 0.001$), respectively. In patients with HFrEF, AF was not associated with worse outcomes in those presenting with either an acute or a chronic presentation of HF.

The prevalence of AF increases with increasing EF but its association with worse cardiovascular outcomes, remained significant in patients with HFpEF and HFmrEF, but not in those with HFrEF.

Marazzi G, Campolongo G, Pelliccia F, Calabrò Md P, Cacciotti L, Vitale C, Massaro R, Volterrani M, Rosano G.

Usefulness of Low-Dose Statin Plus Ezetimibe and/or Nutraceuticals in Patients With Coronary Artery Disease Intolerant to High-Dose Statin Treatment.

Am J Cardiol. Epub 2018 Oct 19.

High-dose statin (HDS) therapy is recommended to reduce low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C); however, some patients are unable to tolerate the associated side effects. Nutraceuticals have shown efficacy in lowering LDL-C. The aim of this study was to evaluate whether the combination of low-dose statin (LDS) plus ezetimibe (EZE) or LDS plus nutraceutical (Armolipid Plus [ALP] containing red yeast rice, policosanol, and berberine) can lead to a higher proportion of high-risk patients achieving target LDL-C. A secondary objective was to assess the efficacy of triple combination LDS + EZE + ALP in resistant patients (LDL-C >70 mg/dl). A randomized, prospective, parallel-group, single-blind study was conducted in patients with coronary artery disease (n = 100) who had undergone percutaneous coronary intervention in the preceding 12 months, were HDS-intolerant, and were not at LDL-C target (<70 mg/dl) with LDS alone. Patients received either LDS + EZE or LDS + ALP. Of the 100 patients, 33 patients (66%) treated with LDS + EZE and 31 patients (62%) treated with LDS + ALP achieved target LDL-C after 3 months, which was maintained at 6 months. Patients who did not achieve the therapeutic goal received a triple combination of LDS + EZE + ALP for a further 3 months. At 6 months, 28 of 36 patients (78%) achieved LDL-C target. Overall, 92% of patients enrolled in this study were at target LDL-C at 6 months. No patients in any group experienced major side effects. In conclusion, in HDS-intolerant coronary artery disease patients, the combination of LDS plus EZE and/or ALP represents a valuable therapeutic option allowing most patients to reach target LDL-C within 3 to 6 months.

Čelutkienė J, Plymen CM, Flachskampf FA, de Boer RA, Grapsa J, Manka R, Anderson L, Garbi M, Barberis V, Filardi PP, Gargiulo P, Zamorano JL, Lainscak M, Seferovic P, Ruschitzka F, Rosano GMC, Nihoyannopoulos P.

Innovative imaging methods in heart failure: a shifting paradigm in cardiac assessment. Position statement on behalf of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2018 Dec;20(12):1615-1633. doi: 10.1002/ejhf.1330. Epub 2018 Nov 9.

Myriad advances in all fields of cardiac imaging have stimulated and reflected new understanding of cardiac performance, myocardial damage and the mechanisms of heart failure. In this paper, the Heart Failure Association assesses the potential usefulness of innovative imaging modalities in enabling more precise diagnostic and prognostic evaluation, as well as in guiding treatment strategies. Many new methods have gradually penetrated clinical practice and are on their way to becoming a part of routine evaluation. This paper focuses on myocardial deformation and three-dimensional ultrasound imaging; stress tests for the evaluation of contractile and filling function; the progress of magnetic resonance techniques; molecular imaging and other sound innovations. The Heart Failure Association aims to highlight the ways in which paradigms have shifted in several areas of cardiac assessment. These include reassessing of the simplified concept of ejection fraction and implementation of the new parameters of cardiac performance applicable to all heart failure phenotypes; switching from two-dimensional to more accurate and reproducible three-dimensional ultrasound volumetric evaluation; greater tissue characterization via recently developed magnetic resonance modalities; moving from assessing cardiac function and congestion at rest to assessing it during stress; from invasive to novel non-invasive hybrid techniques depicting coronary anatomy and myocardial perfusion; as well as from morphometry to the imaging of pathophysiologic processes such as inflammation and apoptosis. This position paper examines the specific benefits of imaging innovations for practitioners dealing with heart failure aetiology, risk stratification and monitoring, and, in addition, for scientists involved in the development of future research.

RosanoGMC, Vitale C.

Diabetes and heart failure

Dialogues in Cardiovascular Medicine, January 2018, 23(2):60-62.

Arcari L, Limite LR, Cacciotti L, Sclafani M, Russo D, Passaseo I, Marazzi G, Ansalone G, Volpe M, Autore C, Musumeci MB.

Response to letter from Madias regarding our article "Admission heart rate and in-hospital course of patients with Takotsubo syndrome"

Int J Cardiol. 2019 Jan 1;274:64.

Adamopoulos S, Corrà U, Laoutaris ID, Pistono M, Agostoni PG, Coats AJS, Crespo Leiro MG, Cornelis J, Davos CH, Filippatos G, Lund LH, Jaarsma T0, Ruschitzka F, Seferovic PM, Schmid JP, Volterrani M, Piepoli MF.

Exercise training in patients with ventricular assist devices: a review of the evidence and practical advice. A position paper from the Committee on Exercise Physiology and Training and the Committee of Advanced Heart Failure of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2019 Jan;21(1):3-13.

Exercise training (ET) and secondary prevention measures in cardiovascular disease aim to stimulate early physical activity and to facilitate recovery and improve health behaviours. ET has also been proposed for heart failure patients with a ventricular assist device (VAD), to help recovery in the patient's functional capacity. However, the existing evidence in support of ET in these patients remains limited. After a review of current knowledge on the causes of the persistence of limitation in exercise capacity in VAD recipients, and concerning the benefit of ET in VAD patients, the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology has developed the present document to provide practical advice on implementing ET. This includes appropriate screening to avoid complications and then starting with early mobilisation, ET prescription is individualised to meet the patient's needs. Finally, gaps in our knowledge are discussed.

Derosa G, Maffioli P, Scelsi L, Bestetti A, Vanasia M, Cicero AFG, Spinardi L, Bentivenga C, Esposti DD5, Caprio M, Borghi C, Pitt B, Cosentino E.

Canrenone on cardiovascular mortality in congestive heart failure: CanrenOne eFFects on cardiovascular mortality in patiEnts with congEstIve hearT failure: The COFFEE-IT study.

Pharmacol Res. Epub 2018 Nov 28.

The aim of the study is to evaluate canrenone effects compared to other therapies on cardiovascular mortality in patients with chronic heart failure (CHF) and preserved systolic function after 10 years of evaluation.

We enrolled 532 patients with CHF and preserved systolic function. Patients were followed with a mean follow-up of 10 years: 166 patients were in therapy with canrenone, while 336 patients were in conventional therapy. We re-evaluated these data after 10 years, together with the rate of death and survival.

Systolic and diastolic blood pressure were lower with canrenone compared to the group not treated with canrenone, both in supine and orthostatism. In the group treated with canrenone we recorded a lower value of fasting plasma glucose and glycated hemoglobin. Uric acid was lower in the group treated with canrenone, no differences were observed regarding creatinine, sodium, potassium, brain natriuretic peptide (BNP), pro-BNP or plasma renin activity (PRA), while aldosterone levels were reduced in canrenone group compared to control. After 10 years, left ventricular mass was lower in canrenone group. We recorded a more pronounced progression of NYHA class in controls compared to patients treated with canrenone, with also a higher number of deaths. A higher number of deaths was recorded in control group in the 68-83 years range compared to canrenone. A higher incidence of death was reported among patients without hypercholesterolemia in control group; this was not significant in patients treated with canrenone. A longer survival was observed in patients treated with canrenone.

Administered to patients with CHF and preserved systolic fraction, reduced mortality and extended the life.

◇

Iellamo F, Volterrani M, Di Gianfrancesco A, Fossati C, Casasco M.

The Effect of Exercise Training on Autonomic Cardiovascular Regulation: From Cardiac Patients to Athletes.

Curr Sports Med Rep. 2018 Dec;17(12):473-479.

Exercise training is increasingly promoted for physical and mental health and represents a major factor in both primary and secondary prevention of cardiovascular (CV) diseases. The beneficial effects of exercise, in part, can be ascribed to adaptations of neural CV regulation through several mechanisms. In this article, we summarize how exercise training affects neural CV regulation and outline the plasticity of neural network in the continuum from cardiac patients to elite athletes.

Pavasini R, Camici PG, Crea F, Danchin N, Fox K, Manolis AJ, Marzilli M, Rosano GMC, Lopez-Sendon JL, Pinto F, Balla C, Ferrari R.

Anti-anginal drugs: systematic review and clinical implications.

Int J Cardiol.2018 Dec 4. [Epub ahead of print]

The cornerstone of the treatment of patients affected by stable angina is based on drugs administration classified as first (beta-blockers, calcium channel blockers, short acting nitrates) or second line treatment (long-acting nitrates, ivabradine, nicorandil, ranolazine and trimetazidine). However, few data on comparison between different classes of drugs justify that one class of drugs is superior to another.

We performed a systematic review of the literature following PRISMA guidelines.

Inclusion criteria:i) paper published in English; ii) diagnosis of stable coronary disease; iii) randomized clinical trial; iv) comparison of two anti-angina drugs; v) a sample size >100 patients; vi) a follow-up lasting at least 2weeks; vii) paper published after 1999, when a meta-analysis of trials comparing beta-blockers, calcium antagonists, and nitrates for stable angina of Heidenreich et al. was published.

Outcome: to establish whether the categorization in first and second line antianginal treatment is scientifically supported.

Eleven trials fulfilled inclusion criteria. The results show that there is a paucity of data comparing the efficacy of antianginal agents. The little data available show that there are not compounds superior to others in terms of improvement in exercise test duration, frequency of anginal attacks, need for sub-lingual nitroglycerin.

The categorization of antianginal drug in first and second line is not confirmed.

Lena A, Coats AJS, Anker MS.

Metabolic disorders in heart failure and cancer.

ESC Heart Fail. 2018 Dec;5(6):1092-1098.

In an aging population, the number of patients affected by heart failure and cancer is constantly increasing and together these two conditions account for more than 50% of all deaths worldwide. Both diseases share similar risk factors including smoking, obesity, and hypertension. Presenting symptoms may also be similar, with patients frequently complaining of dyspnea, fatigue, and anorexia. Many affected patients, especially those with more advanced heart failure or cancer, suffer also from metabolic disorders. These can lead eventually to muscle wasting, sarcopenia, and cachexia. These complications are associated with increased morbidity, a poorer quality of life, a worse prognosis and indeed they represent an independent risk factor for the advancement of the underlying disease itself. Very few therapeutic options have been established to treat these co-morbidities. For sarcopenia the only validated treatment is resistance training. Moreover, there is currently no guideline recommended therapy for the treatment of cachexia. New treatment strategies are urgently needed to prevent and treat muscle and wasting disorders in patients with chronic diseases such as cancer and chronic heart failure.

Pelliccia F, Pasceri V, Patti G, Marazzi G, De Luca G, Tanzilli G, Viceconte N, Speciale G, Mangieri E, Gaudio C.

Uric acid and contrast-induced nephropathy: an updated review and meta-regression analysis.

Postepy Kardiologii Interwencyjnej. 2018;14(4):399-412.

Previous studies have suggested a relationship between serum uric acid and contrast-induced nephropathy (CIN).

We performed an updated review and a meta-regression analysis to assess whether serum uric acid is associated with CIN or there exists any relationship between serum uric acid and other risk factors for CIN.

We searched PubMed, Embase and Cochrane databases and reviewed cited references up to July 31, 2018 to identify relevant studies.

A total of 6,705 patients from 10 clinical studies were included. CIN occurred in 774 of the 6,705 (12%) patients. Baseline uric acid levels were significantly higher in those who developed CIN (6.51 vs. 5.67 mg/dl; 95% CI: 0.55-1.22, $p = 0.00001$). Comparison of clinical features showed that patients with CIN were significantly older (69 vs. 63 years; $p < 0.00001$) and more often had diabetes (42% vs. 32%; $p = 0.002$) and hypertension (67% vs. 59%; $p = 0.03$). Also, patients who developed CIN had lower hemoglobin (12.5 vs.

13.6 mg/dl; $p < 0.00001$) and higher levels of baseline creatinine (1.27 vs. 1.01 mg/dl; $p < 0.0001$), but had similar levels of glycemia, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, and triglyceride. Also, they showed a lower ejection fraction (45% vs. 50%; $p < 0.00001$). Meta-regression analysis revealed that uric acid related only to age ($r = 0.13$, $p = 0.03$).

Our investigation indicates that uric acid is significantly associated with CIN. Uric acid correlated significantly with age only, and not with other major predictors of CIN. Further studies are therefore needed to verify the potential of uric acid to improve CIN risk stratification.

Peluso I, Raguzzini A, Catasta G, Cammisotto V, Perrone A, Tomino C, Toti E, Serafini M.

Effects of high consumption of vegetables on clinical, immunological, and antioxidant markers in subjects at risk of cardiovascular diseases.

Oxid Med Cell Longev. 2018 Oct 8;2018:5417165.

High intakes of vegetables have been associated with a lower incidence of cardiovascular diseases (CVD). However, the effect of vegetables on immune function and antioxidant status in human studies have provided contrasting results. In the present study, after a week of run-in period, 38 subjects at risk of CVD were randomly assigned to one of the following 4-week interventions: low vegetable consumption (800 g of vegetables/week) or high vegetable consumption (4200 g of vegetables/week). Vegetables included carrots, topinambur (Jerusalem artichoke, *Helianthus tuberosus*), tomatoes, red cabbage, and sweet peppers. Blood and salivary samples were collected before and after intervention periods. In addition to clinical, immunological, and antioxidant markers, leukocyte and lymphocyte expression of the gut-homing $\beta 7$ integrin was evaluated. No significant changes were detected in clinical, immunological, and antioxidant markers in biological samples, except for an increase in white blood cell count for the low vegetable consumption group ($p < 0.05$). The study provides additional evidence about the uncertainty of providing a clear evidence for vegetables in modulating markers of immune function and antioxidant status. Further studies are needed in order to unravel the mechanism of effect of vegetable consumption in cardiovascular prevention.

Borg JJ, Melchiorri D, Sepodes B, Caramella CM, Tomino C, Micallef B, Serracino-Inglott A, Nistico R.

Optimising bench science to withstand regulatory scrutiny.

Pharmacol Res. Epub 2018 Oct 12.

Galli M, Cimolin V, Stella G, De Pandis MF, Ancillao A, Condoluci C.

Quantitative assessment of drawing tests in children with dyslexia and dysgraphia.

Hum Mov Sci. 2018 May 7.[Epub ahead of print]

Drawing tests in children diagnosed with dyslexia and dysgraphia were quantitatively compared. Fourteen children with dysgraphia, 19 with dyslexia and 13 normally developing were asked to copy 3 figures: a circle, a square and a cross. An optoelectronic system allowed the acquisition of the drawing track in three-dimensions. The participants' head position and upper limb movements were measured as well. A set of parameters including movement duration, velocity, length of the trace, Range of Motion of the upper limb, was computed and compared among the 3 groups. Children with dyslexia traced the circle faster than the other groups. In the cross test, dyslexic participants showed a reduced execution time and increased velocity while drawing the horizontal line. Children with dyslexia were also faster in drawing certain sides of square with respect to the other groups.

Galli M, Cimolin V, Stella G, De Pandis MF, Ancillao A, Condoluci C.

Quantitative assessment of drawing tests in children with dyslexia and dysgraphia.

Hum Mov Sci. 2018 May 7. pii: S0167-9457(18)30017-4.

Drawing tests in children diagnosed with dyslexia and dysgraphia were quantitatively compared. Fourteen children with dysgraphia, 19 with dyslexia and 13 normally developing were asked to copy 3 figures: a circle, a square and a cross. An optoelectronic system allowed the acquisition of the drawing track in three-dimensions. The participants' head position and upper limb movements were measured as well. A set of parameters including movement duration, velocity, length of the trace, Range of Motion of the upper limb,

was computed and compared among the 3 groups. Children with dyslexia traced the circle faster than the other groups. In the cross test, dyslexic participants showed a reduced execution time and increased velocity while drawing the horizontal line. Children with dyslexia were also faster in drawing certain sides of square with respect to the other groups.

Pilloni G, Pau M, Costici F, Condoluci C, Galli M.

Use of 3D gait analysis as predictor of achilles tendon lengthening surgery outcomes in children with cerebral palsy.

Eur J Phys Rehabil Med. 2018 Aug 27. doi: 10.23736/S1973-9087.18.05326-1. [Epub ahead of print]

In children with spastic Cerebral Palsy (CP), the treatment of equinus foot with Achilles tendon lengthening (ATL) surgery is associated with high incidence of overcorrection, which may result in crouch gait.

This is a cross-sectional retrospective study carried out to the Movement Analysis Lab, IRCCS San Raffaele Pisana Hospital, Rome (ITALY).

Eighteen children (mean age 9.6±4.7 years) with spastic diplegia CP who underwent bilateral ATL surgery to correct equinus foot were involved.

Participants underwent 3D gait analysis before and approximately 12 months after surgery. Primary measures were spatiotemporal, kinematic (summarized by Gait Variable Scores, GVSs) and kinetic parameters. The gait patterns for each leg was defined from kinematic data, using a quantitative classification: Plantar Flexor Knee Extension (PFKE) index. The CP group was split into true equinus and jump gait.

The equinus foot was successfully corrected as demonstrated by the improvement of GVS ankle dorsi-plantarflexion. However, there was a high rate of overcorrection in the true equinus, characterized by increases in knee flexion-extension GVS (8.7° pre vs. 16.7° post P<0.05) and knee flexion angle at initial contact (5.2° vs. 20.6° P<0.05) and by a decrease in the maximum ankle power generated at push-off (1.49 vs. 0.83 W/kg P<0.05).

Assessment of motor phenotype in preoperative time are good predictors of the results of ATL surgery. In children with true equinus gait, the increase of knee flexion subsequent to ATL is an early indicator that this technique will lead to crouch gait. These results show the influence of true equinus and jump gait patterns on the outcomes of the ATL.

Therefore, we propose that this approach could have clinical value to evaluate and prescribe rehabilitation in children with CP disease, proposing different solutions depending on motor phenotype.

Romano A, Moraschi M, Cornia R, Bozzao A, Rossi-Espagnet MC, Giove F, Albertini G, Pierallini A.

White matter involvement in young non-demented Down's syndrome subjects: a tract-based spatial statistic analysis.

Neuroradiology. 2018 Dec;60(12):1335-1341.

Cognitive decline in Down syndrome generally shows neurodegenerative aspects similar to what is observed in Alzheimer's disease. Few studies reported information on white matter integrity. The aim of this study was to evaluate white matter alterations in a cohort of young Down subjects, without dementia, by means of DTI technique, compared to a normal control group.

The study group consisted of 17 right-handed subjects with DS and many control subjects. All individuals participating in this study were examined by MR exam including DTI acquisition (32 non-coplanar directions); image processing and analysis were performed using FMRIB Software Library (FSL version 4.1.9, <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>)) software package. Finally, the diffusion tensor was estimated voxel by voxel and the FA map derived from the tensor. A two-sample t test was performed to assess differences between DS and control subjects.

The FA is decreased in DS subjects, compared to control subjects, in the region of the anterior thalamic radiation, the inferior fronto-occipital fasciculum, the inferior longitudinal fasciculum, and the cortico-spinal tract, bilaterally.

The early white matter damage visible in our DS subjects could have great impact in the therapeutic management, in particular in better adapting the timing of therapies to counteract the toxic effect of the deposition of amyloid that leads to oxidative stress.

Cimolin V, Germiniasi C, Galli M, Condoluci C, Beretta E, Piccinini L.

Robot-Assisted Upper Limb Training for Hemiplegic Children with Cerebral Palsy

J. Dev. Phys. Disabil, in press

The aim of this study is to assess quantitatively the effects of a computer-assisted system (ARMEO Spring system) to improve upper extremity function in hemiplegic children due to Cerebral Palsy (CP), by means of clinical-functional scales and upper limb kinematics. Twenty-one children with hemiplegia were clinically assessed with Quality of Upper Extremities Skills Test and Melbourne Assessment and instrumentally by 3D movement analysis during reaching task. Data were collected before and after 4 weeks of treatment with the ARMEO Spring system. A control group of 15 healthy children was included as reference. After the ARMEO Spring training, the clinical scores improved significantly. In terms of kinematics, the affected limbs improved in terms of the movement duration and velocity, smoothness (Average Jerk) and Number of Movement Unit parameters. From these results, the ARMEO Spring training seems to be a promising intervention for improving upper limb function in hemiplegic children.

Pau M, Condoluci C, Zago M, Galli M.

Men and women with Down syndrome exhibit different kinematic (but not spatio-temporal) gait patterns.

J Intellect Disabil Res. Epub 2018 Oct 29.

Gait phenotypes are well documented in people with Down syndrome (pwDS), but sex-related differences are still unexplored. This study investigated the existence of possible differences in spatio-temporal and kinematic parameters of gait between men and women with DS using quantitative three-dimensional gait analysis.

Gait patterns of 117 pwDS (53 F, 64 M) who underwent a computerised gait analysis from 2002 to 2017 were retrospectively analysed to obtain spatio-temporal gait parameters and kinematics in the sagittal plane at hip, knee and ankle joints, as well as foot progression.

Overall, when considered as a single group, the gait patterns found for pwDS confirmed the findings of previous studies. However, when analysed by sex, our data revealed that women with DS exhibit a larger hip flexion at late stance (42% to 54% of the gait cycle) and reduced knee flexion at the beginning of the swing phase (61% to 69% of the gait cycle). In contrast, men are characterised by larger foot extra-rotation angles through most of the stance phase (from 0% to 55% of the gait cycle) and at the end of the swing phase (92% to 99% of the gait cycle). No differences between men and women with DS were found concerning ankle dorsi-plantar-flexion or in all spatio-temporal parameters normalised by individuals' anthropometry, excluding cadence (higher in women).

The findings of the present study highlight the need to investigate gait dysfunctions in pwDS by taking their sex into consideration. Such an approach may be useful not only in gaining a better understanding of the pathophysiology of gait disturbances associated with DS but also in supporting a better orientation of rehabilitative treatments.

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

A proposal for a kinetic summary measure: the Gait Kinetic Index.

Comput Methods Biomech Biomed Engin.2018 Nov 16:1-6.

A new summary index for kinetic gait data is proposed (Gait Kinetic Index - GKI), BASED on six kinetic selected variables: hip, knee and ankle moments and powers on the sagittal plane. This method was applied on a control group (CG) of 18 subjects and on 57 patients with diplegic Cerebral Palsy (CP). CP showed statistical different GKI value in comparison with CG. The same is for the sub GKI with the exclusion of GKI Knee Power. The GKI seems to be a promising tool useful to measure extensively the gait pathology taking into consideration kinetic aspects of gait pattern.

Ferro A, Morais S, Rota M, Pelucchi C, Bertuccio P, Bonzi R, Galeone C, Zhang ZF, Matsuo K, Ito H, Hu J, Johnson KC, Yu GP, Palli D, Ferraroni M, Muscat J, Malekzadeh R, Ye W, Song H, Zaridze D, Maximovitch D, Aragonés N, Castaño-Vinyals G, Vioque J, Navarrete-Muñoz EM, Pakseresht M, Pourfarzi F, Wolk A, Orsini N, Bellavia A, Håkansson N, Mu L, Pastorino R, Kurtz RC, Derakhshan MH, Lagioui A, Lagioui P, Boffetta P, Boccia S, Negri E, La Vecchia C, Peleteiro B, Lunet N.

Tobacco smoking and gastric cancer: meta-analyses of published data versus pooled analyses of individual participant data (StoP Project).

Eur J Cancer Prev. 2018 May;27(3):197-204.

Tobacco smoking is one of the main risk factors for gastric cancer, but the magnitude of the association estimated by conventional systematic reviews and meta-analyses might be inaccurate, due to heterogeneous reporting of data and publication bias. We aimed to quantify the combined impact of publication-related biases, and heterogeneity in data analysis or presentation, in the summary estimates obtained from conventional meta-analyses. We compared results from individual participant data pooled-analyses, including the studies in the Stomach Cancer Pooling (StoP) Project, with conventional meta-analyses carried out using only data available in previously published reports from the same studies. From the 23 studies in the StoP Project, 20 had published reports with information on smoking and gastric cancer, but only six had specific data for gastric cardia cancer and seven had data on the daily number of cigarettes smoked. Compared to the results obtained with the StoP database, conventional meta-analyses overvalued the relation between ever smoking (summary odds ratios ranging from 7% higher for all studies to 22% higher for the risk of gastric cardia cancer) and yielded less precise summary estimates (SE ≤ 2.4 times higher). Additionally, funnel plot asymmetry and corresponding hypotheses tests were suggestive of publication bias. Conventional meta-analyses and individual participant data pooled-analyses reached similar conclusions on the direction of the association between smoking and gastric cancer. However, published data tended to overestimate the magnitude of the effects, possibly due to publication biases and limited the analyses by different levels of exposure or cancer subtypes.

Corponi F, Bonassi S, Vieta E, Albani D, Frustaci A, Ducci G, Landi S, Boccia S, Serretti A, Fabbri C.

Genetic basis of psychopathological dimensions shared between schizophrenia and bipolar disorder.

Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2019 Mar 8;89:23-29.

Shared genetic vulnerability between schizophrenia (SCZ) and bipolar disorder (BP) was demonstrated, but the genetic underpinnings of specific symptom domains are unclear. This study investigated which genes and gene sets may modulate specific psychopathological domains and if genome-wide significant loci previously associated with SCZ or BP may play a role. Genome-wide data were available in patients with SCZ (n = 226) or BP (n = 228). Phenotypes under investigation were depressive and positive symptoms severity, suicidal ideation, onset age and substance use disorder comorbidity. Genome-wide analyses were performed at gene and gene set level, while 148 genome-wide significant loci previously associated with SCZ and/or BP were investigated. Each sample was analyzed separately then a meta-analysis was performed. SH3GL2 and CLVS1 genes were associated with suicidal ideation in SCZ (p = 5.62e-08 and 0.01, respectively), the former also in the meta-analysis (p = .01). SHC4 gene was associated with depressive symptoms severity in BP (p = .003). A gene set involved in cellular differentiation (GO:0048661) was associated with substance disorder comorbidity in the meta-analysis (p = .03). Individual loci previously associated with SCZ or BP did not modulate the phenotypes of interest. This study provided confirmatory and new findings. SH3GL2 (endophilin A1) showed a role in suicidal ideation that may be due to its relevance to the glutamate system. SHC4 regulates BDNF-induced MAPK activation and was previously associated with depression. CLVS1 is involved in lysosome maturation and was for the first time associated with a psychiatric trait. GO:0048661 may mediate the risk of substance disorder through an effect on neurodevelopment/neuroplasticity.

Valdiglesias V, Marcos-Pérez D, Lorenzi M, Onder G, Gostner JM, Strasser B, Fuchs D, Bonassi S.

Immunological alterations in frail older adults: a cross sectional study.

Exp Gerontol. 2018 Oct 2;112:119-126.

Frailty is a progressive physiologic decline in multiple body systems, characterized by loss of function, loss of physiologic reserve, and increased vulnerability to disease and death. This condition is induced by a complex and multifactorial interaction between genetic, biological, physical, psychological and environmental factors. To understand the interplay between the age-related decline of the immune response, and the upregulation of the inflammatory response, the so called inflammaging, we investigated the role of different inflammatory mediators on frailty status in the elderly. The study was performed in a population of 180 older adults

(≥65years), who were classified according to Fried's frailty phenotype. Plasma concentrations of neopterin, tryptophan, kynurenine, phenylalanine, tyrosine as well as kynurenine/tryptophan (Kyn/Trp) and phenylalanine/tyrosine (Phe/Tyr) ratios were analyzed as immune stimulation biomarkers. In addition, nitrite and C-reactive protein levels were measured as indicators of nitric oxide production and acute inflammation, respectively. Significant increases in neopterin, C-reactive protein and Kyn/Trp ratio, and decreases in tryptophan and nitrite concentrations in frail individuals compared with non-frail group were found. Both Kyn/Trp and Phe/Tyr ratios were significantly and positively correlated with neopterin. A positive correlation between kynurenine and tryptophan was also observed. Four parameters, i.e., neopterin, tryptophan, nitrite and C-reactive protein, were found to be strongly related to frailty status, although only nitrite confirmed its role of predictor after multiple regression analysis, supporting its use as a potential biomarker of frailty. Further investigation is required to strengthen the consistence and reproducibility of these findings, and to establish this parameter as a clinical biomarker of frailty.

Rea F, Calusi G, Franchi M, Vetrano DL, Roberto G, Bonassi S, Kirchmayer U, Chinellato A, Bettiol A, Sultana J, Mugelli A, Corrao G; I-GrADE Investigators.

Adherence of elderly patients with cardiovascular disease to statins and the risk of exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: evidence from an italianreal-world investigation.

Drugs Aging. 2018 Dec;35(12):1099-1108.

The objective of this study was to investigate the relationship between adherence to statin therapy and the risk of exacerbation among elderly individuals affected by chronic obstructive pulmonary disease and cardiovascular disease.

Using the healthcare utilisation databases of five Italian territorial units accounting for nearly 35% of the Italian population, we recruited a cohort of 6263 elderly persons (i.e. aged 65 years or older) with co-existing chronic obstructive pulmonary disease and cardiovascular disease who initiated statin therapy. Exposure was adherence to statins measured by the proportion of days of follow-up covered. Outcome was the first hospital admission for chronic obstructive pulmonary disease occurring in the period of observation. A proportional hazards model was used to estimate the hazard ratio and 95% confidence intervals for the exposure-outcome association, after adjusting for several covariates. A set of sensitivity analyses was performed to account for sources of systematic uncertainty.

During an average follow-up of about 4 years, 1307 cohort members experienced the outcome. Compared with patients with low adherence (proportion of days of follow-up covered ≤40%), those with intermediate (proportion of days of follow-up covered 41-80%) and high (proportion of days of follow-up covered > 80%) adherence exhibited a lower risk of exacerbation of 16% (95% confidence interval 3-27) and 23% (95% confidence interval 10-34).

In a real-world setting, we observed evidence that adherence to statin therapy markedly reduced the risk of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations in elderly patients with co-existing chronic obstructive pulmonary disease and cardiovascular disease. Given the limited and controversial evidence from trials, more randomised controlled trials are urgently needed to better examine the potential benefits of statins as adjunct therapy in chronic obstructive pulmonary disease.

LINEA 3

Innovazione in medicina e riabilitazione

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, è stato commercializzato un esoscheletro indossabile (Ekso™) per il riapprendimento assistito della locomozione. Tuttavia, la letteratura scientifica non presenta studi clinici sulla riabilitazione del cammino mediante esoscheletro. L'esoscheletro è un sistema robotico utile per la riabilitazione del ciclo del passo nei pazienti neurologici. Il dispositivo permette di guidare gli arti inferiori accompagnando il cammino con un pattern deambulatorio pre-impostato, fornendo un feedback propriocettivo al paziente.

I deficit della deambulazione nei pazienti post-ictus possono essere trattati con un training del passo con esoscheletro Ekso con beneficio, in termini di miglioramento del deficit di forza degli arti inferiori e dell'autonomia della marcia. Questo trattamento riabilitativo prevede la simulazione del cammino attraverso un esoscheletro indossabile EKSO (EKSO Bionics, Richmond, CA, US) ai fini di promuovere la prevenzione delle complicanze da immobilità e di ridurle, tramite un sistema tecnologico robotico in grado di fare deambulare la persona solamente come esercizio. Tale sistema Ekso essendo uno strumento di riabilitazione utile per mantenere la stazione eretta favorisce quindi il metabolismo osseo, l'attività cardio-respiratoria, quella sfinterica, ecc.

Gli obiettivi dello studio sono:

- 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

Si presume che la riabilitazione robotica del cammino trasmettendo un corretto schema del passo comporti un riapprendimento motorio, riattivando i processi di neuro plasticità cerebrale. Quindi, si ipotizza che il training deambulatorio attraverso l'esoscheletro sia un trattamento almeno equivalente a quello tradizionale over-ground. Ci si aspetta che i pazienti trattati con l'esoscheletro raggiungano uno schema del passo più corretto e di conseguenza una migliore gestione della deambulazione, probabilmente anche con i tempi di recupero funzionale più brevi, rispetto a chi segue un trattamento di tipo tradizionale.

L'esoscheletro Ekso è dotato di 4 motori per la mobilizzazione di anca e ginocchio che permette l'alzata, la seduta e la deambulazione. Ogni singolo passo è innescato dal soggetto tramite il trasferimento di carico da un arto al controlaterale secondo una modalità personalizzata in fase di settaggio iniziale del dispositivo.

Tutti i pazienti sono sottoposti a 15 sessioni (3 volte/settimana, durata 1 ora) di riabilitazione del cammino; il trattamento è eseguito in modo tradizionale se il soggetto è assegnato al gruppo di controllo, oppure mediante trattamento con esoscheletro robotizzato indossabile (Ekso) se il soggetto è assegnato al gruppo sperimentale. Le funzioni e le strutture corporee, le attività e la partecipazione sono valutate per ciascun soggetto all'inizio (t0), alla fine (t1) del periodo di training riabilitativo e a distanza di 3 mesi dal la fine del trattamento (t2). Sono state le seguenti scale cliniche: Modified Ashworth Scale (MAS), Motricity Index (MI); Trunk Control Test (TCT); Functional Ambulation Classification (FAC); 10-meter walking test (10mwt); 6-minute walking test (6mwt); Walking Handicap Scale (WHS); Time Up and Go (TUG). L'outcome primario scelto è la distanza percorsa durante il 6mwt. È utilizzato il test di Wilcoxon per campioni appaiati per rilevare variazioni significative ($p < 0.05$) tra t0 e t1.

Nel 2018 è proseguita la sperimentazione della riabilitazione del cammino, facendo lo screening di circa 200 pazienti post-ictus afferenti a tutti i centri partecipanti allo studio multicentrico. Sono stati reclutati 62 pazienti. Sono state condotte delle analisi preliminari di uno studio osservazione su un campione complessivo di 47 pazienti post-ictus (età media: 56.9 ± 14.1) in fase sub-acuta (distanza

evento acuto inferiore a 6 mesi, tempo medio: 67±48 giorni) che ha eseguito il training deambulatorio attraverso l'esoscheletro associato alla riabilitazione tradizionale.

Dalle prime analisi, si osserva un miglioramento del deficit di forza degli arti inferiori (MI) e dell'autonomia della marcia (6mwt). Non si è verificato un aumento della spasticità. Il trattamento è stato ben tollerato e ben accettato dai pazienti.

Inoltre, è in corso lo studio randomizzato controllato (RCT). Sono state condotte le analisi preliminari su 70 soggetti dove i soggetti sono suddivisi in 2 gruppi: 27 soggetti (64±9.9 anni) assegnati al gruppo di controllo (CG) e 43 (57.0±14.5 anni) assegnati al gruppo sperimentale (EG). Dalle prime analisi si evince che l'EG ha acquisito un miglioramento significativamente maggiore nelle seguenti scale cliniche: MI, TUG e 6mwt.

L'attività di ricerca attesa per il prossimo anno riguarderà l'analisi dei segnali elettrofisiologici acquisiti, la conclusione del reclutamento dei pazienti, e l'analisi statistica finale sui dati clinici acquisiti. E' necessario anche completare i follow-up per confermare questi dati ottenuti.

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

Considerando l'incremento della popolazione anziana fragile, l'aumentata incidenza di condizioni cliniche croniche e le crescenti richieste di cure personalizzate si rendono sempre più necessari nuovi approcci e sistemi per l'erogazione di servizi in ambito assistenziale, sanitario e riabilitativo. In questo scenario, la Teleriabilitazione potrebbe aiutare a superare molte difficoltà del SSN (socio-sanitarie, economiche, gestionali), tramite l'erogazione di trattamenti riabilitativi domiciliari personalizzati (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.

La Rete di Neuroscienze rappresentata da 18 Istituti di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS) diffusi sul territorio nazionale si sta dedicando allo sviluppo ed implementazione di un Network Italiano di Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale del paziente neurologico. Tale progetto è basato su un innovativo sistema per la riabilitazione domiciliare con controllo remoto. Lo studio ha come obiettivo la valutazione della fattibilità e dell'efficacia di un sistema di teleriabilitazione domiciliare in differenti contesti territoriali su soggetti con le seguenti patologie neurologiche: ictus, malattia di Parkinson e sclerosi multipla.

Si intende:

- Valutare la fattibilità di un sistema di teleriabilitazione domiciliare in differenti contesti territoriali;
- Raccogliere dati relativi ai bisogni degli utenti (pazienti e caregivers);
- Raccogliere dati sui trattamenti e le valutazioni cliniche e strumentali derivanti dalla reportistica implementata nel sistema;
- Raccogliere dati clinici per le analisi di costo-efficacia.

Si tratta di un primo studio italiano multicentrico sui servizi di teleriabilitazione per pazienti neurologici cronici che coinvolge 18 IRCCS.

In ogni Centro Partecipante (CP) i pazienti arruolati ricevono un trattamento da remoto mediante un sistema di realtà virtuale in dotazione a tutti i CP. Prima che il trattamento domiciliare inizi (T1) e al termine dello stesso (T2), i pazienti vengono valutati da personale differente rispetto ai professionisti che erogano i trattamenti. Oltre ai dati clinici vengono raccolti anche i dati relativi a fattibilità e costi. I dati raccolti sono resi anonimi e custoditi in un database ad hoc. I dati raccolti vengono confrontati con i dati omologhi, dove disponibili, riferibili all'attività di riabilitazione domiciliare, prodotti dalle diverse Aziende Sanitarie Locali di appartenenza.

L'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma recluterà: 20 pazienti con esiti di Ictus; 20 pazienti con malattia di Parkinson; e 10 pazienti con Sclerosi Multipla.

Nel corso del 2018 l'attività è stata focalizzata sullo studio delle caratteristiche tecniche e delle potenzialità dei sistemi di teleriabilitazione acquistati. Sono stati definiti i protocolli specifici per ogni

patologia e i set di esercizi, con i relativi parametri. Il reclutamento dei pazienti è iniziato nel mese di Ottobre e sono stati inclusi nello studio tre pazienti con esiti di Ictus, tre pazienti con malattia di Parkinson e 2 pazienti con Sclerosi Multipla.

Nel corso del 2019 si prevede di completare il reclutamento dei pazienti e l'acquisizione dei dati.

Monitoraggio della terapia robotica dell'arto superiore in persone con disabilità da ictus cerebrale: analisi di parametri biomeccanici del robot

La compromissione funzionale dell'arto superiore si verifica in oltre l'85% dei sopravvissuti ad ictus, con un impatto significativo a lungo termine sulle attività di vita quotidiana (ADL), e sulle prestazioni lavorative. In questo contesto, la terapia assistita da robot - Robot-assisted Therapy (RT) fornisce un trattamento intensivo, ripetitivo, specifico ed interattivo dell'arto superiore. Diversi studi hanno mostrato l'efficacia della RT degli arti superiori, associata alla terapia convenzionale, nel migliorare la funzione motoria nei pazienti con ictus, confrontandola con i trattamenti convenzionali. Tuttavia, nonostante il ruolo della RT nella riabilitazione dell'ictus, il monitoraggio delle prestazioni del paziente durante il trattamento riabilitativo è ancora poco studiato anche se i dispositivi robotici possono registrare dati cinematici e di forza, che possono essere utilizzati come misura di valutazione rapida e oggettiva per rilevare i cambiamenti nelle prestazioni del paziente dopo ogni seduta riabilitativa.

Si intende effettuare l'analisi dei dati cinematici acquisiti da un robot planare end-effector per la terapia dell'arto superiore in pazienti con ictus subacuto, al fine di rilevare cambiamenti nelle prestazioni motorie del paziente dopo ogni sessione di riabilitazione.

L'obiettivo si prefigge di:

- analizzare le traiettorie point-to-point eseguite con il robot end-effector in diverse direzioni,
- calcolare i parametri cinematici appartenenti a diversi domini ICF e analizzare le variazioni tra le sedute riabilitative.

Il progetto si pone come obiettivo il monitoraggio del trattamento riabilitativo mediante l'analisi di parametri quantitativi acquisiti dal robot.

Sono stati analizzati i dati demografici, clinici e strumentali di 68 pazienti con esiti da ictus in fase subacuta che hanno eseguito RT dell'arto superiore con il sistema InMotion2 (Interactive Motion Technologies, Inc., Cambridge, MA, USA) per almeno 20 sedute. I dati biomeccanici strumentali relativi al movimento dell'end-effector del robot durante ogni singola seduta riabilitativa sono stati estratti dall'hard disk del robot. Sono stati calcolati i seguenti parametri cinematici: accuratezza, velocità, numero di picchi del profilo di velocità, tempo di esecuzione del task. Sono state analizzate separatamente le quattro principali direzioni di movimento.

Alla prima seduta di RT, i movimenti sono meno precisi e fluidi e mostrano tempi di esecuzione del gesto più alti rispetto ai movimenti eseguiti alla fine della terapia. Differenze significative dei parametri cinematici sono state evidenziate nelle prime 5/10 sessioni. Successivamente non ci sono variazioni significative. Nel 2019 si intende analizzare i predittori di outcome favorevole al termine della RT dell'arto superiore.

La riabilitazione con realtà virtuale Khymeia in pazienti con sostituzione totale di ginocchio: valutazione clinica e strumentale

Il deficit propriocettivo potrebbe rappresentare un fattore peggiorativo per quanto concerne la deambulazione dei pazienti con gonartrosi, anche dopo sostituzione protesica totale. Recenti studi sull'utilizzo della Realtà Virtuale (RV) in riabilitazione, mostrano la sua efficacia nel recupero delle abilità propriocettive, del controllo posturale e del cammino. Tuttavia, attualmente la letteratura è carente di tali studi su pazienti con protesi totale di ginocchio (PTG).

Il Virtual Reality Rehabilitation System (VRRS) potrebbe intensificare un training propriocettivo e dell'equilibrio nei pazienti con la PTG comportando un miglioramento di gestione del cammino.

Lo studio mira alla riabilitazione del paziente operato di protesi elettiva di ginocchio attraverso la realtà virtuale. Si intende:

- Osservare differenze nella ripartizione del carico bi podalico nel gruppo che esegue una rieducazione con realtà virtuale rispetto a coloro che eseguono il trattamento tradizionale,
- 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,
- Osservare differenze nei pattern neurofisiologici nei due gruppi.

Ci si aspetta che la riabilitazione attraverso il sistema di Realtà Virtuale possa velocizzare i tempi di recupero nei pazienti con la Protesi Totale di Ginocchio e quindi ridurre i tempi di ospedalizzazione con gli stessi risultati che si possono ottenere da una riabilitazione di tipo tradizionale.

Il VRRS potrebbe essere utilizzato per la continuità assistenziale come uno strumento di tele-riabilitazione.

Entro 10 giorni dall'intervento sono stati reclutati 38 pazienti con PTG: 26 (64 ± 12 anni) gruppo di RV (GRV); 12 (71 ± 4) gruppo di controllo (GC). Tutti i soggetti hanno condotto 15 sessioni di 45 minuti ognuna (5 volte / settimana) di esercizi di propriocezione e controllo posturale con RV (GRV) o di tipo tradizionale (GC). Il GRV ha utilizzato il Virtual Reality Rehabilitation System (VRRS-Khymeia, Italia) in piedi su una balance board interagendo con dei videogames tramite un bio-feedback visivo in tempo reale. Tutti i soggetti sono stati valutati clinicamente prima (T1) e dopo (T2) il ciclo riabilitativo, e 25 (14 VRG: 64 ± 12 anni; 11 CG (71 ± 4)) hanno eseguito anche l'analisi del cammino (BTS SMART-DX, Italia) al T1 e T2. Il Wilcoxon test ($p < 0,05$) è stato utilizzato per rilevare differenze significative tra T1 e T2.

Non ci sono differenze significative tra i gruppi a T1. Analisi statistiche longitudinali rilevano miglioramenti significativi in ambedue i gruppi in: 10 metres walking test (10mWT), Medical Research Council Quadriceps Femoris scale (MRC QF), Medical Research Council Tibialis Anterior scale (MRC TA) e Visual Analogue Scale (VAS). Miglioramenti significativi nel Timed Up and Go test (TUG) è stato osservato solo nel GVR.

Risultati preliminari ottenuti dall'analisi del cammino hanno confermato i risultati clinici, rilevando una variazione significativa dei parametri spazio-temporali solo a favore del VRG.

Il ruolo della propriocezione nel controllo posturale pre e post terapia riabilitativa è stato valutato con un'indagine strumentale della postura. In particolare, sono stati elaborati i dati acquisiti da 2 piattaforme di forza durante task di mantenimento della stazione eretta ad occhi aperti e chiusi. Per tutti i soggetti partecipanti allo studio sono stati calcolati parametri posturografici relativi alle oscillazioni del Centro di Pressione (Center Of Pressure, COP).

Nel corso del 2019 si concluderà il reclutamento dei pazienti, l'analisi statistica dei dati clinici e strumentali (cammino e postura) acquisiti, e la preparazione di articoli scientifici sui risultati ottenuti.

Il VRRS riduce i tempi di recupero delle capacità motorie (cammino, controllo posturale e cambio di direzione) nei pazienti con PTG rispetto alla terapia tradizionale. I risultati ottenuti suggeriscono ulteriori indagini strumentali sulle attività di sit-to-stand e balance. Il sistema di realtà virtuale è un sistema innovativo che può permettere ai pazienti con PTG una continuità assistenziale.

Training riabilitativo con realtà virtuale semi-immersiva (Nirvana) in pazienti con artroprotesi di ginocchio: effetti clinici e funzionali

Nel corso degli ultimi anni i parametri "Soddisfazione" del paziente e "Qualità della vita" hanno acquistato sempre più importanza sia nella valutazione del paziente che necessita di riabilitazione, sia nella ricerca di tecnologie innovative, quali ad esempio la Robotica e la Realtà Virtuale. In alcuni lavori, il parametro soddisfazione del paziente è stato proposto come misura di outcome per definire la validità di una procedura. Nei pazienti con impianto di artroprotesi di ginocchio si verifica anche una riduzione delle afferenze propriocettive provenienti dall'articolazione operata e quindi per questo motivo si è integrato il protocollo riabilitativo con l'utilizzo della realtà virtuale.

La riabilitazione dei pazienti sottoposti ad impianto protesico (anca e ginocchio) si avvale di tecniche che includono la realtà virtuale.

Precedentemente queste erano principalmente utilizzate nei pazienti neurologici in quanto soggetti a problematiche di deficit di esplorazione spaziale, di percezione, di alterazione delle prassie e dell'attenzione.

La modalità di realtà virtuale fornisce una stimolazione integrata multisensoriale in tempo reale per ottimizzare l'apprendimento e l'organizzazione motoria.

Durante l'esercizio con la realtà virtuale vengono fornite informazioni principalmente sulla visualizzazione del movimento ed il feedback della performance, entrambi in tempo reale.

Si assiste ad una attivazione centrale come avviene per la "mirror therapy". Si ipotizza un particolare coinvolgimento del nucleo latero-ventrale posteriore della corteccia prefrontale (che si attiva soprattutto nella pianificazione dell'azione motoria e nella ricerca di reperi attentivi per generare la successiva risposta in base al contesto ambientale).

Nell'uomo la corteccia prefrontale si attiva sia durante la codifica, che durante il recupero delle tracce di memoria; avviene durante lo svolgimento di compiti che coinvolgono la memoria di lavoro, nelle sue sotto-componenti di memoria visuospatiale e verbale.

La corteccia prefrontale è dunque l'area associativa multimodale, e riceve fibre afferenti da molte strutture corticali e sottocorticali.

La realtà semi-immersiva NIRVANA è basata sull'utilizzo di sensori optoelettronici ad infrarossi attraverso i quali il paziente interagisce con uno scenario virtuale eseguendo una serie di esercizi e ricevendo un feedback di risposta dal sistema, il quale inoltre analizza anche il movimento eseguito dal paziente stesso.

A tutt'oggi, l'esercizio in acqua sembra apportare effetti benefici non solo sul dolore post-operatorio, ma anche sulla funzionalità articolare e sulla qualità di vita. L'idrochinesiterapia agisce sulla riduzione del tono muscolare, sull'aumento della soglia del dolore, sul miglioramento del ritorno venoso e quindi sull'edema. Quindi l'idrochinesiterapia svolgerebbe un'azione sul rilassamento della muscolatura, incrementando l'ampiezza dei movimenti e stimolando il riassorbimento del versamento intra-articolare e dell'edema extra-articolare.

Questo progetto di ricerca si inserisce in questo contesto che ha come obiettivo l'analisi degli effetti del trattamento idrochinesiterapico virtuale mediante il sistema di realtà semi-immersiva NIRVANA su pazienti con protesizzazione del ginocchio.

Lo studio si prefigge di:

- Valutare la fattibilità di un trattamento idrochinesiterapico virtuale mediante il sistema di realtà semi-immersiva NIRVANA;
- Valutare gli effetti di un trattamento idrochinesiterapico virtuale rispetto all'idrochinesiterapia tradizionale e rispetto ad un gruppo di controllo;
- Raccolta dei dati clinici per le analisi di costo-efficacia e di valutazione della compliance della tecnologia.

Ci si aspetta di poter effettuare una valutazione quantitativa della fattibilità, compliance, e degli effetti dell'idrochinesiterapia virtuale in pazienti con protesi di ginocchio. Viene effettuata la comparazione tra pazienti che eseguono esercizi riabilitativi in terapia di gruppo classica, in gruppo con realtà virtuale e con esercizi in acqua con lo scopo di analizzare eventuali differenze tra i diversi tipi di trattamento. Se così fosse, dopo questo studio pilota si potrebbero indagare gli eventuali meccanismi in causa.

L'idea innovativa di tale lavoro è quella di far svolgere l'attività in realtà virtuale utilizzando uno scenario che riproduca quello della piscina per idrochinesiterapia.

Il disegno dello studio è Randomizzato Controllato (RCT), ed i pazienti sono suddivisi in 3 gruppi di lavoro:

1. gruppo nel quale il paziente effettua terapia riabilitativa tradizionale e terapia di gruppo tradizionale;
2. gruppo nel quale il paziente effettua terapia riabilitativa tradizionale e terapia con realtà virtuale semi-immersiva (Nirvana)
3. gruppo nel quale il paziente effettua terapia riabilitativa tradizionale ed idrochinesiterapia.

Ciascun gruppo ha almeno 10 pazienti ed il paziente è sottoposto al trattamento riabilitativo standard per 45 minuti al giorno almeno 5 volte alla settimana, alla realtà virtuale con Nirvana per 45 minuti al giorno e per almeno 5 volte alla settimana ed infine alla Idrochinesiterapia per 45 minuti al giorno.

Per quanto riguarda l'ultimo gruppo, non essendo l'IRCCS San Raffaele Pisana dotato attualmente di vasca per idrochinesiterapia, è stata ricercata la collaborazione con la LU.de.S.

I pazienti effettuano la stessa tipologia di esercizi con la medesima successione e durata sia nella terapia di gruppo classica, sia nella realtà virtuale Nirvana e nella seduta di idrochinesiterapia; la caratteristica comune inoltre è quella di essere esercizi tutti eseguibili in regime di idrochinesiterapia per permettere poi il confronto tra i vari gruppi.

L'attività del 2018 ha avuto come principale obiettivo lo studio della letteratura presente sull'argomento e la definizione del protocollo sperimentale. Sono stati osservati clinicamente circa 10 pazienti mostrando che l'idrochinesiterapia virtuale semi-immersiva migliora il dolore post-operatorio, con una buona compliance da parte dei pazienti. Nel corso del 2019 verranno completati il reclutamento dei soggetti e l'acquisizione dei dati.

AREA DI RICERCA EPIDEMIOLOGIA CLINICA E MOLECOLARE

Studio della 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 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 azoto liquido, 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: 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); esami strumentali (ECG/ spirometria/pressione arteriosa); visita medica/esame obiettivo; esami ematochimici/emocromo/urine; stili di vita/esposizione ambientale/eventi stressanti/relazioni sociali; anamnesi di comorbidità medica/Charlson comorbidity index; 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); analisi dei polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) 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.

Seguendo un approccio di SM, sono state raccolte ed analizzate 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).

Gender	<i>Male</i>	46.1%
	<i>Female</i>	53.9%
Age (years)		72 (\pm 8.7)
Years of Education		8.88 \pm 3.88
Marital Status	<i>single</i>	4.49%
	<i>married</i>	55.06%
	<i>divorced/widow</i>	40.45%
Smoking habit	<i>Never Smoker</i>	11.2%
	<i>Current Smoker</i>	16.9%
	<i>Ex Smoker</i>	61.8%
Drinking habit	<i>No drinkers</i>	42.7%
	<i>Drinker</i>	43.8%
Occupational Status	<i>Worker</i>	14.61%
	<i>Retired</i>	65.17%
	<i>Housewife</i>	8.99%
BMI		27.3 (\pm 7.6)
O₂ Therapy		33.7%
Corticosteroids therapy		100%
MRC dyspnea grade	<i>Admission</i>	4 \pm 0
	<i>Dismission</i>	3.38 \pm 0.55
Borg grade	<i>Admission</i>	7.90 \pm 0.92
	<i>Dismission</i>	5.20 \pm 2.48
SGRQ-Total points	<i>Admission</i>	49.01 \pm 15.37
	<i>Dismission</i>	43.60 \pm 15.00
6MWD (Responders: \geq30 m)		69.7%
MRF26	<i>Admission</i>	73.15 \pm 14.05
	<i>Dismission</i>	48.91 \pm 17.92
Barthel	<i>Admission</i>	69.46 \pm 21.95
	<i>Dismission</i>	86.16 \pm 16.31
FEV₁	<i>Admission</i>	49.36 \pm 24.54
	<i>Dismission</i>	62.67 \pm 28.05
MMSE		27.12 \pm 2.82
MoCa		25.00 \pm 3.58
CES-D		10.96 \pm 10.44
Zung		28.88 \pm 8.54
BDI-II		13.93 \pm 8.17
AUL	<i>Admission</i>	4.99 \pm 1.76
	<i>Dismission</i>	5.43 \pm 1.25
IADL	<i>Admission</i>	5.50 \pm 2.46
	<i>Dismission</i>	6.17 \pm 2.22
SF-36 General Health		72.24 \pm 12.29
SF-36 Mental Health		62.45 \pm 9.99
CIRS-severity/ CIRS-comorbidity		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

	N.	%TI PR ($x \pm SD$)	before %TI after PR ($x \pm SD$)	Δ TI	p value <i>Students' paired t test</i>
All patients	89	19.6 \pm 7.3	21.82 \pm 7.20	2.46	0.0001
Oxygen supplementation					
Yes	28	21.4 \pm 8.6	24.5 \pm 8.6	3.14	0.0086
No	56	18.4 \pm 6.4	20.5 \pm 6.0	2.11	0.0020
Response to Pulmonary Rehabilitation					
Yes	58	20.00 \pm 8.2	21.8 \pm 6.8	1.78	0.0040
No	26	17.9 \pm 4.5	21.9 \pm 8.2	3.97	0.0014

Table 3. Comparison of the level of DNA damage (%TI) before and after rehabilitation in selected subgroups (Patients n=89)

La BPCO mostra diversi segni distintivi dell'invecchiamento e un alto livello di stress ossidativo. Il danno al DNA ha mostrato un aumento molto significativo dopo tre settimane di Riabilitazione Respiratoria.

Danni più elevati al DNA sono stati osservati nei non responder e nei pazienti sottoposti a terapia con ossigeno.

La risposta alla riabilitazione differisce tra i pazienti che chiedono un trattamento personalizzato.

Il danno al DNA nei pazienti con BPCO può rappresentare un marcatore biologico significativo di risposta

La gestione della BPCO risulta complessa: in Italia è una malattia respiratoria molto diffusa con alti costi e sostenibilità per il SSN. Nondimeno, il numero di reparti ospedalieri di riabilitazione respiratoria e di posti letto continua a diminuire senza alternative organizzative coerenti. Gli strumenti riportati dalle linee guida della Regione Lazio per la riabilitazione respiratoria comprendono 6' Walking test(6MWT), scala di Borg, Medical Research Council Scale (MRC), Mageri Respiratory Failure questionnaire (MRF26) e Body Mass Index (BMI). La nostra sfida è fornire agli specialisti nuovi strumenti in grado di valutare ampiamente lo stato globale e il profilo specifico dei pazienti, supportando scelte cliniche e decisioni riabilitative con strategie predittive. L'effettiva possibilità di ridurre le esacerbazioni e le riospedalizzazioni è di fondamentale importanza per la sostenibilità del sistema sanitario, alla luce dei costi sempre maggiori in una popolazione che invecchia sempre più.

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 le persone anziane, 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 educazionali. In questo contesto, l'anziano fragile, cioè la fascia maggiormente affetta da declino fisico, psichico, sociale, che può rappresentare fino al 20% di tutte le persone anziane, 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, riduca il numero delle cadute tra gli anziani (soggetti > 65 anni) ad elevato rischio di caduta.

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.

Endpoints Secondari:

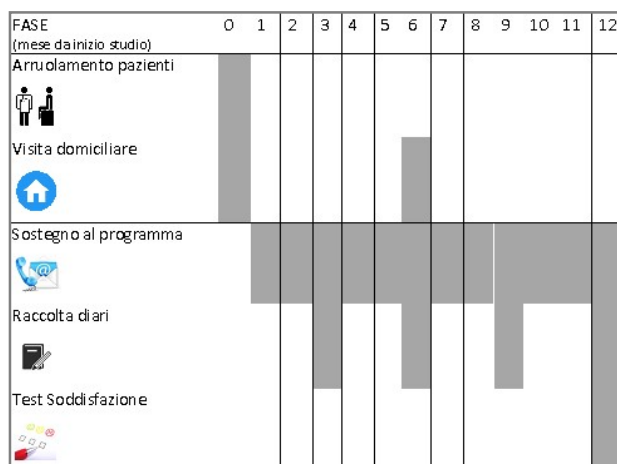
- Valutazione comparativa, a 1 anno dall'inizio dello studio, del numero di ammissioni al Pronto Soccorso inerenti all'evento "caduta" riportate dal paziente al medico nei due gruppi di studio.
- Valutazione comparativa, a 1 anno dall'inizio dello studio, del tipo e numero di accessi a visita specialistica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

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

Per ogni Medico di Medicina Generale vengono reclutati i primi 20 pazienti che arrivano ad osservazione (visita in studio, visita domiciliare, visita domiciliare programmata). Di questi, 10 pazienti sono randomizzati per ricevere una lista di istruzioni e suggerimenti per evitare le cadute in ambito domestico, unitamente a specifiche raccomandazioni in merito ad una corretta nutrizione. L'intervento è focalizzato sul counselling medico e comportamentale, sulla valutazione dei fattori di rischio domestici (con visita a domicilio del paziente) e su un programma di attività fisica. Gli altri 10 soggetti sono seguiti secondo "normal practice" misurando e riportando gli end points dello studio con la stessa tempistica utilizzata per il gruppo di trattamento. Per garantire un analogo senso di coinvolgimento nello studio e per evitare discriminazioni di rilevanza etica, a questi pazienti vengono proposte le stesse raccomandazioni in merito 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, Fase 0 (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:



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

La raccolta dei 2.100 pazienti è stata rallentata dalla difficoltà di dover ottenere l'approvazione da parte di oltre 50 comitati etici. Al gennaio 2018 sono stati ottenuti quasi tutte le approvazioni escluso

alcuni comitati etici della Puglia. Sono stati reclutati finora circa 1.700 pazienti ed è previsto il raggiungimento del target previsto nei prossimi mesi.

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.

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 > 65 anni.

Disegno dello studio: 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 ≥ 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).

L'uso di statine per la prevenzione cardiovascolare secondaria è associato alla riduzione del rischio di frattura negli anziani (Figura 1).

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%)
≥ 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

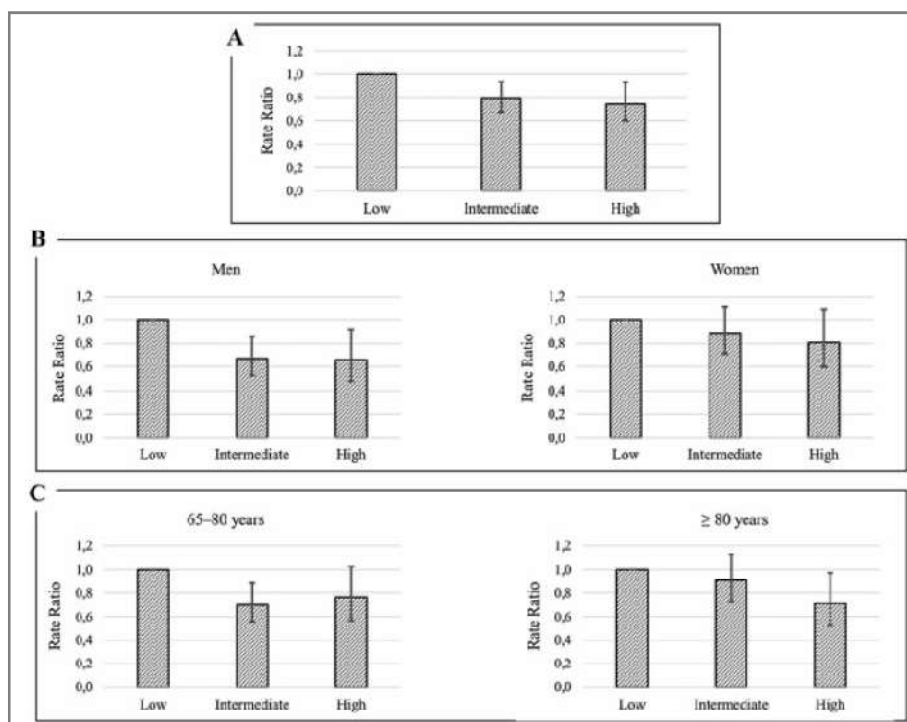


FIGURA 1. Effetto dell'aderenza alla terapia con statine sul tasso di fratturane nell'intera coorte (Casella A) e in base al genere (Casella B) e all'età alla data dell'evento (Casella C).

Nel corso del 2018 le correlazioni con le cadute sono state estese al diabete.

- CORRELAZIONI DIABETE E CADUTE**
1. Composizione del Campione in generale (Intervento, Controllo, Popolazione generale, Popolazione diabetica)
 2. % Schede compilate (*)
 - a. Sono considerate come compilate le schede che riportano almeno una registrazione di una voce del diario.
 3. % Completamento delle Schede
 4. Caratteristiche demografiche (sesso, età, luogo di residenza: capoluogo / provincia) dei Pazienti Diabetici
 5. Anni alla diagnosi di Diabete
 6. Stratificazione della popolazione diabetica secondo i criteri di inclusione (Protocollo)
 7. Comorbidità:
 - > Diabete + patologie cardio vascolari
 - > Diabete + patologie osteoarticolari
 - > Diabete + neuropatie
 8. Politerapia (assunzione di un numero maggiore o uguale a 8 farmaci di qualsiasi tipo)
 9. Trattamenti farmacologici: farmaci per diabete (nei diabetici) e farmaci per comorbidità (nei diabetici)
 10. Possibilità di rilevare tipologia di modello terapeutico in pazienti politrattati con farmaci antidiabete:
 - > metformina + insulina
 - > metformina + incretine
 - > etc
 11. Numero complessivo di cadute sia nella popolazione generale che nei diabetici
 12. Stratificazione del numero di cadute/paziente sia nella popolazione generale che nei diabetici
 13. Esiti delle cadute secondo la classificazione delle azioni successive alle cadute (Protocollo) sia nella popolazione generale che nei diabetici.

Dati generali:			
Arruolamento	Complessivi	Diabetici	Prevalenza
Intervento	883	269	30,46%
Controllo	889	278	31,27%
Complessivi	1772	547	30,87%

Pazienti con Schede compilate:			
Arruolamento	Complessivi	Compilate	%
Intervento	883	678	76,78%
Controllo	889	685	77,05%
Complessivi	1772	1363	76,92%

Pazienti con schede completate su compilate:			
Arruolamento	Compilate	Complete	%
Intervento	678	450	66,37%
Controllo	685	497	72,55%
Complessivi	1363	947	69,48%

Stratificazione dei pazienti per sesso ed età:				
Fascia d'età	Femmine	Maschi	Totale	%
<70	113	71	184	10,38%
<80	487	315	802	45,26%
<90	411	221	632	35,67%
<100	115	39	154	8,69%
Complessivi	1126	646	1772	100,00%
	%	63,54%	36,46%	

Stratificazione dei diabetici per sesso ed età:

Fascia d'età	Femmine	Maschi	Totale	%
<70	41	27	68	12,43%
<80	154	121	275	50,27%
<90	93	77	170	31,08%
<100	23	11	34	6,22%
Complessivi	311	236	547	100,00%
	%	56,86%	43,14%	

Stratificazione secondo i criteri di inclusione (tutti i pazienti):

Criterio	Non disp.	%	Si	%
Storia di precedenti cadute	224	40,95%	196	35,83%
Isolamento sociale	258	47,17%	72	13,16%
Polifarmacoterapia (>= 5 farmaci)	0	0,00%	345	63,07%
Farmaci che aumentano il rischio di cadute	0	0,00%	380	69,47%
Alterazione della mobilità*	203	37,11%	222	40,59%
Alterazioni della vista o utilizzo di lenti multifocali	0	0,00%	332	60,69%
Malattie cerebrovascolari o cardiovascolari	1	0,18%	506	92,50%
Difficoltà nell'estensione delle ginocchia	216	39,49%	211	38,57%
Confusione mentale	0	0,00%	126	23,03%
Clearance della Creatinina <65 ml/min	332	60,69%	100	18,28%
Artrite e/o artrosi	0	0,00%	476	87,02%

Comorbidità (tutti i pazienti):

Patologia	%
Malattie cerebrovascolari o cardiovascolari	92,50%
Neuropatie	0%
Patologie Osteoarticolari	87,02%

←---- Dato derivato dai criteri di inclusione (malattie cerebrovascolari e cardiovascolari)
←---- ICD-IX 356.0 e 356.8, l'incapacità psichica non era un fattore
←---- Dato derivato dai criteri di inclusione (artrite e/o artrosi)

Polifarmacoterapia (tutti i pazienti):

Numero farmaci	%
Polifarmacoterapia (>= 5 farmaci)	63,07%
Polifarmacoterapia (>= 8 farmaci)	47,71%

←---- Dato derivato dai criteri di inclusione

POLITERAPIA DIABETICA				
TRATTAMENTO	ACARBOSE	ASSOC. PRECOST.	GLINDI	GLITAZIONI
ACARBOSE		0,00%	7,14%	0,00%
ASSOC. PRECOST.	0,00%		15,79%	0,00%
GLINDI	3,03%	18,18%		6,06%
GLITAZIONI	0,00%	0,00%	40,00%	
INCRETINE	6,25%	9,38%	40,63%	6,25%
INSULINE	1,41%	8,45%	5,63%	2,82%
METFORMINA	3,63%	6,22%	5,18%	1,04%
SULFAMINIDI	3,13%	7,81%	5,25%	3,13%

Chi prende ...

% di pazienti caduti
su arruolati

Cadute relative ai pazienti arruolati				
Gruppo	PAZ. ARRUOLATI	PAZ. CADUTI	% PAZ. CADUTI	AMBIENTE DOM.
Intervento	883	144	15,31%	134
Controllo	889	167	18,79%	190
TOTALE	1772	311	17,55%	324

Cadute relative ai pazienti arruolati diabetici				
Gruppo	PAZ. ARRUOLATI	PAZ. CADUTI	% PAZ. CADUTI	AMBIENTE DOM.
Intervento	269	44	16,36%	33
Controllo	278	54	19,42%	56
TOTALE	547	98	17,92%	89

Stratificazione delle cadute per sesso ed età (tutti i pazienti)		Arruolati		
Fascia d'età		Femmine	Maschi	Totale
<70		113	71	184
<80		487	315	802
<90		411	221	632
<100		115	39	154
Complessivi		1126	646	1772

Gli effetti della caduta hanno un impatto emotivo ed economico negativo non solo sul SSN ma anche su tutto il sistema familiare. Gli anziani che hanno più probabilità di cadere, oltre a quelli già caduti in passato, sono quelli che soffrono di patologie croniche, come le patologie cardiovascolari, diabete, demenze o artrosi.

Ad esempio una riduzione del 20% delle cadute consentirebbe circa 27.000 ricoveri in meno ogni anno, con una conseguente riduzione di costi e disagi sia per le famiglie che per il SSN ed una migliore qualità di vita per il paziente.

Terapia riabilitativa personalizzata: approcci di sistema in "Real Life Medicine"

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 System Medicine (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 Noncommunicable diseases (NCDs). La realizzazione di programmi di riabilitazione integrata è importante.

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 BroncoPneumopatia Cronica Ostruttiva (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) [http://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/committee/stamp/2016-03_stamp4/4_real_world_evidence_ema_presentation.pdf] e rappresenta uno strumento indispensabile dell'eccellenza nella pratica clinica e conseguentemente determina una migliore qualità delle cure erogate.

Lo studio si prefigge di:

- 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"

Ci si aspetta di:

1. Quantificare le risorse necessarie alla implementazione della piattaforma;
2. Valutarne la fattibilità;
3. Testare in un gruppo pilota la possibile efficacia di un intervento globale in confronto all'approccio tradizionale;
4. Studiare e validare i predittori di risposta inclusi OMICS;
5. 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.

Negli ultimi anni molte energie sono state investite nella ricerca di sistemi eHealth per una gestione personalizzata del paziente. La maggior parte dei sistemi esistenti si focalizza su uno specifico dominio medico, pertanto l'ipotesi di aggiornare queste piattaforme con l'approccio Rehabilomics creerà nuove linee guida. Si intende sviluppare una nuova architettura progettata per consentire la valutazione multidisciplinare completa del profilo dei pazienti in grado di aggiornare in maniera flessibile i cambiamenti di dominio. Il design specifico della piattaforma è, secondo le sue stesse regole, orientato al paziente che viene posto al centro e non alla malattia, in una visione osleriana. Gli sviluppi recenti hanno preso in considerazione solo misure strumentali per prevedere le riacutizzazioni della BPCO ottenendo risultati predittivi. La piattaforma rappresenta un approccio rivoluzionario alla profilazione multimodale di pazienti con malattie croniche non trasmissibili in grado di modificare la visione globale della gestione delle stesse.

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 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 dei Single Nucleotide Polymorphism (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 items 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: α 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:

a) Associazione tra strategie di coping e risposta alla riabilitazione polmonare

Viene 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 (http://www.regione.lazio.it/binary/rl_sanita/tbl_normativa/SAN_DCA_U00159_13_05_2016.pdf), in 76 pazienti, di età pari o superiore a 70 anni affetti da COPD GOLD 3-4.

E' effettuata un 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 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 erano 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).

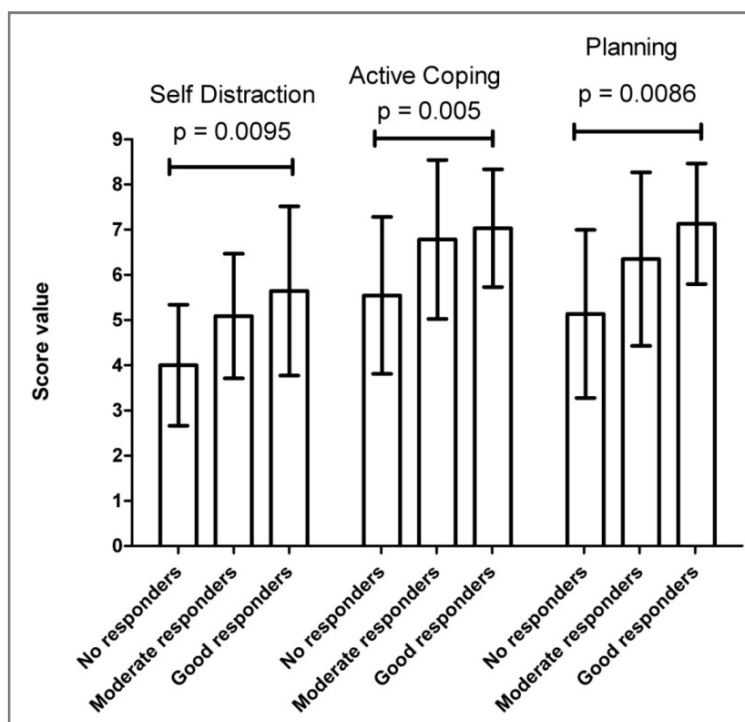


Figura 1. Associazione delle strategie di coping alla risposta riabilitativa in pazienti con BPCO anziani. La figura mostra il punteggio per le strategie di coping selezionate. I dati sono stati analizzati utilizzando Graph Pad Prism versione 5.0 e le barre di errore a 2 code rappresentano la deviazione 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.

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 ₂	23 (30.3%)
Therapy Without O ₂	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			
	Before PR ^(a)	After PR	Δ(After-Before)PR	p value*
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: ^(a) I dati sono gli stessi riportati in tabella 1; * Mann-Whitney U test.

Tabella 2. Parametri respiratori prima e dopo Riabilitazione Polmonare.

b) 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.

Obiettivi: 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 1 riporta le Caratteristiche demografiche e caratteristiche cliniche dei pazienti in studio.

Males	30 (42.2%)
Females	41 (57.8%)
Years of Education	8.9±4.08
Marital Status	
<i>single</i>	3 (4.2%)
<i>married</i>	36 (50.7%)
<i>divorced/widow</i>	32 (45.1%)
No smokers	6 (8.5%)
Current smokers	11 (15.5%)
Ex smokers	46 (64.7%)
Not Responders	8 (11.3%)
Occupational Status	
<i>Retired</i>	63 (88.7%)
<i>Housewife</i>	8 (11.3%)
BMI	27.57±4.9
Therapy With O₂	23 (32.4%)
Corticosteroids therapy	71 (100%)
MRC dyspnea grade	4.0 ± 0
Borg grade	7.87 ± 0.92
SGRQ-Total points	49.33± 16.02
6MWD (meters)	96.76±85.25
MRF26	72.14±15.65
Barthel	68.32±24.37
FEV₁	48.40±24.2
MMSE	26.78±2.83
MoCa	25.57±3.73
CES-D < 20 (77.1%)	6.87 ± 5.35
CES-D ≥ 20 (22.9%)	28.79 ± 6.10
SAS	29.08±8.57
BDI-II	14.59±8.07
2222ADL	4.83±1.88
IADL	5.24±2.47
SF-36 General Health	73.40± 11.54
SF-36 Mental Health	62.56±8.54
CIRS-severity	1.58±0.23
CIRS-comorbidity	2.44±1.36

Tabella 1. Caratteristiche demografiche e caratteristiche cliniche del campione analizzato (71 pazienti).

La tabella 2 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 2. Frequenze alleliche dei singoli SNPs in pazienti con BPCO.

Le Figure 1-3 riportano il profilo di “melting” in real-time PCR per le varianti alleliche studiate.

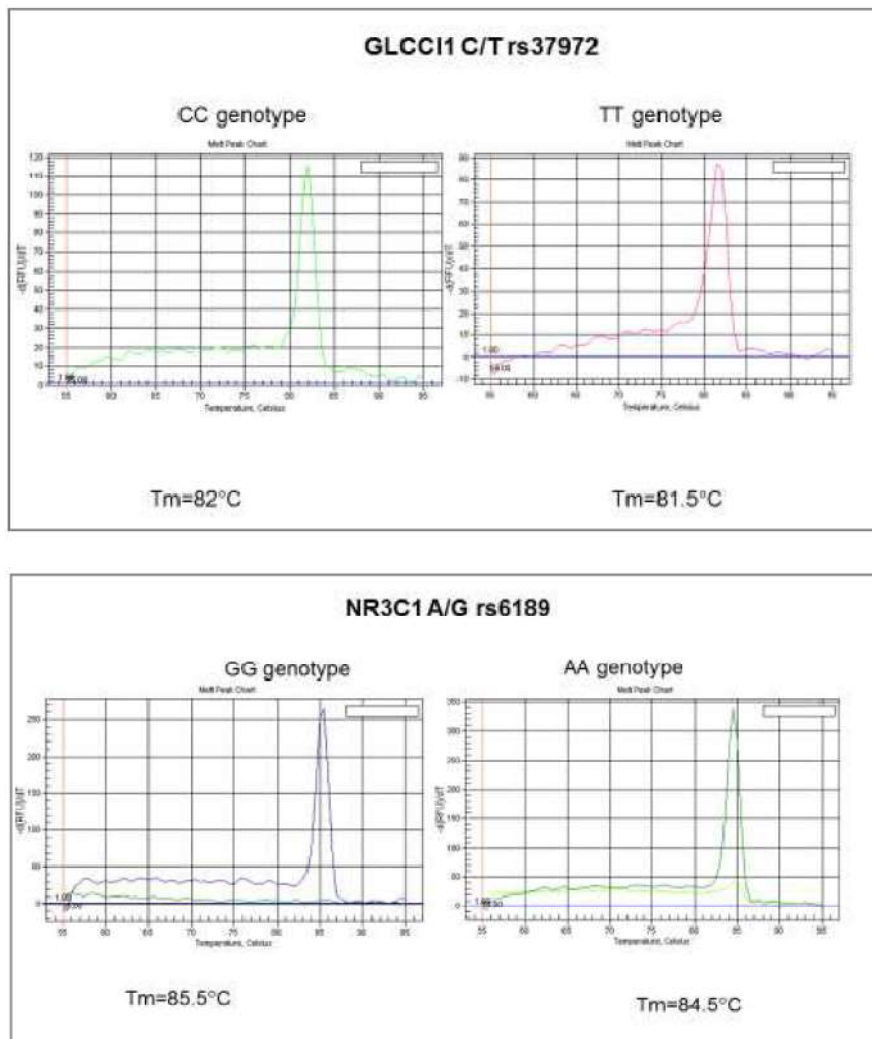


Figura 1

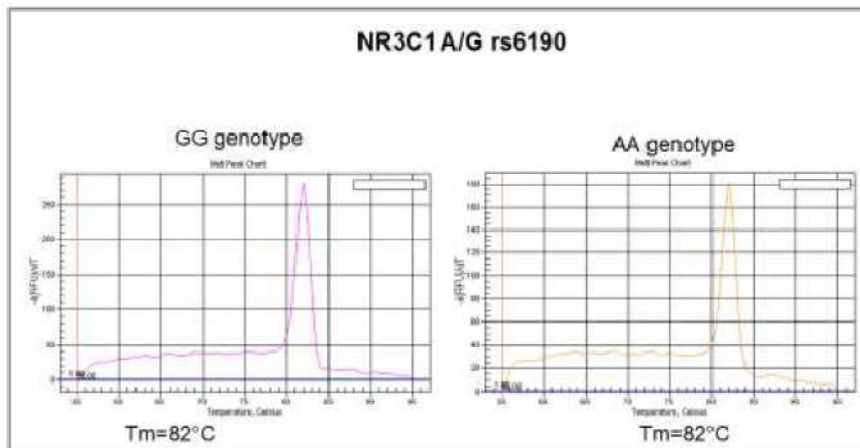


Figura 2

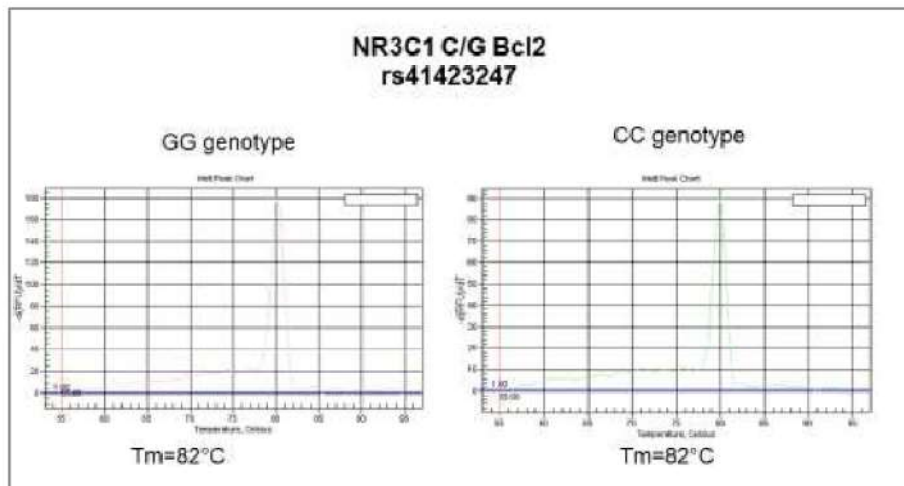
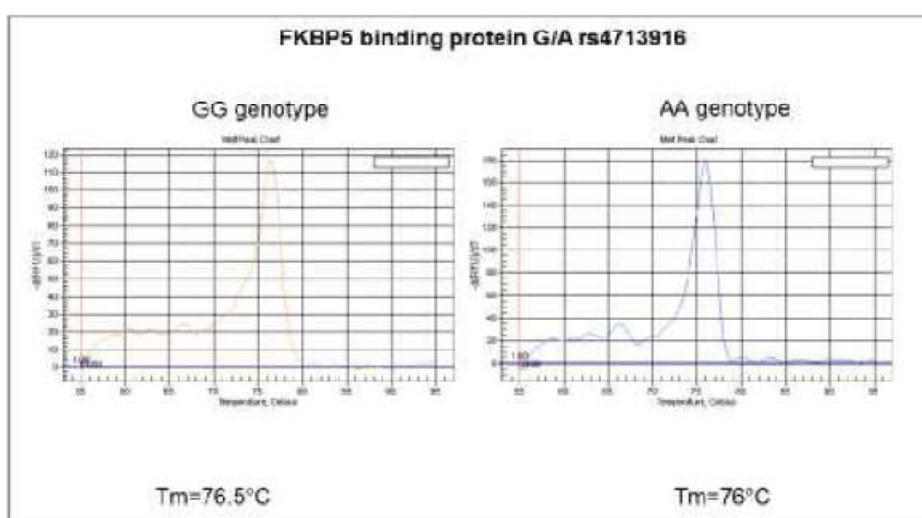
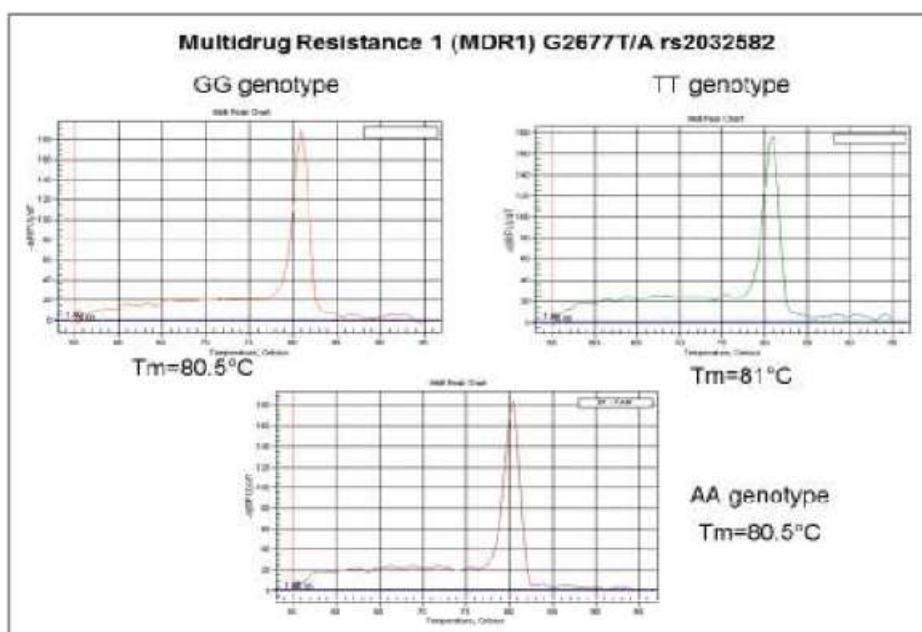


Figura 3



	Prima PR ($\bar{x} \pm SD$)	Dopo PR ($\bar{x} \pm SD$)	Δ	p value Non-parametric Mann-Whitney test
6MWD (metri)	96.76±85.25	191.1±132.7	94.37±79.97	<0.0001
FEV₁(%)	48.11±23.35	62.46±11.74	11.32±8.42	<0.0073
MRC	4.0±0.0	3.34±0.61	-0.66±0.61	<0.0001
Borg	7.87±0.92	5.20±2.47	-2.676±1.911	<0.0001
SGRQ	49.33±16.02	44.29±16.08	-4.1±17.36	0.1324 NS
Barthel	68.32±24.37	86.1±16.72	17.77±15.01	<0.0001
MRF26	72.14±15.65	48.69±19.07	-23.3±14.17	<0.0001

Tabella 3. Parametri clinici e respiratori prima e dopo la riabilitazione polmonare

Gene	Responders Patients number (% over total)	Non Responders Patients number (% over total)	% Responders genotype	p value
GLCCI1 rs37972				
CC	22 (32.35%)	8 (11.77%)	73.3%	0.08
CT	21(30.88%)	12 (17.65%)	62.6%	
TT	5 (7.35%)	0	100%	
FKBP5 rs4713916				
GG	37 (55.22%)	19 (28.36%)	60%	0.039
GA	10 (14.92%)	1 (1.5%)	90.91%	

NR3C1 rs6189				
GG	45 (67.16%)	19 (28.35%)	70.31%	NS
GA	3 (4.48%)	0	100%	
NR3C1 rs6190				
GG	44 (65.67%)	20 (29.85%)	68.75%	NS
GA	3 (4.48%)	0	100%	
NR3C1 rs41423247				
CC	4 (5.88%)	3 (4.41%)	57.14%	NS
GC	19 (27.94%)	7 (10.29%)	73.07%	
GG	25 (36.76%)	10 (14.71%)	71.42%	
MDR1rs2032 582				
GG	14 (20.59%)	10 (14.71%)	58.33%	NS
GA	3 (4.41%)	0	100%	
GT	15 (22.06%)	6 (8.82%)	71.43%	
TT	16 (23.53%)	4 (5.88%)	80%	

Tabella 4. Genotype and allele distribution of single-nucleotide polymorphisms among six genes in COPD patients and response to ICS according to Δ 6MWD. $\Delta > 50$ m = Responders, $\Delta < 30$ m = non responders.

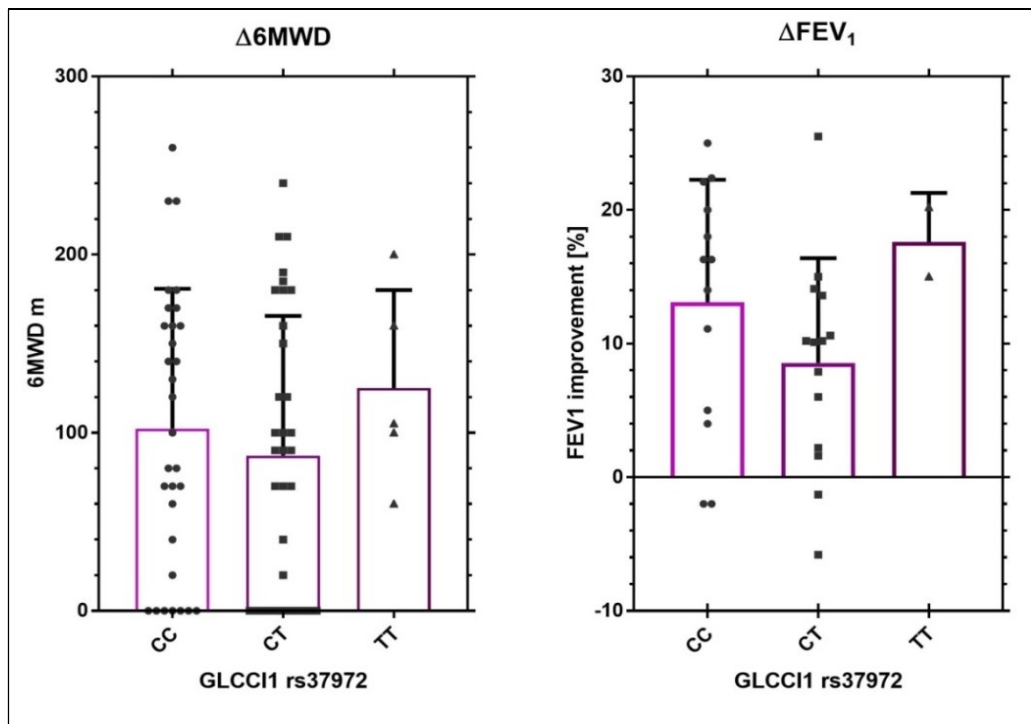


Figure 4. Improvement in $\Delta 6MWD$ and ΔFEV_1 in patients, stratified for GLCCI1 rs37972.

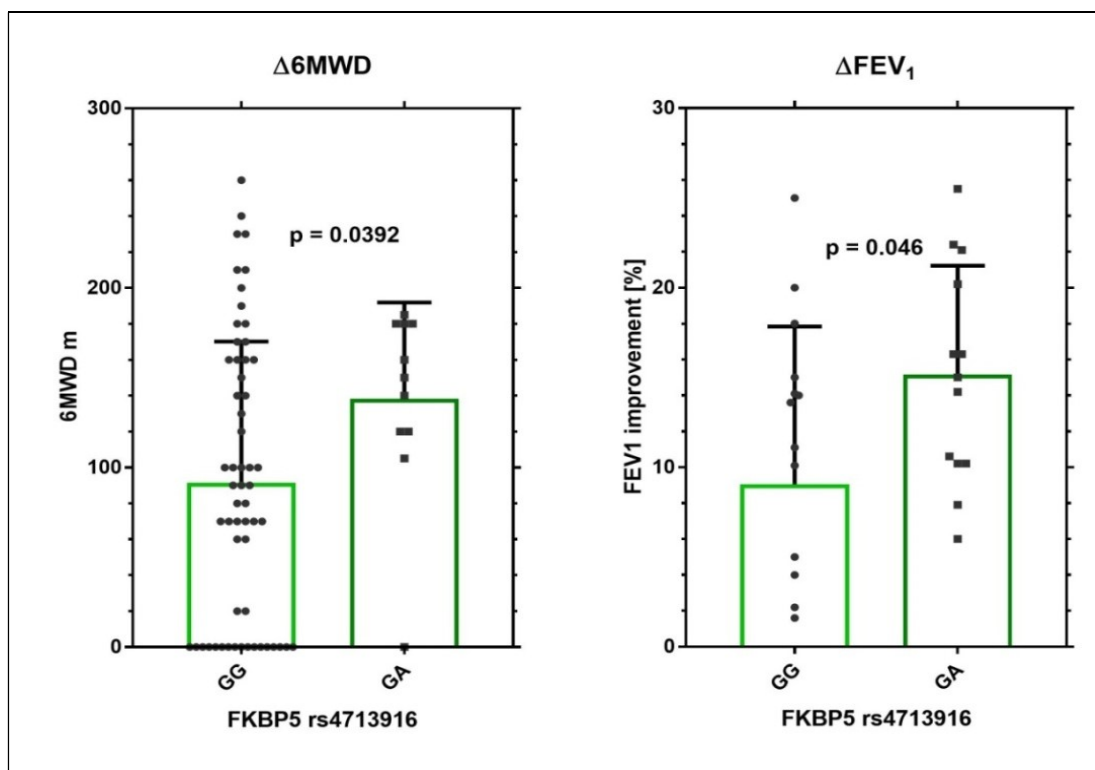


Figure 5. Improvement in $\Delta 6MWD$ and ΔFEV_1 in patients, stratified for FKBP5 rs4713916.

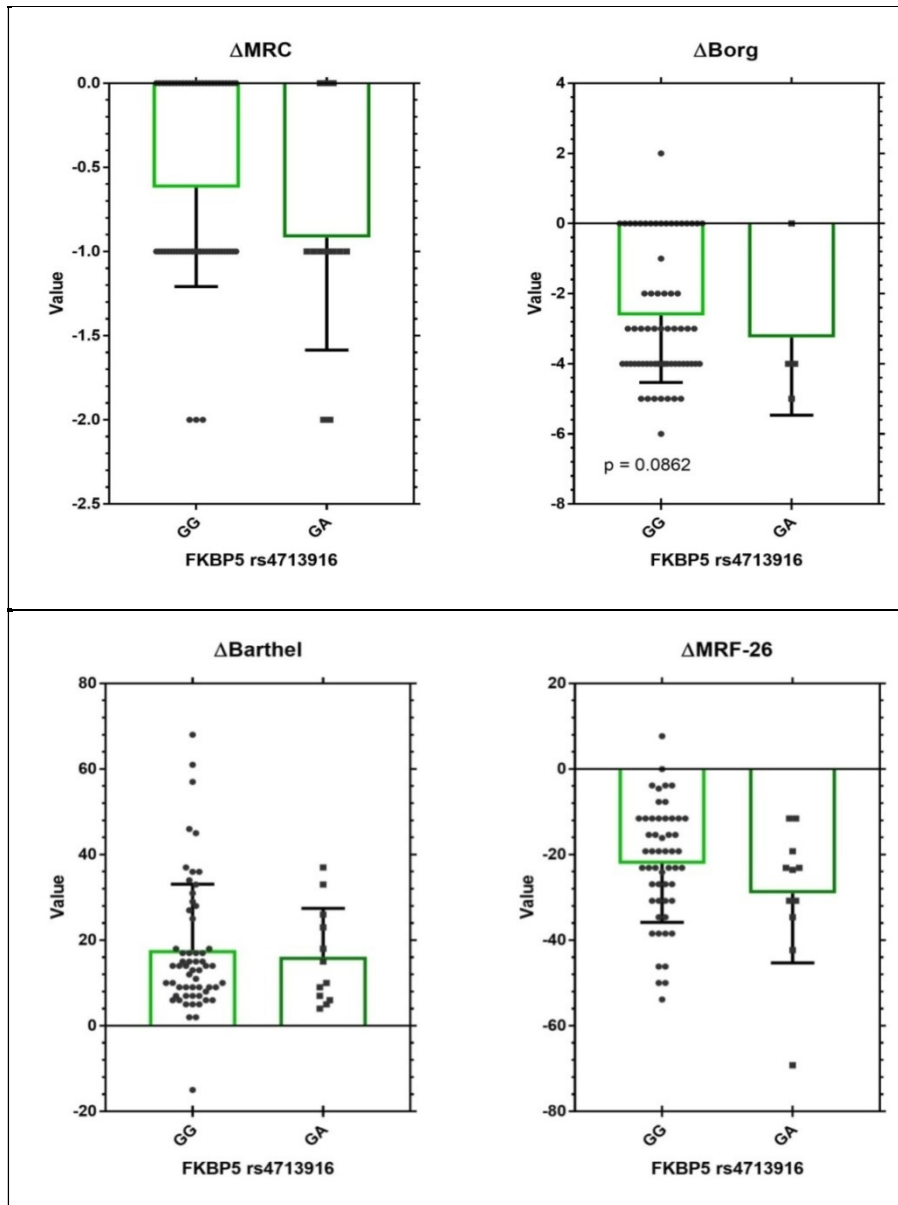


Figura 6. Respiratory outcomes after PR for FKBP5 rs4713916.

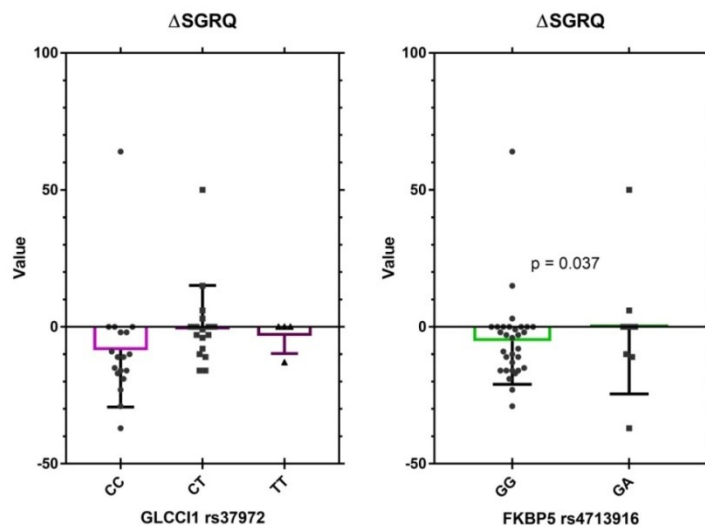


Figura 7. SGRQ value after PR stratified for GLCCI1 rs37972 or FKBP5 rs4713916

L'analisi di regressione logistica mostra che i pazienti portatori di rs4713916 GA hanno una probabilità 4 volte superiore di essere responders rispetto ai GG (odds ratio = 0,22 CI: 0,02-1,68).

più comuni nei pazienti con BPCO, ed è associata alla gravità della BPCO e alla comorbidità. La compromissione cognitiva associata alla BPCO aumenta i requisiti di assistenza nei diversi aspetti della vita quotidiana, nell'aderenza al trattamento e nella autogestione. Questo studio descrive vari composti bioattivi di origine marina naturale che modulano diversi targets condivisi sia dalla BPCO che dal deficit cognitivo e ipotizza un possibile collegamento tra queste due sindromi. La tabella 1 riporta i composti di origine marina attivi su diversi target condivisi tra BPCO e “impairment” cognitivo.

Drug	Mechanism	References
COPD		MCI/AD
Activation PI3K-mTOR		
Fucoanthin	Inhibition of mice bleomycin-induced lung fibrosis	Neuroprotective [85,86]
Austrasulfone	NA	Anti-apoptotic [87]
TMC-256C1	NA	Activation of kinases [88]
1-(1-(Myristoyl) glycerol (MG))	NA	Neurite outgrowth [89]
Sargaquinoic acid	NA	Enhancement of neurite regeneration [90]
Altered autophagy		
Bafilomycins, coibamide A, manzamine A and papuamine	NA	Inhibits autophagy Induces autophagy Induces autophagy [66]
Defective DNA damage repair		
Apo-9'-fucoxanthinone	Decreases cigarette smoke extract-induced DNA damage	[91]
Cellular senescence		
Antarctic krill oil (AKO)	NA	-Protective effect against AD senescence -Ameliorates learning and memory deficits and eases the anxiety -Reduces A β accumulation [92]
Mitochondrial dysfunction		
43 kD protein	NA	-Attenuates neuronal cell death -Alleviates mitochondrial inactivation -Recovers metallathionein-3 (MT-3) -Decreases and inhibits β - and γ -secretase, as well as A β accumulation [93]
Gracilins	NA	-Positive trend on learning and spatial memory of treated mice. -Decreases A β 42 and hyperphosphorylated levels -Preserves neurons against oxidative damage [94,95]

La gestione della BPCO risulta complessa: in Italia è una malattia respiratoria molto diffusa con alti costi e sostenibilità per il SSN. Nondimeno, il numero di reparti ospedalieri di riabilitazione respiratoria e di posti letto continua a diminuire senza alternative organizzative coerenti. Gli strumenti riportati dalle linee guida della Regione Lazio per la riabilitazione respiratoria comprendono 6MWT, Borg, MRC, MRF26 e BMI. La nostra sfida è fornire agli specialisti nuovi strumenti in grado di valutare ampiamente lo stato globale e il profilo specifico dei pazienti, supportando scelte cliniche e decisioni riabilitative con strategie predittive. L'effettiva possibilità di ridurre le esacerbazioni e le riospedalizzazioni è di fondamentale importanza per la sostenibilità del sistema sanitario, alla luce dei costi sempre maggiori in una popolazione che invecchia sempre più.

AREA DI RICERCA DISABILITÀ DELLO SVILUPPO E RIABILITAZIONE

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 dall'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.

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 intende verificare se la regolare attività fisica migliori le performance motorie, in particolare il cammino, anche nelle persone con disabilità intellettiva.

L'attività fisica regolare, fattore stimolante la plasticità cerebrale, può rappresentare un elemento importante anche per le persone con disabilità intellettiva. Un miglioramento dei parametri del cammino e della coordinazione motoria può rappresentare un risultato ancor più significativo in questi pazienti, potendo anche assumere valenza riabilitativa, oltre che ricreativa.

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 saranno confrontati con un Gruppo di Controllo (CG) costituito da soggetti di simile età e grado di disabilità, non impegnati in attività agonistiche.

Gli effetti verranno valutati mediante analisi quantitativa del cammino (Gait Analysis), anche in presenza di dual-task (evitamento di ostacoli) e analisi posturale. Le valutazioni verranno eseguite da osservatori in cieco rispetto al gruppo.

Sono state ottenute valutazioni complete di 19 bambini con disabilità intellettiva e di 30 controlli ed il progetto sarà concluso con l'elaborazione dei dati nel 2019.

RICERCA TRASLAZIONALE

Laboratorio di Bioingegneria della Riabilitazione

Analisi della solidità delle misure posturografiche durante la valutazione strumentale statica. Balance Board versus Gait Analysis

L'equilibrio umano è una funzione complessa regolata dal sistema vestibolare (SV) che consente l'interazione dinamica del soggetto con l'ambiente circostante in armonia con la forza di gravità.

Nell'ambito del controllo posturo-motorio e della biomeccanica del movimento umano si ricercano i segnali connotati da una riconosciuta valenza clinica, che consentano di leggere alterazioni anche minime della funzione antigravitaria ed in base ai quali definire la rieducazione tramite la riabilitazione.

Nello specifico, in condizioni fisiologiche, la postura eretta è regolata da un sistema di controllo che organizza dinamicamente l'equilibrio e che dipende da 3 attori: il sistema sensoriale, il sistema nervoso centrale e gli attuatori muscolari.

Al fine di evidenziare cambiamenti nel comportamento posturale, in relazione ai 3 richiamati sottosistemi, è estremamente importante individuare anomalie posturali, ancorché nascoste da fenomeni di compenso e riorganizzazione funzionale, attraverso misure che possano quantificare la diversità, così da rendere la valutazione la più oggettiva possibile.

L'analisi posturografica si basa sullo studio di parametri derivanti dal centro di pressione, o CoP, che rappresenta il punto di applicazione della risultante delle forze scambiate tra piede e terreno. Per svolgere queste misure è possibile ad oggi utilizzare sistemi di realtà virtuale semi immersiva dotati di balance board commerciali a basso costo, o altrimenti un laboratorio complesso di analisi del movimento dotato di pedane con sensori di forza complessi integrati nel pavimento.

La valutazione clinica dell'equilibrio è volta alla predizione del rischio di caduta, alla valutazione della necessità e dell'efficacia di un trattamento, alla determinazione delle cause responsabili delle alterazioni dell'equilibrio.

Durante l'esame dell'equilibrio si deve valutare come le strategie di controllo cambiano al cambiare della base d'appoggio, con l'esperienza del paziente, con le specifiche del compito assegnato.

Al fine di evidenziare se la riabilitazione virtuale, effettuata tramite il Khymeia VRRS EVO, possa apportare cambiamenti del comportamento posturale si analizzeranno i parametri rappresentativi del CoP, acquisito dallo stesso Khymeia, in fase di valutazione del paziente.

La realtà virtuale si basa su tecnologie in grado di creare ambienti interattivi che coinvolgono il paziente in attività che simulano quelle del mondo reale. Questi sistemi interattivi si mostrano più coinvolgenti rispetto alla riabilitazione convenzionale e prevedono l'utilizzo di una balance board, adatta a soggetti di tutte le età.

Il Khymeia VRRS EVO è un sistema di realtà virtuale la cui efficacia è data dal fatto che il soggetto esegue la riabilitazione di ginocchio attraverso dei giochi interattivi che innescano una maggiore volontà di perseguire l'obiettivo. Il paziente, durante l'esecuzione dell'esercizio fisico, ha sempre un feedback visivo ed acustico, che insieme all'immaginazione motoria, promuovono l'apprendimento motorio nel sistema nervoso centrale.

È interesse del laboratorio dimostrare se i parametri rappresentativi del CoP acquisiti con Khymeia possano riflettere o meno le modifiche apportate al sistema di controllo posturale a seguito della riabilitazione con realtà virtuale.

Si riscontra in letteratura come i parametri derivanti dal CoP contribuiscano alla valutazione dell'equilibrio. La variazione dell'ampiezza media e della velocità media del CoP, le variazioni dell'escursione totale del CoP, la deviazione standard e l'ellisse di confidenza al 95% possono riflettere una modifica del sistema di controllo posturale, durante prove ad occhi aperti e ad occhi chiusi (Quagliarella et al., 2011; Moghadam et al., 2011; Doyle et al., 2007; Slobounov et al., 1998; Prieto et al., 1996). Ci si aspettano valori di tali parametri maggiori di quelli ricavati su soggetti sani. Anche l'età del paziente gioca un ruolo determinante nel controllo dell'equilibrio.

Nell'ambito della riabilitazione tramite realtà virtuale la letteratura non presenta moltissimi studi. Negus et al. hanno investigato gli effetti della riabilitazione di pazienti con TKR eseguita dalla console Nintendo Wii. Lo studio, oltre ad evidenziare dei miglioramenti riabilitativi tramite la realtà virtuale, evidenzia anche come eseguire la riabilitazione a casa tramite la balance board comporti la diminuzione della necessità della terapia clinica o ambulatoriale.

In questo contesto, quindi, si inserisce questo progetto, che ha avuto come obiettivo l'elaborazione dei segnali di CoP acquisiti dalla piattaforma del VRRS Khymeia durante esercizi di valutazione dell'equilibrio in soggetti con artroprotesi di ginocchio, che hanno utilizzato il sistema di realtà virtuale come terapia riabilitativa. Nell'analisi della posturografia statica si fa largo uso di una pedana equipaggiata con estensimetri o celle di carico piezoelettriche, la balance board stabilometrica. Il sistema Khymeia VRRS EVO dispone di una pedana stabilometrica che consente di registrare le oscillazioni del corpo, sia durante esercizi virtuali riabilitativi che in posizione eretta statica. Tali oscillazioni del CoP riflettono la capacità del soggetto di mantenere l'equilibrio. Esse sono state, quindi, valutate sia prima del trattamento riabilitativo, seguito ad un intervento di protesizzazione del ginocchio, che dopo il trattamento, così da valutare l'esito della riabilitazione eseguita tramite Khymeia.

I dati acquisiti tramite la pedana di Khymeia VRRS EVO sono poi stati confrontati con i dati derivanti da un secondo sistema di analisi posturografica: la Gait Analysis, che dispone dei seguenti strumenti per l'analisi della posturografia statica e dinamica del paziente: sensori optoelettronici, elettromiografi e pedane di pressione e di forza. Essa ci consente di valutare sia la stazione eretta del paziente, sia la deambulazione. Queste misurazioni permetteranno di valutare l'affidabilità dei dati acquisiti su Khymeia.

L'oscillazione posturale, durante un'analisi di posturografia statica, è stata valutata in condizioni di quiete ed in assenza di perturbazioni. Al soggetto è stato chiesto di mantenere la stazione eretta cercando di non compiere movimenti estranei. Tale analisi può essere eseguita anche ad occhi chiusi, al fine di evidenziare il ruolo e la funzionalità delle vie sensoriali afferenti. L'applicazione del Khymeia consente di registrare un tracciato posturografico tramite il device BALANCE BOARD e di estrarre automaticamente da esso una serie di parametri standard nel dominio della posturografia statica. Gli esercizi hanno previsto la valutazione di asimmetria posturale ed il test di controllo posturale. Gli stessi esercizi sono stati svolti sulle piattaforme di forza del laboratorio di Gait Analysis.

Si è provveduto alla valutazione della traiettoria del CoP prima del trattamento riabilitativo e dopo la riabilitazione, su cui sono stati ricavati i seguenti parametri:

- la velocità media del centro di pressione (V_m), calcolata come rapporto fra la lunghezza totale della traiettoria e la durata del tempo di osservazione T ,
- la coordinata medio-laterale media del centro di pressione (CoP_{ml})
- la coordinata antero-posteriore media del centro di pressione (CoP_{ap})
- la deviazione standard lungo la direzione medio-laterale (σ_{ml})
- la deviazione standard lungo la direzione antero-posteriore (σ_{ap})
- la meandistance (MD), distanza media dei punti della traiettoria del CoP dal punto centrale della traiettoria stessa,
- la deviazione standard della meandistance (σ_{md})
- la swaypath (L), lunghezza totale della traiettoria del CoP, approssimata dalla somma delle distanze tra due punti consecutivi,
- 95% confidence ellipse (ϵ_{95}), ovvero l'area dell'ellisse di confidenza che contiene con il 95% di probabilità i punti di una distribuzione bidimensionale (AP, ML)

L'analisi statistica consentirà di valutare il p value per ogni classe di parametri sia acquisiti con Khymeia che acquisiti in Gait Analysis.

Vengono considerati soggetti sottoposti ad intervento di artroprotesi di ginocchio e riabilitati tramite il Khymeia VRRS EVO, per il recupero ed il miglioramento della ripartizione del carico e della postura. I criteri di inclusione sono i seguenti: valutazione iniziale entro massimo 10 giorni dall'operazione, pazienti operati di artroprotesi di ginocchio monolaterale in elezione, pazienti

collaboranti ed in grado di eseguire l'esercizio proposto, con buon compenso cardiovascolare e cognitivamente integri. I criteri di esclusione sono: presenza di grave deficit cognitivo/comportamentale, rifiuto o impossibilità a firmare il consenso informato, la presenza di gravi comorbilità in particolare cardiorespiratorie, di deficit neurologici periferici e/o centrali, visivi, uditivi, presenza di gravi patologie osteoartromuscolari all'arto inferiore contro laterale, complicazioni della ferita, presenza di apparecchi che possono subire interferenze elettromagnetiche con il dispositivo (ad esempio portatori di pacemaker o di defibrillatore impiantabile), paziente in gravidanza, carcinoma pregresso o in atto, anamnesi di episodi epilettici.

I dati ottenuti sembrano non avallare una differenza statisticamente significativa nei segnali ottenuti prima e dopo il trattamento riabilitativo, così come fra le due tipologie di prova (Khymeia vs Gait Analysis).

Dalle misurazioni e dall'esperienza clinica però sono apparse chiare alcune considerazioni utili sia alla pratica clinica che alla gestione delle procedure di valutazione strumentale del movimento.

I protocolli di misura e valutazione svolti attraverso i due sistemi Khymeia e Gait Analysis differiscono per l'approccio sperimentale utilizzato: mentre nel primo caso i terapeuti si muovono in palestra con scopi operativi e riabilitativi, in Gait Analysis i tecnici sono orientati essenzialmente alla qualità della misura. Questo fa sì che sia permesso, in caso di paura di cadere o di equilibrio compromesso, l'uso di un ausilio statico durante l'utilizzo di Khymeia, senza, per questo ripetere la misura (i terapeuti devono rispettare un tempo di esercizio schedulato dal sistema sanitario nazionale) in quanto la macchina è utilizzata essenzialmente a scopi riabilitativi.

Nasce quindi la necessità di sottolineare come la valutazione dei parametri posturografici offerti da Khymeia debbano essere valutati alla luce di una conoscenza esatta del protocollo di valutazione eseguito.

Il progetto continuerà nel 2019.

Al fine di approfondire questi risultati, occorre procedere con l'analisi di un numero maggiore di pazienti così da rendere disponibile un numero idoneo di dati sui quali effettuare ulteriori valutazioni di tipo statistico e procedere a misurazioni a occhi aperti e a occhi chiusi per permettere la valutazione anche del contributo dell'integrazione visiva alla stabilità posturale ed esami di simmetria che prevedano una corretta correzione dell'offset iniziale.

L'accuratezza dell'utilizzo dello strumento resta comunque un parametro fondamentale per la corretta valutazione dell'efficacia riabilitativa.

Caratteristiche EMG tempo-frequenza del cammino

Camminare è un'azione del tutto normale per la maggior parte degli esseri umani e la sua realizzazione è una delle caratteristiche che distingue l'uomo dagli animali, eppure consiste in un meccanismo estremamente complesso. Ciò che entra in gioco per consentire ad un individuo di andare avanti coinvolge, infatti, il sistema nervoso, quello scheletrico e quello muscolare in una rigorosa combinazione di coordinazione ed equilibrio.

La lesione netta o parziale di uno o più meccanismi coinvolti nella locomozione, derivante da traumi o patologie invalidanti, rappresenta la condizione nella quale la "funzione movimento" è alterata, ridotta, inefficace, inducendo un 'deficit' motorio e inficiando il corretto e fisiologico cammino nel caso in cui essa interessi gli arti inferiori.

Per molti disordini motori non è ancora sufficientemente chiaro quali siano i trattamenti terapeutici e i protocolli clinici che risultino oggettivamente più efficaci per il migliore recupero della funzionalità motoria; ciò deriva anche dal fatto che le abilità residue del paziente vengono spesso valutate mediante metodi in larga misura soggettivi, il che rende difficile monitorare adeguatamente gli effetti del trattamento riabilitativo sul paziente, a causa della mancanza di metodologie e di strumenti che consentano di confrontare le diverse terapie riabilitative e la loro reale efficacia.

Il bisogno di superare le limitazioni motorie del paziente ha condotto alla progettazione e alla realizzazione di sistemi per la riabilitazione delle disabilità motorie: oggi si parla prevalentemente di esoscheletri e di altri sistemi robotici per la rieducazione degli arti, come robot indossabili in grado di

restituire una mobilità almeno parziale a chi ha perso l'uso delle gambe o delle mani. L'impiego di macchine robotiche per la neuroriabilitazione si ispira a evidenze in ambito neurofisiologico che dimostrano come, a partire dal livello cellulare, le connessioni sinaptiche subiscano continue modifiche, in risposta a eventi fisiologici, stimoli ambientali (processi di apprendimento e memorizzazione) e danni al Sistema Nervoso Centrale (SNC): la topologia della corteccia motoria e sensoriale non è fissa, ma flessibile e si adatta in base all'apprendimento e all'esperienza al punto da rendere il ruolo del paziente estremamente centrale durante il trattamento.

Il progetto nasce dalla condizione odierna per la quale risulta tuttavia prematura una valutazione corretta e definitiva sulle tecnologie disponibili sul mercato in ambito robotico. È consolidata la consapevolezza sui benefici associati all'utilizzo di un robot, in quanto richiede una forza lavoro minore, permette una terapia più duratura e più intensa, amministra procedure standardizzate oggettivamente replicabili, rende possibile una valutazione oggettiva e quantitativa della disabilità del paziente neurologico e della sua evoluzione ed è in grado di fornire stimoli multisensoriali anche modificati. Al fine di valutare e validare l'efficacia reale della riabilitazione qualsiasi sia la tecnologia utilizzata è necessario, però, addentrarsi il più possibile, in maniera non invasiva, in quelli che risultano essere i meccanismi nervosi, muscolari e articolari adottati dal soggetto prima e dopo la terapia per realizzare l'atto motorio della locomozione. Ci si propone pertanto di determinare indici di valutazione dell'atto motorio utilizzando le nuove tecnologie portatili wireless tramite le quali estrapolare informazioni utili sui soggetti normodotati in cammino libero, che possano fornire fattori prognostici rispetto al recupero di una corretta andatura, di sane connessioni cerebrali e attivazioni muscolari durante la locomozione. Un'attenta analisi dei segnali fisiologici muscolari durante il cammino sui soggetti sani, rispetto ai quali confrontare quelli dei soggetti affetti da una patologia neurologica, è il primo passo come valido supporto alla ricerca di base che deve stimolare il clinico ed il terapeuta ad individuare approcci innovativi e standardizzati per facilitare il recupero della deambulazione.

L'obiettivo fondamentale del progetto è consentire ai clinici e ai terapisti di essere dotati di ulteriori strumenti e metodologie avanzati utili non solo per rispondere a tutte le esigenze di un soggetto paretico in termini di riacquisizione dei meccanismi neuronali, dei movimenti fisiologici articolari, di recupero in tempi più brevi possibili delle capacità motorie, ma anche per stilare una valutazione funzionale della disabilità motoria basata su criteri quantitativi, oggettivi, accurati e ripetibili (elettrogoniometro, sistema inerziale, elettromiografia,...). Da questa valutazione sarà possibile definire la terapia più efficace e mirata caso per caso favorendo, oltre alla personalizzazione della cura, un'azione riabilitativa opportuna che porti al recupero motorio nel minor tempo possibile. È possibile così monitorare lo stato funzionale del paziente e l'evoluzione della terapia, con l'obiettivo di valutare se, ad esempio, la riabilitazione robotica con esoscheletro possa risultare più idonea di altri interventi riabilitativi.

Il progetto propone, come potenziamento dello studio nel dominio del tempo già effettuato, di definire una caratterizzazione spettrale del segnale elettromiografico (EMG) di quattro muscoli degli arti inferiori di 20 soggetti sani nei loro intervalli di attivazione osservati durante le fasi del cammino. Ci si pone il quesito sull'esistenza di un pattern di frequenza media, durante l'evoluzione del passo, dello spettro stimato per ciascun muscolo che possa essere immagine della sua sana attivazione.

È necessario un approfondimento su cosa è già stato osservato finora in letteratura scientifica riguardo l'analisi tempo-frequenza dei segnali elettromiografici, con particolare attenzione alle acquisizioni svolte durante tasks dinamici. Quest'esigenza nasce dalla necessità di mettere insieme le conoscenze su un segnale aleatorio quale quello EMG, che rientra nella categoria dei processi stocastici e che, pertanto, richiede elaborazioni, algoritmi avanzati e accortezze particolari se lo si studia nel dominio della frequenza, per poter così delineare un modello di analisi il più possibile coerente anche durante misurazioni non isometriche.

Eventuali alterazioni del cammino incidono sull'inviluppo spettrale dei segnali poiché alterano la sequenza temporale fisiologica di reclutamento delle fibre muscolari lente e veloci. Lo studio dei risultati ottenuti dai segnali acquisiti su un soggetto patologico, confrontati con i pattern sani, sarà di supporto per approfondire il deficit neurologico che la patologia ha indotto sul soggetto coinvolto, in

termini di alterate attivazioni neuronali di precise fibre muscolari. Si cerca quindi di attribuire ai vari valori di frequenza media rilevati, laddove possibile, un significato fisiologico che sia univoco. Ci si aspetta di poter individuare i pattern di comportamento delle fasce muscolari coinvolte nel cammino nel dominio della frequenza.

Tale operazione potrà facilitare il processo di personalizzazione della cura e la valutazione puntuale dell'inefficienza funzionale muscolare dovuta alla malattia neurologica.

Sono stati applicati 8 sensori EMG bipolari sui muscoli bicipite femorale, retto femorale, complesso gastro-soleo, tibiale anteriore su entrambi gli arti inferiori di 20 soggetti sani, di cui 10 soggetti giovani (età compresa tra i 20 e i 45 anni) e 20 soggetti anziani (età compresa tra 60 e 80 anni); due sensori elettrogoniometrici sono stati applicati sulle articolazioni di ginocchio facendo cura a non impedire la corretta fisiologia del movimento. Un sensore inerziale è stato posizionato tramite banda elastica all'altezza della vertebra L5. I sensori inerziali e gli elettrogoniometri restituiscono andamenti nel tempo di segnali biometrici, quali accelerazioni e velocità angolari di bacino e angoli di articolazione di anca e di ginocchio. Tali segnali sono stati utilizzati per il rilevamento oggettivo delle dinamiche e delle caratteristiche temporali degli istanti del passo e quindi ricavare dati clinici, come la velocità media del cammino e le percentuali rispetto al passo delle fasi di appoggio e di volo del soggetto. Inoltre, tramite l'analisi delle dinamiche di passo è possibile discriminare le fasi del passo e la fine discriminazione di biomarcatori del segnale elettromiografico.

Lo scopo dell'analisi dei dati è stimare lo spettro di densità di potenza dei segnali EMG tramite la Trasformata Wavelet continua e di essi studiare la frequenza media puntuale dello spettro. Mediante implementazione in codice MATLAB, i marcatori elettromiografici sono stati calcolati e normalizzati sul ciclo del passo. Poiché il segnale non presenta riproducibilità evidente anche nel singolo soggetto, è stato necessario mediare le misure ripetute su numerosi passi. La frequenza media è stata valutata su sei sottointervalli del passo, in particolare separatamente tra gli istanti temporali durante i quali il segnale EMG supera la soglia di attivazione e quelli in cui è al di sotto di tale soglia.

In virtù dei risultati statistici ottenuti, è possibile affermare che l'analisi tempo-frequenza realizzata sui segnali in esame ha consentito il raggiungimento di un risultato che può essere considerato positivo. Infatti, riscontrata la mancanza di differenze statisticamente significative tra gli andamenti delle frequenze medie di tutti i soggetti sani osservati (40 soggetti di cui 20 giovani e 20 anziani), è stato possibile definire un pattern in frequenza per ciascuno dei quattro muscoli che fosse immagine di un'attivazione sana dei muscoli durante il passo.

Poiché non è semplice attribuire ai vari valori di frequenza media un significato fisiologico che sia univoco, non si faranno congetture su quali siano le caratteristiche fisiologiche che si rispecchiano in questi valori di frequenza media rilevati.

Sicuramente, essendo il cammino svolto dai quaranta soggetti in esame un esercizio semplice e senza particolari sforzi richiesti, il valore della frequenza media non dipende dalla fatica muscolare, poiché il task osservato non ha portato nessuno dei soggetti a manifestare fatica muscolare. Il progetto continuerà nel 2019.

Sviluppi futuri dello studio provvederanno ad osservare quali valori sono assunti dalla frequenza media negli intervalli in cui i muscoli si trovano al di sotto della soglia di attivazione; nonché a comprendere a fondo il significato fisiologico dei valori di frequenza media rilevati durante il passo; infine, si potrà procedere con un confronto tra quanto ricavato dallo studio dei soggetti sani e la stessa analisi applicata ai segnali di soggetti patologici, per poterne successivamente ricavare informazioni utili al processo riabilitativo del paziente.

PUBBLICAZIONI

di Biase L, Summa S, Tosi J, Taffoni F, Marano M, Cascio Rizzo A, Vecchio F, Formica D, Di Lazzaro V, Di Pino G, Tombini M.

Quantitative Analysis of Bradykinesia and Rigidity in Parkinson's Disease.

Front Neurol. 2018 Mar 6;9:121. eCollection 2018.

In the last decades, several studies showed that wearable sensors, used for assessing Parkinson's disease (PD) motor symptoms and recording their fluctuations, could provide a quantitative and reliable tool for patient's motor performance monitoring.

The aim of this study is to make a step forward the capability of quantitatively describing PD motor symptoms. The specific aims are: identify the most sensible place where to locate sensors to monitor PD bradykinesia and rigidity, and identify objective indexes able to discriminate PD OFF/ON motor status, and PD patients from healthy subjects (HSs).

Fourteen PD patients (H&Y stage 1-2.5), and 13 age-matched HSs, were enrolled. Five magneto-inertial wearable sensors, placed on index finger, thumb, metacarpus, wrist, and arm, were used as motion tracking systems. Sensors were placed on the most affected arm of PD patients, and on dominant hand of HS. Three UPDRS part III tasks were evaluated: rigidity (task 22), finger tapping (task 23), and prono-supination movements of the hands (task 25). A movement disorders expert rated the three tasks according to the UPDRS part III scoring system. In order to describe each task, different kinematic indexes from sensors were extracted and analyzed.

Four kinematic indexes were extracted: fatigability; total time; total power; smoothness. The last three well-described PD OFF/ON motor status, during finger-tapping task, with an index finger sensor. During prono-supination task, wrist sensor was able to differentiate PD OFF/ON motor condition. Smoothness index, used as a rigidity descriptor, provided a good discrimination of the PD OFF/ON motor status. Total power index, showed the best accuracy for PD vs healthy discrimination, with any sensor location among index finger, thumb, metacarpus, and wrist.

The present study shows that, in order to better describe the kinematic features of Parkinsonian movements, wearable sensors should be placed on a distal location on upper limb, on index finger or wrist. The proposed indexes demonstrated a good correlation with clinical scores, thus providing a quantitative tool for research purposes in future studies in this field.

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

Transcranial direct current stimulation generates a transient increase of small-world in brain connectivity: an EEG graph theoretical analysis.

Exp Brain Res. 2018 Apr;236(4):1117-1127.

Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a non-invasive technique able to modulate cortical excitability in a polarity-dependent way. At present, only few studies investigated the effects of tDCS on the modulation of functional connectivity between remote cortical areas. The aim of this study was to investigate-through graph theory analysis-how bipolar tDCS modulate cortical networks high-density EEG recordings were acquired before and after bipolar cathodal, anodal and sham tDCS involving the primary motor and pre-motor cortices of the dominant hemisphere in 14 healthy subjects. Results showed that, after bipolar anodal tDCS stimulation, brain networks presented a less evident "small world" organization with a global tendency to be more random in its functional connections with respect to prestimulus condition in both hemispheres. Results suggest that tDCS globally modulates the cortical connectivity of the brain, modifying the underlying functional organization of the stimulated networks, which might be related to changes in synaptic efficiency of the motor network and related brain areas. This study demonstrated that graph analysis approach to EEG recordings is able to intercept changes in cortical functions mediated by bipolar anodal tDCS mainly involving the dominant M1 and related motor areas. Concluding, tDCS could be an useful technique to help understanding brain rhythms and their topographic functional organization and specificity.

Granata G, Di Iorio R, Romanello R, Iodice F, Raspopovic S, Petrini F, Strauss I, Valle G, Stieglitz T, Čvančara P, Andreu D, Divoux JL, Guiraud D, Wauters L, Hiairassary A, Jensen W, Micera S, Rossini PM.

Phantom somatosensory evoked potentials following selective intraneural electrical stimulation in two amputees.

ClinNeurophysiol. 2018 Jun;129(6):1117-1120.

The aim of the paper is to objectively demonstrate that amputees implanted with intraneural interfaces are truly able to feel a sensation in the phantom hand by recording "phantom" somatosensory evoked potentials from the corresponding brain areas.

We implanted four transverse intrafascicular multichannel electrodes, available with percutaneous connections to a multichannel electrical stimulator, in the median and ulnar nerves of two left trans-radial amputees. Two channels of the implants that were able to elicit sensations during intraneural nerve stimulation were chosen, in both patients, for recording somatosensory evoked potentials.

We recorded reproducible evoked responses by stimulating the median and the ulnar nerves in both cases. Latencies were in accordance with the arrival of somatosensory information to the primary somatosensory cortex.

Our results provide evidence that sensations generated by intraneural stimulation are truly perceived by amputees and located in the phantom hand. Moreover, our results strongly suggest that sensations perceived in different parts of the phantom hand result in different evoked responses.

Somatosensory evoked potentials obtained by selective intraneural electrical stimulation in amputee patients are a useful tool to provide an objective demonstration of somatosensory feedback in new generation bidirectional prostheses.

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.

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.

Granata G, Rossini PM

T156. Restoration of somatosensory feedback and bidirectional real-time control of a prosthetic hand using peripheral nervous system signals

Clinical Neurophysiology, Volume 129, Supplement 1, May 2018, Page e62

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

T155. Brain reactions following the use of robotic hand prosthesis in human amputees

Clinical Neurophysiology, Volume 129, Supplement 1, May 2018, Page e62

Vecchio F, Miraglia F, Rossini PM.

Tracking Neuronal Connectivity from Electric Brain Signals to Predict Performance.

Neuroscientist.Epub 2018 May 20.

The human brain is a complex container of interconnected networks. Network neuroscience is a recent venture aiming to explore the connection matrix built from the human brain or human "Connectome." Network-based algorithms provide parameters that define global organization of the brain; when they are applied to electroencephalographic (EEG) signals network, configuration and excitability can be monitored in millisecond time frames, providing remarkable information on their instantaneous efficacy also for a given task's performance via online evaluation of the underlying instantaneous networks before, during, and after the task. Here we provide an updated summary on the connectome analysis for the prediction of performance via the study of task-related dynamics of brain network organization from EEG signals.

Vecchio F, Miraglia F, Iberite F, Lacidogna G, Guglielmi V, Marra C, Pasqualetti P, Tiziano FD, Rossini PM.

Sustainable method for Alzheimer dementia prediction in mild cognitive impairment: electroencephalographic connectivity and graph theory combined with apolipoprotein E.

AnnNeurol. 2018 Aug;84(2):302-314.

Mild cognitive impairment (MCI) is a condition intermediate between physiological brain aging and dementia. Amnesic-MCI (aMCI) subjects progress to dementia (typically to Alzheimer-Dementia=AD) at an annual rate which is 20 times higher than that of cognitively intact elderly. The present study aims to investigate whether EEG network Small World properties (SW) combined with Apo-E genotyping, could reliably discriminate aMCI subjects who will convert to AD after approximately a year.

145 aMCI subjects were divided into two sub-groups and, according to the clinical follow-up, were classified as Converted to AD (C-MCI, 71) or Stable (S-MCI, 74).

Results showed significant differences in SW in delta, alpha1, alpha2, beta2, gamma bands, with C-MCI in the baseline similar to AD. Receiver Operating Characteristic(ROC) curve, based on a first-order polynomial regression of SW, showed 57% sensitivity, 66% specificity and 61% accuracy(area under the curve: AUC=0.64). In 97 out of 145 MCI, Apo-E allele testing was also available. Combining this genetic risk factor with Small Word EEG, results showed: 96.7% sensitivity, 86% specificity and 91.7% accuracy(AUC=0.97). Moreover, using only the Small World values in these 97 subjects, the ROC showed an AUC of 0.63; the resulting classifier presented 50% sensitivity, 69% specificity and 59.6% accuracy. When different types of EEG analysis (power density spectrum) were tested, the accuracy levels were lower (68.86%).

Concluding, this innovative EEG analysis, in combination with a genetic test (both low-cost and widely available), could evaluate on an individual basis with great precision the risk of MCI progression. This evaluation could then be used to screen large populations and quickly identify aMCI in a prodromal stage of dementia. Ann Neurol 2018 Ann Neurol 2018;84:302-314.

Miraglia F, Vecchio F, Rossini PM.

Brain electroencephalographic segregation as a biomarker of learning.

Neural Netw. 2018 Oct;106:168-174.

The aim of the present study was to understand whether modeling brain function in terms of network structure makes it possible to find markers of prediction of motor learning performance in a sensory motor learning task. By applying graph theory indexes of brain segregation - such as modularity and transitivity - to functional connectivity data derived from electroencephalographic (EEG) rhythms, we further studied pre-(baseline) versus post-task brain network architecture to understand whether motor learning induces changes in functional brain connectivity. The results showed that, after the training session with measurable learning, transitivity increased in the alpha1 EEG frequency band and modularity increased in the theta band and decreased in the gamma band, suggesting that brain segregation is modulated by the cognitive task. Furthermore, it was observed that theta modularity at the baseline negatively correlated with the performance improvement; namely, the lower this connectivity index at the baseline pre-task period, the higher the improvement of performance with training. The present results show that brain segregation is modulated by the cognitive task and that it is possible to predict performance by the study of pre-task EEG rhythm connectivity parameters.

Rognini G, Petrini FM, Raspopovic S, Valle G, Granata G, Strauss I, Solcà M, Bello-Ruiz J, Herbelin B, Mange R, D'Anna E, Di Iorio R, Di Pino G, Andreu D, Guiraud D, Stieglitz T, Rossini PM, Serino A, Micera S, Blanke O.

Multisensory bionic limb to achieve prosthesis embodiment and reduce distorted phantom limb perceptions.

J NeurolNeurosurg Psychiatry.2018 Aug 12. [Epub ahead of print]

Vecchio F, Miraglia F, Quaranta D, Lacidogna G, Marra C, Rossini PM.

Learning processes and brain connectivity in acognitive-motor task in neurodegeneration: evidence from EEG network analysis.

J Alzheimers Dis. 2018;66(2):471-481.

Electroencephalographic (EEG) rhythms are linked to any kind of learning and cognitive performance including motor tasks. The brain is a complex network consisting of spatially distributed networks dedicated to different functions including cognitive domains where dynamic interactions of several brain areas play a pivotal role. Brain connectome could be a useful approach not only to mechanisms underlying brain cognitive functions, but also to those supporting different mental states. This goal was approached via a learning task providing the possibility to predict performance and learning along physiological and pathological brain aging. Eighty-six subjects (22 healthy, 47 amnesic mild cognitive impairment, 17 Alzheimer's disease) were recruited reflecting the whole spectrum of normal and abnormal brain connectivity scenarios. EEG recordings were performed at rest, with closed eyes, both before and after the task (Sensory Motor Learning task consisting of a visual rotation paradigm). Brain network properties were described by Small World index (SW), representing a combination of segregation and integration properties. Correlation analyses showed that alpha 2 SW in pre-task significantly predict learning ($r = -0.2592$, $p < 0.0342$): lower alpha 2 SW (higher possibility to increase during task and better the learning of this task), higher the learning as measured by the number of reached targets. These results suggest that, by means of an innovative analysis applied to a low-cost and widely available techniques (SW applied to EEG), the functional connectome approach as well as conventional biomarkers would be effective methods for monitoring learning progress during training both in normal and abnormal conditions.

Alù F, Vecchio F, Miraglia F, Gorgoni M, Ferrara M, De Gennaro L, Rossini PM.

Connectivity modulation during sleep onset, reduction of movement: study via graph theory application to EEG data.

Clinical Neurophysiology, Volume 130, Issue 1, January 2019, Page e5

Caggianese G, Cuomo, S, Esposito M, Franceschini M, Gallo L, Infarinato F, Minutolo A, Piccialli F, Romano P.

Serious games and in-cloud data analytics for the virtualization and personalization of rehabilitation treatments

IEEE Transactionson Industrial Informatics, July 2018

During the last years, the significant increase in the number of patients in need of rehabilitation has generated an unsustainable economic impact on healthcare systems, implying a reduction in therapeutic supervision and support for each patient. To address this problem, this paper proposes a telerehabilitation system based on serious games and in-cloud data analytics services, in accordance with Industry 4.0 design principles regarding modularity, service orientation, decentralization, virtualization, and real-time capability. The system, specialized for poststroke patients, comprises components for real-time acquisition of patient's motor data and a decision support service for their analysis. Raw data, reports, and recommendations are made available on the cloud to clinical operators to remotely assess rehabilitation outcomes and dynamically improve therapies. Furthermore, the results of a pilot study on the clinical impact deriving from the adoption of the proposed solution, and of a qualitative analysis about its acceptance, are presented and discussed.

Bragazzi NL, Aparo von Flüe A, Aparo UL.

Systems medicine and complexity: rethinking health management and hospital modelling.

RecentiProg Med. 2018 Sep;109(9):417-420.

We have reached the awareness that diseases, far from being simple altered health states, are characterized by intrinsic emerging and adaptive properties, requiring an interdisciplinary, global and systemic approach,

oriented towards integration and coordination, rather than an atomic and disintegrated logic. A new approach is needed, "systems medicine", defined as an interdisciplinary field of study that looks at the systems of the human body as part of an integrated whole, incorporating biochemical, physiological, and environment interactions. This new kind of medicine addresses diseases and their interrelationships in a scale invariant, holistic and systematic "multi-axial" way, analysing apparatus, organs, tissues, cells, molecules, always taking care of the relationships with the relative ecosystem. Given this dramatic change in the process of learning, investigating and approaching diseases, the hospital itself has to evolve continuously, changing strategies and structures. Hospital management has to be re-designed and re-configured in order to face and govern complex systems. Health management today must be flexible, able to absorb and incorporate complexity, and learn from it, reinforcing itself. Complexity must not be avoided. It is, indeed, an opportunity to be considered in the strategic planning and programming processes. Intuition, creativity and flexibility are the abilities and competences of a manager in a complex environment.

RICERCA FINALIZZATAE GIOVANI RICERCATORI

RICERCA FINALIZZATA

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

Rischio di obesità e diabete/ipertensione nei bambini: prevenzione e trattamento attraverso l'attività fisica monitorata e programmi nutrizionali

L'attuale epidemia di obesità infantile è un grave problema di salute pubblica ed un importante fattore di insorgenza di diabete mellito di tipo 2 (T2DM) prima dei 20 anni di età. Nei bambini e negli adolescenti, il Body Mass Index (BMI) è fortemente correlato all'ipertensione arteriosa (range 47% - 62%) in pazienti obesi in età pediatrica. L'attività fisica associata ad interventi nutrizionali viene considerata una pietra miliare nella prevenzione del T2DM, principalmente attraverso il miglioramento della resistenza all'insulina, che caratterizza anche l'obesità. Tuttavia, solo il 10% dei bambini svolge attività fisica settimanale raccomandata. In Italia, i programmi correnti nelle scuole elementari prevedono solo 1 ora a settimana di attività fisica. Questa proposta si basa su di un programma di attività fisica extracurricolare, monitorato, in combinazione con gli interventi dietetici procurati dalla scuola primaria con lo scopo di: fornire esercizi basati sull'evidenza e interventi dietetici da introdurre nei programmi scolastici.

L'attuale epidemia di obesità infantile è un importante problema di salute pubblica. L'obesità precoce predice fortemente la successiva malattia cardiovascolare (CV) e l'eccesso di peso può spiegare il notevole aumento di casi di diabete di tipo 2. Un rapporto di Ogden et al. indica che quasi il 17% di bambini e adolescenti in età scolare sono obesi, come definito dal BMI. Tendenze simili sono state osservate in Europa. In Italia, un ampio studio di indagine sponsorizzato dal Ministero della Salute e dal Ministero della Pubblica Istruzione, condotto su circa 46.000 bambini di età compresa tra 6 e 11 anni, ha indicato che il 24% è sovrappeso e il 13% è obeso. L'obesità infantile è fortemente correlata all'arteriosclerosi precoce e alla malattia cardiovascolare correlata all'obesità.

Nei bambini e negli adolescenti, il BMI è fortemente correlato all'ipertensione (PA) e la rilevanza dell'ipertensione varia dal 47% al 62% nei pazienti obesi in età pediatrica. Insorgenza di forme pediatriche, forme di malattie croniche quali T2DM, sindrome metabolica e ipertensione contribuiscono ad aumentare i rischi nella vita adulta. Se l'aumento dell'obesità dovesse proseguire sulla stessa linea, i ricercatori hanno recentemente previsto che entro il 2020 quasi la metà degli adulti statunitensi verrà ritenuto obeso secondo i criteri dell'Organizzazione Mondiale della Sanità. L'eccesso di peso porta anche un onere economico. I Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie (CDC) hanno stimato un costo medico per le condizioni legate all'obesità del 10% delle spese mediche annuali totali negli Stati Uniti nel 2008, o \$ 147 miliardi. Inoltre, l'obesità, l'intolleranza al glucosio e l'ipertensione nell'infanzia sono state recentemente segnalate come fortemente associate a un aumento dei tassi di morte prematura, cioè la morte prima dei 55 anni. Si ritiene che diversi fattori contribuiscano ad aumentare il rischio di diabete negli individui obesi, e la resistenza all'insulina e le disfunzioni endoteliali, interagendo tra loro, sono più probabili.

Sebbene diversi fattori genetici, biologici e ambientali contribuiscano allo sviluppo dell'obesità, lo squilibrio energetico derivante da un'attività fisica limitata e dall'assunzione di energia in eccesso sono considerati i fattori più importanti. L'inattività fisica è strumentale allo sviluppo della malattia cardiovascolare aterosclerotica e potrebbe benissimo essere intermedia tra obesità, insulino-resistenza e aterosclerosi precoce, nonché un cattivo controllo della pressione arteriosa. L'attività fisica è considerata una pietra miliare nella prevenzione del DMT2, principalmente attraverso il miglioramento della resistenza all'insulina che caratterizza l'obesità. Il rischio di sovrappeso diminuisce con incrementi dell'attività fisica e l'aumento dell'attività fisica attenua il rischio di DMT2. Quindi, una maggiore attività fisica sarebbe vantaggiosa per la gestione del peso, la prevenzione dell'obesità, la resistenza all'insulina e l'alta pressione sanguigna nei bambini.

Tuttavia, viene riportato che solo il 10% dei bambini svolge l'attività fisica settimanale raccomandata.

Esistono due problemi principali connessi con l'attività fisica nella prevenzione del rischio di sovrappeso / obesità, sono: 1) la quantità di attività fisica associata alla prevenzione e al trattamento in sovrappeso e 2) la relativa mancanza di misure oggettive della quantità di attività fisica eseguito con il relativo dispendio energetico totale (TEE). La quantità effettiva di attività fisica è un fattore cruciale nel TEE. Nell'ultimo decennio, la tecnologia che fornisce una valutazione oggettiva della quantità di attività fisica è aumentata, in particolare attraverso i sensori di movimento. Tuttavia, la quantità di attività fisica svolta dai bambini anche con questi dispositivi non è stata misurata in modo affidabile, a causa di pochi giorni (da 3 a 4) di raccolta dei dati. Le scuole rappresentano un importante veicolo per le strategie di prevenzione degli interventi, perché i bambini trascorrono più tempo nelle scuole che in qualsiasi altro contesto.

LABORATORIO DI PATOLOGIA MOLECOLARE, CELLULARE E ULTRASTRUTTURALE

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.

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

L'obesità è diventato un problema di salute pubblica sempre più diffuso nel mondo occidentale. La coesistenza di obesità con diabete di tipo 2, dislipidemia ed ipertensione, definita come Sindrome Metabolica porta ad un aumento del rischio di eventi cardiovascolari. Studi del laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare hanno mostrato che l'attività del Recettore Mineralcortioide regola la funzione e lo sviluppo degli adipociti. Una aumentata attività del Recettore Mineralcortioide (MR) è stata inoltre osservata nel tessuto adiposo di modelli murini di obesità come pure in soggetti umani obesi, suggerendo che MR può alterare il normale metabolismo del tessuto adiposo e portare all'obesità.

Stante la crescente diffusione di obesità, diabete e sindrome metabolica, terapie volte a ripristinare la corretta funzionalità di MR in soggetti obesi potrebbero costituire un nuovo approccio terapeutico all'obesità e a patologie ad essa associate. Studi del laboratorio hanno mostrato che l'attività del Recettore Mineralcortioide regola la funzione e lo sviluppo degli adipociti. In particolare, l'aumentata attività del recettore mineralcortioide (MR) nell'adipocita, promuove il differenziamento ed il blocco farmacologico di questo recettore tramite antagonisti farmacologici determina la riduzione della massa grassa e del grado di infiammazione del tessuto adiposo e porta al miglioramento della sensibilità insulinica, almeno in modelli murini di obesità.

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, e si valuta 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 sono valutati in soggetti umani normopeso, soggetti obesi con normali parametri metabolici (soggetti MNO), e soggetti obesi con metabolismo alterato (soggetti MAO). Si valutano inoltre gli effetti del trattamento

farmacologico con antagonista specifico di MR (eplerenone) nei soggetti obesi MAO trattati per 12 settimane.

Considerando la crescente diffusione di obesità, diabete e sindrome metabolica, terapie volte a ripristinare la corretta funzionalità di MR in soggetti obesi potrebbero costituire un nuovo approccio terapeutico all'obesità e a patologie ad essa associate.

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 menzionati il test di tolleranza al glucosio tramite iniezione intraperitoneale di glucosio e successiva misura dei livelli di glucosio circolanti usando un glucometro. Inoltre vengono preparate, sia dai topi wild-type che knockout per MR, colture di adipociti primari e la capacità differenziativa di tali colture viene investigata con real-time PCR. 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).

Nel presente progetto, topi sottoposti a dieta obesogena e trattati con gli antagonisti di MR Spironolattone e Drosiprenone hanno mostrato aumentata attività del tessuto adiposo bruno ed aumentata conversione del tessuto adiposo bianco in tessuto adiposo bruno ("browning"), con conseguente ridotto aumento di peso, ridotta obesità e migliorata sensibilità insulinica. Il trattamento con antagonisti di MR promuove quindi l'attività termogenica del tessuto adiposo con effetti metabolici antiobesogenici. Topi con delezione di MR nell'adipocita maturo (Adipo-MRKO) non sono invece protetti dagli effetti deleteri della dieta obesogena. Ciò suggerisce che la delezione di MR nel preadipocita, ma non nell'adipocita maturo, è in grado di contrastare l'espansione della massa grassa con la conseguente alterazione del metabolismo glucidico. L'analisi dell'espressione genica di MR e dei suoi geni target nel tessuto adiposo sottocutaneo di soggetti obesi con profilo metabolico normale (MNO) o alterato (MAO) non ha mostrato differenze, suggerendo che MR ha un ruolo marginale nel regolare la funzione del tessuto adiposo sottocutaneo umano. Ulteriori analisi saranno necessarie per chiarire il ruolo di MR nel promuovere alterazioni e patologie cardiovascolari correlate all'obesità.

Si è partiti dall'ipotesi che le aberrazioni del metabolismo lipidico e della composizione corporea indotte dalla sovralimentazione, potessero dipendere dall'iperattivazione di MR nel tessuto adiposo. L'impatto delle variazioni nell'attivazione di MR nel grasso e sulle funzioni metaboliche durante l'aumento di peso non è stata studiata nell'uomo, e neppure l'effetto dell'antagonismo di MR sulla disfunzione metabolica e l'attività del grasso bruno. L'intento che ci si è proposti con questo progetto è stato quello di contribuire a delucidare i meccanismi alla base della obesità MAO per cercare di individuare possibili target al fine di sviluppare nuove strategie terapeutiche per questo tipo di pazienti.

GIOVANI RICERCATORI

LABORATORIO DI ENDOCRINOLOGIA CARDIOVASCOLARE

Role of the adipocyte mineralocorticoid receptor (MR) in the development of sarcopenic obesity

Nei pazienti obesi, soprattutto in soggetti anziani, si assiste ad un aumento della massa grassa con eventuale perdita della massa muscolare, inoltre è stato dimostrato che l'obesità influisce sullo stato infiammatorio, che a sua volta contribuisce allo sviluppo e alla progressione della sarcopenia, indicando che esiste un nesso di causalità tra l'obesità e la perdita di massa muscolare (sarcopenia).

Considerato il ruolo fondamentale del muscolo scheletrico nel mantenimento della funzione motoria e della funzione metabolica dell'organismo, appare evidente che il deterioramento del sistema muscolare incide in modo negativo sulla salute dell'organismo. Inoltre l'invecchiamento è spesso associato con l'obesità e l'osteoporosi e alcuni studi suggeriscono che il tessuto adiposo disfunzionale di individui obesi può portare allo sviluppo di osteoporosi, indotto dal rilascio di molecole biologicamente attive che potrebbero influenzare il metabolismo osseo.

È stato dimostrato che l'aumento dell'attività di MR nell'obesità promuove l'espressione di adipochine pro infiammatorie (TNF alpha, IL-6) che possono indurre un danno a livello di muscolo e osso. In particolare, alcuni studi mostrano che il blocco di MR riduce il numero di adipochine pro infiammatorie e l'espansione del tessuto adiposo in un modello murino di obesità. Inoltre, è stato dimostrato che l'antagonismo di MR ha un effetto diretto sull'espressione delle adipochine nelle 3T3-L1.

Tali risultati suggeriscono che gli antagonisti di MR, correntemente usati nel trattamento dello scompenso cardiaco congestizio (Congestive Heart Failure, CHF), potrebbero costituire una terapia efficace per alcune patologie metaboliche tra le quali l'obesità sarcopenica. Il progetto mira a chiarire se l'attivazione di MR nella cellula adiposa possa influenzare lo sviluppo di sarcopenia e osteoporosi. L'obesità sarcopenica, condizione patologica caratterizzata dalla compresenza di obesità e sarcopenia (intesa come perdita di massa muscolare), è spesso associata allo sviluppo di osteoporosi, in particolar modo nei soggetti anziani. L'ipotesi alla base del progetto è che l'iperattivazione di MR nell'adipocita che caratterizza i pazienti obesi, promuovendo l'espressione di adipochine pro infiammatorie, potrebbe indurre una perdita di massa muscolare e di massa ossea. A questo scopo si effettua un'analisi di muscolo e osso in un modello murino caratterizzato da una delezione genetica del recettore nel tessuto adiposo in presenza di dieta obesogena. Si valuta quindi l'effetto di una modulazione del profilo delle adipochine, indotta da MR, sullo sviluppo di eventuali alterazioni metaboliche a livello di mioblasti e osteoblasti. Si studia la correlazione tra l'aumentata attività di MR nell'adipocita e la presenza contestuale di sarcopenia e osteoporosi in pazienti obesi. Tali analisi potrebbero aprire la strada all'utilizzo di antagonisti di MR, già ampiamente usati nel trattamento dell'ipertensione e dello scompenso cardiaco, nel trattamento dell'obesità sarcopenica.

Obiettivi dello studio:

Aim 1. Viene effettuata una analisi della composizione corporea, della tolleranza al glucosio, della sensibilità insulinica di topi con una delezione del recettore specifica per il tessuto adiposo (Adipo MR KO), sottoposti a dieta obesogena per un periodo di 4 mesi. Si analizza la massa muscolare, l'accumulo di lipidi e l'espressione di marker specifici dell'apoptosi, della proteolisi e dell'autofagia nel muscolo scheletrico.

Aim 2. Per quanto riguarda lo studio dell'azione delle adipochine trascrizionalmente regolate da MR sulla funzione muscolare e ossea, si effettua una purificazione di osteoblasti, mioblasti e cellule satelliti da topi wild-type e tratteremo le cellule con mezzi condizionati ottenuti da colture di adipociti primari derivanti da biopsie di topi MRKO. Si analizza l'espressione di marker del differenziamento, dell'apoptosi, della proteolisi e dell'autofagia in cellule miogeniche e l'espressione di marker del differenziamento osteoblastico in cellule MC3T3-E1. Inoltre, le colture cellulari incubate con i mezzi condizionati di colture di adipociti, sono trattate con anticorpi specifici per determinate adipochine, allo scopo di identificare le adipochine che inducono il danno a livello del muscolo scheletrico e dell'osso.

Aim 3. Allo scopo di valutare se le osservazioni condotte su animali e cellule sul ruolo di MR nell'obesità sarcopenica possano essere applicate all'uomo, si sottopongono pazienti obesi/sarcopenici ad analisi tramite MRI, Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA) e Bioimpedenziometria (BIA) tenendo conto altresì della qualità della vita dei soggetti arruolati nello studio. Si studia la presenza di MR in forma di proteina e l'attività del recettore nel tessuto adiposo

dei pazienti, allo scopo di caratterizzare il ruolo di MR nella fisiopatologia delle morbidità associate all'obesità.

Infine si utilizza il siero dei pazienti per realizzare delle colture di cellule staminali mesenchimali e studiare il potenziale effetto del siero di soggetti obesi e obesi/sarcopenici sul differenziamento cellulare.

L'obesità sarcopenica rappresenta una condizione patologica complessa che coinvolge l'interazione tra tessuto adiposo, tessuto muscolare scheletrico e tessuto osseo. Il ruolo di MR nell'adipocita in questo contesto non è mai stato studiato, ma dati clinici preliminari suggeriscono un potenziale effetto dannoso a carico dell'osso in soggetti affetti da iperaldosteronismo.

Come precedentemente osservato dal gruppo di ricerca, topi wild type trattati con antagonisti di MR risultano resistenti all'obesità. Ci si aspetta quindi che l'assenza del recettore nell'adipocita sia in grado di contrastare l'espansione del tessuto adiposo nei topi MRKO sottoposti a dieta obesogena riducendo l'espressione di adipochine pro infiammatorie e dei markers di danno del muscolo scheletrico (geni chiave coinvolti nella degradazione proteolitica, pathways apoptotici e markers di attivazione della risposta infiammatoria), e rallentando la degenerazione della struttura ossea.

I sovrantanti delle colture di adipociti primari da topi MRKO dovrebbero inoltre contenere livelli ridotti di adipochine pro infiammatorie rispetto ai sovrantanti di adipociti primari da topi wild type, causando un danno minore a livello delle colture di cellule adipose e muscolari.

Ci si aspetta altresì che i livelli proteici di MR siano più elevati nei soggetti obesi rispetto ai controlli non obesi e che il siero dei soggetti obesi contenente elevati livelli di adipochine infiammatorie interferisca maggiormente con la funzione differenziativa delle colture di cellule adipose e muscolari rispetto al siero di soggetti non obesi.

L'obesità sarcopenica rappresenta una condizione patologica complessa che coinvolge l'interazione tra tessuto adiposo, tessuto muscolare scheletrico e tessuto osseo. Il ruolo di MR nell'adipocita in questo contesto non è mai stato studiato, ma dati clinici preliminari suggeriscono un potenziale effetto dannoso a carico dell'osso in soggetti affetti da iperaldosteronismo. 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.

L'originalità del progetto è rappresentata dall'utilizzo di un modello animale sperimentale caratterizzato dall'assenza di MR solo nel tessuto adiposo. Lo studio di tale modello fornirà importanti informazioni circa gli effetti dell'attivazione di MR sull'insorgenza e la progressione di disfunzioni metaboliche a carico del tessuto adiposo in grado di causare danni a livello del muscolo scheletrico e dell'osso. Lo studio può dare un contributo sostanziale alla comprensione del ruolo di MR nell'adipocita e può suggerire nuovi target potenziali da utilizzare nella terapia farmacologica dell'obesità sarcopenica e delle patologie ad essa correlate.

Vengono utilizzati per:

Aim 1: 1) I topi con una delezione del recettore specifica nel grasso (Adipo MRKO) e i controlli normali (wild-type,wt) sono stati sottoposti a dieta obesogena (High fat diet, HFD) per 120 giorni consecutivi. 2) In tutti gli animali è analizzata la tolleranza al glucosio. E' effettuata un'analisi della dimensione delle fibre muscolari e una colorazione specifica per il contenuto lipidico a livello del muscolo scheletrico. Inoltre viene analizzata l'espressione dei geni coinvolti nell'apoptosi (BCL2, FAS, Caspase-3, BAX) e nella proteolisi ubiquitina-proteasoma dipendente (Ubiquitin, 20 S proteasome subunit C2 and 14 kDa ubiquitin-conjugating enzyme) così come i livelli proteici del marker autofagico LC3.

Aim 2: 1) I depositi di grasso viscerale dei topi MRKO e dei controlli wt sottoposti a dieta obesogena sono utilizzati per realizzare colture di adipociti primari.

2) I sovrantanti ottenuti dalle colture di adipociti primari dopo 7 giorni di differenziamento vengono utilizzati per trattare colture di mioblasti (C2C12) e di osteoblasti (MC3T3-E1). Il grado di differenziamento di entrambe le colture cellulari è valutato mediante un'analisi di espressione genica per i principali markers del differenziamento muscolare (MyoD, Myf5, myogenin) e osseo (alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin (OCN), COL1A1,osteopontin (OPN)). Inoltre vengono analizzati

alcuni markers del differenziamento adipocitario nelle colture di adipociti primari isolati da topi MRKO e controlli wt (adiponectin, leptin, TNF-alpha e IL-6).

3) Le colture cellulari C2C12 e MC3T3-E1 vengono trattate con i sovrannutrienti descritti al punto ii in presenza di anticorpi specifici per adiponectina, leptina, TNF-alpha o IL-6 e successivamente vengono studiate l'apoptosi, la proteolisi, e l'autofagia.

Aim 3: Il progetto prevede, inoltre, lo studio del ruolo di MR nell'obesità sarcopenica nell'uomo. Vengono arruolati nello studio:

- a) individui obesi (BMI >30Kg/m², n=10);
- b) individui affetti da obesità sarcopenica (BMI >30Kg/m², n=10);
- c) individui normopeso di controllo (BMI <25 Kg/m², n=10).

Tutti i soggetti arruolati sono sottoposti ad analisi di composizione corporea quali: calcolo di BMI, circonferenza vita e circonferenza polso, circonferenza vita-fianchi, analisi di pressione arteriosa e funzionalità cardiaca. Lo stato metabolico e infiammatorio dell'osso viene analizzato mediante misurazione di markers infiammatori (livelli circolanti di TNF-alpha, IL-6, CRP, sRAGE, esRAGE, YKL-40), aldosterone, renina e angiotensina allo scopo di valutare potenziali alterazioni in questo specifico sistema ormonale, di markers ossei (livelli circolanti di sclerostin, serotonin, osteocalcin and CTx) e di markers muscolari (irisin, myostatin, IGF) e mediante lo studio del metabolismo come precedentemente descritto.

Sono analizzati i livelli proteici di MR in biopsie di tessuto adiposo collezionate da tutti i soggetti arruolati nello studio. 2) Il siero dei pazienti viene utilizzato per trattare le colture cellulari di C2C12 e MC3T3-E1 come precedentemente descritto nell'obiettivo 2 del disegno sperimentale (2,3).

Il modello Adipo-MRKO è validato tramite real-time RT-PCR e western blot analysis di tessuto adiposo sottocutaneo e viscerale ed è osservata una riduzione dell'espressione di MR sia a livello di mRNA sia a livello di proteina pari a circa il 50% rispetto al gruppo di controllo. In particolare l'analisi in real time RT-PCR della frazione vasculo stromale e della frazione matura di biopsie di topi Adipo-MRKO permette di stabilire che la riduzione osservata riguarda esclusivamente gli adipociti terminalmente differenziati. I topi Adipo-MRKO e i relativi topi di controllo sono sottoposti a dieta obesogena per 14 settimane. Non sono state rilevate differenze significative in termini di aumento di peso, tolleranza al glucosio e sensibilità insulinica tra i due gruppi. I valori plasmatici di trigliceridi, acidi grassi liberi e colesterolo sono risultati paragonabili tra i due gruppi in esperimento. L'analisi in real-time RT-PCR del tessuto adiposo viscerale non ha rivelato differenze in termini di espressione genica di adipochine e potenziali target di MR tra i topi Adipo-MRKO e il gruppo di controllo, il tessuto adiposo viscerale è stato analizzato anche a livello istologico ma non sono state riscontrate differenze in termini di grandezza e distribuzione degli adipociti tra i due gruppi in esperimento. Dopo aver concluso la caratterizzazione metabolica complessiva del modello e l'analisi della funzionalità del tessuto adiposo ci si appresta ad effettuare le analisi relative al muscolo scheletrico. Contestualmente allo studio in vivo è indagato il ruolo fisiopatologico di MR in una linea umana di osteoblasti (Saos-2) in vitro. I livelli di mRNA e proteina del recettore, analizzati rispettivamente tramite real-time RT-PCR e western blot, non appaiono modulati in seguito al trattamento con aldosterone o spironolattone. Inoltre l'attivazione o il blocco di MR non mostra effetti significativi sui principali marker del differenziamento e dell'attività delle cellule osteoblastiche (collagene, osteocalcina e fosfatasi alcalina).

Sono stati sottoposti a pre-screening pazienti afferenti agli ambulatori del Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Fisiopatologia Medica, Endocrinologia e Scienza dell'Alimentazione, del Policlinico Umberto I di Roma. Ad oggi sono stati selezionati 26 soggetti obesi di cui 20 di sesso femminile e 6 di sesso maschile.

Studi condotti in modelli animali hanno dimostrato che il blocco farmacologico di MR riduce l'espansione del tessuto adiposo e l'infiammazione, con potenziali effetti benefici su altri tessuti metabolicamente attivi, affetti dal rilascio di adipochine circolanti, come il muscolo scheletrico.

Il blocco di MR nel tessuto adiposo, dunque, potrebbe portare ad un miglioramento significativo del metabolismo adipocitario e muscolare anche nell'uomo, in presenza di obesità sarcopenica con e senza osteoporosi. Gli studi condotti dal laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare potrebbero

condurre allo sviluppo di nuovi approcci terapeutici, basati sull'utilizzo di antagonisti di MR nel trattamento dell'obesità sarcopenica e delle conseguenze ad essa correlate.

LABORATORIO DI BIOINGEGNERIA DELLA RIABILITAZIONE

Anno 2011-2012

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

La malattia di Parkinson (MP) è una patologia cronico-evolutiva. Attualmente la prevalenza è pari all'1% della popolazione sopra i 60 anni ed è in crescita. Alla riabilitazione è riconosciuto un ruolo fondamentale accanto alle terapie farmacologiche e chirurgiche: promuovere l'attività fisica continuativa, garantire cicli di riabilitazione intensiva basata sull'utilizzo di tecniche aerobiche e task-oriented sono indicate dalle linee-guida basate sull'evidenza come approcci efficaci nel gestire la disabilità globale e selettiva; tuttavia aggiungere tecniche di potenziamento dell'apprendimento motorio, che contrastino le difficoltà di consolidamento del gesto appreso, tipiche del soggetto con MP, e raggiungere il paziente a casa con sistemi di teleriabilitazione potrebbero essere strategie utili ad ottimizzare l'approccio assistenziale alla MP. Pertanto il progetto di ha affrontato il tema della riabilitazione associata a tecniche di "Action Observation" (AO) erogate in ambulatorio e a casa mediante sistemi informatici nei soggetti con MP. La terapia basata sull'Osservazione dell'Azione (AO) è stata introdotta efficacemente come potenziamento della riabilitazione di pazienti neurologici in protocolli di studio preliminari.

L'obiettivo primario del progetto, multicentrico controllato verso placebo e randomizzato, è stato quello di verificare l'efficacia della terapia basata sull'AO nel migliorare la destrezza (Obiettivo 1) ed il cammino (Obiettivo2) in persone affette da MP. Si sono confrontate modalità diverse di somministrazione dell'AO, ovvero il gesto mostrato dal terapeuta rispetto al gesto mostrato mediante un video su schermo. Infine l'obiettivo secondario (Obiettivo 3) dello studio è stato quello di verificare la fattibilità di un protocollo di AO home-based, ovvero fornito a casa mediante piattaforma informatica.

Per la terapia ambulatoriale sono stati arruolati nello studio 123 soggetti con MP (n=68 per il protocollo arto superiore e n=55 per il protocollo arto inferiore) di età compresa tra 18 e 80 anni, in grado di camminare 25 metri senza aiuto o con minima assistenza, terapia stabile da almeno 4 settimane, non dementi o depressi e sono stati randomizzati nei tre gruppi di trattamento per ogni obiettivo, come segue. Obiettivo 1: Ogni giorno, prima di iniziare l'allenamento fisico, al paziente veniva richiesto di guardare con attenzione il fisioterapista (EG 1) o guardare un video (AO) (EG 2) che mostrava 20 diverse attività di routine quotidiane (azioni) effettuate con l'arto superiore. Obiettivo 2: prima di iniziare le sedute di riabilitazione, al paziente era chiesto di guardare con attenzione il fisioterapista (EG 3) o guardare un video (AO) (EG 4) rappresentante 20 diverse strategie di movimento svolte per evitare episodi di freezing del passo (FOG) e ciclo del passo. Per ogni obiettivo alcuni pazienti venivano randomizzati nel gruppo di controllo, ed osservavano video rappresentanti immagini statiche (paesaggi) prima di iniziare il trattamento riabilitativo per l'arto superiore o inferiore rispettivamente.

Tutti i partecipanti sono stati valutati 4 volte: 1) a T0 (visita baseline); 2) a T1/2 (dopo 10 sedute di trattamento); 3) a T1, al termine del trattamento riabilitativo (dopo 20 sedute) e 4) a T2: a distanza di ~4 mesi dalla fine del trattamento. 43 pazienti sono stati arruolati per lo studio di riabilitazione domiciliare ed hanno effettuato 3 valutazioni: 1) a T0, inizio del trattamento; 2) a T1 dopo ~2-3 mesi da T0 e 3) a T2 ~4-6 mesi da T0. L'endpoint primario dell'obiettivo 1 era il miglioramento della destrezza. L'endpoint primario dell'Obiettivo 2 era il miglioramento del cammino e del FOG. L'endpoint primario dell'Obiettivo 3 l'accettabilità e fattibilità di un allenamento domiciliare basato sull'AO e sistemi informatici. Pertanto, tra le misure primarie di outcome sono state selezionate il Box and Block (BB), Nine Hole Peg Test (NHPT), Small Coin e Small Lock Rotation Test (SCRT),

SLRT) per l'Obiettivo 1 ; 6 minutes walking test (6MWT), 10 meters walking test (10MWT), FOG-Questionnaire (FOGQ) e misure spazio temporali del passo per l'Obiettivo 2. L'aderenza al trattamento e l'effetto clinico specifico al lungo termine erano le misure per il monitoraggio dell'effetto della terza parte del progetto. Inoltre è stato monitorato l'effetto del trattamento riabilitativo su misure globali di qualità di vita (PDQ-39)

L'analisi statistica relativa ai tre gruppi sperimentali per i primi due Obiettivi è stata svolta tramite ANOVA (ANalysis Of VAriance) con disegno a misure ripetute.

Relativamente all'obiettivo 1, alla valutazione basale i 3 gruppi di trattamento risultavano equivalenti per misure demografiche e cliniche. I dati raccolti sulla performance motoria dell'arto superiore hanno nel complesso evidenziato un miglioramento statisticamente significativo della destrezza manuale indotta dal trattamento riabilitativo (effetto tempo) e le valutazioni post-hoc hanno dimostrato una maggior efficacia dei trattamenti sperimentali EG1 ed EG2 rispetto al gruppo di controllo (CG1). Inoltre, si è osservato un effetto tempo x trattamento significativo a favore dei gruppi sperimentali (senza differenze tra quest'ultimi) nel caso delle misure: NHPT mano sinistra, SCRT mano destra e sinistra e SLRT mano sinistra.

Relativamente all'obiettivo 2, alla valutazione basale i tre gruppi di trattamento erano equivalenti per misure demografiche e cliniche. I dati raccolti sulla performance durante il cammino e sul FOG hanno nel complesso evidenziato un miglioramento statisticamente significativo della velocità, della resistenza e del FOG indotto dal trattamento riabilitativo (effetto tempo), indipendentemente dal gruppo. Le valutazioni post-hoc hanno dimostrato una maggior efficacia dei trattamenti sperimentali EG3 ed EG4 rispetto al gruppo di controllo (CG2).

Relativamente all'obiettivo 3, l'aderenza al trattamento domiciliare mediato da supporti informatici è stato in media >80% e l'effetto clinicamente e statisticamente significativo sia sulle misure di arto superiore che per quelle dell'arto inferiore.

Gli obiettivi primari sono stati raggiunti. In particolare, l'approccio riabilitativo basato sull'AO è risultato efficace nel migliorare la destrezza ed il cammino di soggetti con disabilità legata alla MP. L'AO fornisce effetti quantitativamente superiori a quelli determinati dal placebo sia nel caso della destrezza che della velocità del cammino. L'assenza di una significativa differenza tra la somministrazione dell'AO in maniera reale (mediata da un terapeuta) rispetto a quella mediata da un video pone le basi all'uso di questa tecnica in protocolli di tele-riabilitazione. Infatti, lo studio pilota sulla terapia riabilitativa a domicilio, basata sull'AO fornita da dispositivi informatici, è risultata accettata, utilizzata ed efficace.

I risultati di questo progetto soddisfano l'ipotesi iniziale di un trattamento efficace per il contenimento dell'evoluzione della disabilità motoria nella MP, che possa essere erogato anche attraverso metodiche di tele-riabilitazione al fine di garantire la presa in carico continuativa ed efficiente in termini umani ed economici.

Anno 2016

Neuroimaging biomarkers toward an optimized and personalized Action Observation treatment (AOT) in chronic stroke patients: New strategies to maximize the efficacy of upper limb functional rehabilitation

L'AOT, nato nel campo della neurofisiologia, è un approccio recente, basato sul sistema dei neuroni specchio (Mirror Neuron System; MNS) ed è utilizzato per ricostruire, nonostante le lesioni neurologiche, le funzioni motorie di soggetti con mobilità limitata, grazie al coinvolgimento delle regioni cerebrali che si attivano durante sia l'esecuzione che l'osservazione di azioni motorie.

In questo studio i segnali EEG verranno acquisiti ed analizzati per identificare gli stimoli visivi più efficaci, per quantificare i cambiamenti/il recupero e per tracciare il profilo elettrofisiologico dei pazienti. Inoltre, verrà implementato e valutato anche un programma di AOT domiciliare innovativo.

Il presente studio si prefigge di:

- Determinare la categoria di azione (categoria dello stimolo) capace di evocare il maggior reclutamento neuronale del sistema mirror e identificare gli indicatori di neuroimaging da

utilizzare per predire gli outcome riabilitativi, così da generare un effetto sulla gestione clinica dei pazienti grazie alla selezione di un protocollo di esercizi di AOT ottimale.

- Indurre e valutare una modifica funzionale delle componenti corticali su cui si basa l'organizzazione dell'azione, avvalendosi delle caratteristiche peculiari del MNS e dimostrando i cambiamenti clinici, cinematici e neurofisiologici rilevanti dopo l'AOT ottimizzato. Inoltre, fornire questo trattamento aggiornato prendendo in considerazione anche il valore predittivo del biomarcatore.
- Fornire un programma di AOT domiciliare per verificare la fattibilità valutata sull'evidenza per dare evidenza della possibilità di una futura applicazione sistematica di questo approccio.

Lo studio prevede le seguenti attività:

- FASE 0 - Presentazione dello studio, selezione e arruolamento dei pazienti dal mese 1 al mese 30, 40 pazienti con esiti di ictus afferenti all'Unità di Riabilitazione Neuro-motoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana, sia in regime di ricovero che ambulatoriale, sono progressivamente valutati e arruolati secondo i criteri previsti per la partecipazione a tutte le fasi dello studio BE-TOP.

Una fase di arruolamento analoga ha luogo presso l'Unità Operativa della Casa di Cura del Policlinico di Milano e coinvolge altri 40 pazienti.

Durante una prima fase sono arruolati 10 pazienti per centro partecipante per inserirli nella fase 1 dello studio, una volta terminata la fase 1 sono arruolati ulteriori 30 pazienti per centro partecipante e assegnati casualmente ad un gruppo sperimentale o di controllo della fase 2.

- FASE 1: Acquisizioni dei segnali EEG su 10 pazienti (per centro partecipante). Dal mese 4 al mese 8 vengono eseguite acquisizioni EEG per valutare quale tipo di stimoli visivi di attività di vita giornaliera (ADL) sia più efficace nell'indurre l'eccitabilità della corteccia durante l'osservazione dell'azione. Le acquisizioni e le valutazioni sono effettuate su 10 pazienti (5 con lesione destra e 5 sinistra) e vengono mostrati video appartenenti a quattro diverse categorie, tre categorie di azioni inerenti il nutrirsi, la cura di sé e azioni esterne (spazio peripersonale dell'attore), inoltre sono presentati stimoli video di controllo neutri (paesaggi in movimento). Vengono identificati biomarcatori EEG. Viene eseguito un confronto sui ritmi EEG e sui biomarcatori tra i due gruppi e tra le categorie di azioni osservate. La categoria di video più efficace è successivamente selezionata per il trattamento dei pazienti nella fase successiva.
- FASE 2: Studio su 30 pazienti (per centro partecipante) degli effetti dell'AOT su plasticità cerebrale e effetto clinico, studio di validità e dell'accettazione di un protocollo AOT domiciliare. La valutazione clinica preliminare include diverse scale di valutazione riconosciute dalla letteratura e dalle linee guida internazionali.

Le scale di valutazione clinica rappresentano le misure di outcome più comuni nella riabilitazione, ma forniscono semplicemente informazioni qualitative sulle prestazioni motorie del paziente. I parametri EEG, EMG e cinematici forniscono una descrizione quantitativa della risposta corticale agli stimoli, dei cambiamenti e del recupero muscolare e motorio. L'EEG mostra i cambiamenti avvenuti nelle aree corticali coinvolte nella pianificazione e nell'esecuzione motoria dopo la terapia AOT e indicano i biomarcatori neurofisiologici per predire l'efficacia AOT, mentre le misurazioni EMG e la registrazione cinematica dell'arto superiore forniscono una descrizione quantitativa dei cambiamenti nel reclutamento muscolare e nel recupero funzionale. I risultati di questa ricerca traslazionale potranno garantire progressi nell'ottimizzazione e nella personalizzazione del processo riabilitativo contribuendo così a migliorare la qualità della vita di pazienti con ictus cronico.

LABORATORIO DI BRAIN CONNECTIVITY

Bando 2011-2012

Neurophysiological markers of neuroplasticity in normal and pathological aging.

La neuroplasticità è definita come la capacità del sistema nervoso di modificare la propria struttura e funzione come parte di processi che sottostanno l'apprendimento e la memoria. I meccanismi di neuroplasticità si basano sui cambiamenti che avvengono principalmente nella comunicazione sinaptica e variano con l'età, mostrando un'associazione tra età e declino corticale che correla con il deterioramento cognitivo. Partendo dall'ipotesi che la malattia di Alzheimer presenta nelle sue fasi iniziali un'alterazione della comunicazione sinaptica, diventa chiaro che lo studio dei meccanismi di neuroplasticità rappresenti un importante obiettivo di ricerca. Empiricamente, misurare fenomeni di neuroplasticità potrebbe consentire di individuare quali siano i marcatori predittivi della malattia, che possano rappresentare un punto di partenza per lo sviluppo di strategie neuroriabilitative. Individuare, in anticipo, i marcatori neurofisiologici ed i meccanismi molecolari che sono alla base del declino cognitivo attraverso i modelli animali potrebbe fornire importanti risultati traslazionali.

L'ipotesi di partenza del progetto è che la stimolazione cerebrale non invasiva sia in grado di modulare diversamente la neuroplasticità nel cervello del giovane rispetto a quello dell'anziano sano. Inoltre, si ipotizza di osservare un continuum tra l'invecchiamento fisiologico e l'invecchiamento patologico (di diverso grado nei disturbi neurodegenerativi). L'analisi dei marcatori neurofisiologici dopo l'applicazione della stimolazione transcranica a correnti dirette (tDCS) dovrebbe fornire degli indici prognostici della degenerazione cognitiva. La possibilità di correlare i marcatori corticali e comportamentali potrebbe permetterci di distinguere tra responders/non responders ai protocolli riabilitativi. Lo studio in parallelo con il modello animale contribuirà ad individuare i meccanismi molecolari e di correlarli con i dati ottenuti nell'uomo.

L'obiettivo generale del progetto è individuare i meccanismi di disfunzione sinaptica nell'invecchiamento sano e rapportarlo alla malattia di Alzheimer (AD) attraverso un approccio di tipo traslazionale, valutando la neuroplasticità a livello corticale, molecolare e comportamentale. In particolare, sono stati definiti tre obiettivi specifici:

1) Attività 1- Studiare se l'applicazione di un protocollo di stimolazione cerebrale non invasiva (i.e., stimolazione transcranica a corrente continua-tDCS) può essere utilizzato per individuare le fasi iniziali del deterioramento della plasticità sinaptica, confrontando marcatori corticali, acquisiti prima e dopo l'applicazione della tDCS in un gruppo di partecipanti giovani sani, anziani sani e pazienti con AD.

2) Attività 2- Valutare la risposta comportamentale in seguito all'induzione di neuroplasticità, per ciascun gruppo sperimentale umano e studiare le correlazioni tra le misure comportamentali e i marcatori neurofisiologici associati alle alterazioni nella plasticità, indotta dalla tDCS.

3) Attività 3- Caratterizzare gli effetti indotti dalla 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; e 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.

Si ipotizza di osservare una riduzione progressiva nei cambiamenti di neuroplasticità, correlata con l'età e di trovare un continuum tra l'invecchiamento sano e l'invecchiamento neurodegenerativo. Tali risultati permetteranno l'identificazione di specifici marcatori neurofisiologici e prognostici del declino cognitivo. Tuttavia l'assunto che i meccanismi di plasticità possano risultare alterati in specifiche regioni corticali nei pazienti AD è stato già ampiamente dimostrato. Inoltre, resta congetturale l'assunto che i cambiamenti di plasticità (facilitazione o inibizione) siano necessari per il miglioramento della AD. Pertanto, l'ipotesi ambiziosa del nostro progetto di studiare i marcatori neurofisiologici relativi agli effetti di neuromodulazione indotta dalla tDCS come indici di plasticità corticale potrebbe risultare rischiosa. La scelta di testare la plasticità corticale nello stesso soggetto con differente polarità di stimolazione (anodica e catodica) potrebbe consentire di avere, per la prima volta, un chiaro modello di quali siano i meccanismi funzionali sia nei soggetti sani che nei pazienti AD. Un altro aspetto critico riguarda la questione se il miglioramento della prestazione comportamentale in un compito possa rappresentare un miglioramento cognitivo. Per valutare possibili potenziamenti in termini di plasticità cognitiva, si prendono in considerazione la possibilità

di integrare ed ampliare la valutazione cognitiva con l'aggiunta di test neuropsicologici. Inoltre, l'individuazione dei meccanismi molecolari sottostanti i cambiamenti sinaptici indotti dalla tDCS nel modello animale potrà risultare utile per sviluppare nuovi approcci per la prevenzione della malattia, basati sull'individuazione di precoci modificazioni funzionali a livello neuronale e sui target molecolari delle vie neuronali coinvolti nella disfunzione sinaptica riscontrata nell'AD.

Il bisogno di identificare specifici marcatori predittivi delle malattie neurodegenerative rappresenta una richiesta emergente da parte delle agenzie sanitarie e della società. Negli ultimi anni, diverse evidenze suggeriscono che la compromissione della plasticità sinaptica rappresenta un agente patogeno nello sviluppo dell'AD. L'elemento innovativo di questo progetto è quello di poter utilizzare diverse misure di neuroplasticità (misure molecolari, neurofisiologiche e comportamentali) al fine di comprendere la relazione sottostante la plasticità sinaptica e il declino cognitivo, ed utilizzare questi marcatori per una diagnosi precoce della malattia e per monitorare la sua evoluzione. L'obiettivo finale è quello di introdurre nuovi e potenti metodi come strumenti per indurre e monitorare i cambiamenti della neuroplasticità, e con ciò proporre nuove prospettive per la valutazione ed il trattamento dei pazienti AD. Questo approccio sarà utilizzato sia sull'uomo che nel modello animale.

Per quanto riguarda gli studi della neuroplasticità nell'essere umano, ogni partecipante è stato sottoposto a differenti sessioni sperimentali (tDCS anodica, catodica e sham). 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 (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, 80 impulsi singoli di TMS (intervallo inter-stimolo: 0.25-0.5 Hz) sono stati erogati al 90% della soglia motoria a riposo in corrispondenza dell'area di stimolazione corticale (corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra/temporo-parietale sinistra).

Il protocollo di stimolazione corticale ha previsto l'applicazione della tDCS per una durata complessiva di 13 min, erogata ad una intensità di stimolazione di 1,5 mA. L'elettrodo attivo (dimensione: 16 cm²) è stato posizionato sull'emisfero sinistro sulla corteccia coinvolta nel compito (corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra/temporo-parietale sinistra), mentre l'elettrodo di riferimento (dimensione: 50 cm²) è stato collocato sulla spalla destra. Per la stimolazione sham, 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.

I dati TMS-EEG sono stati analizzati offline (Brain Vision Analyzer 2.1). In prima istanza, il segnale EEG è stato interpolato tra -1 ms a 10 ms dopo l'impulso TMS. Successivamente, l'Independent Component Analysis (ICA) è stata effettuata al fine di identificare e rimuovere artefatti determinati da attività muscolare, movimenti oculari e artefatti indotti dalla TMS. Il segnale EEG è stato segmentato in epoche da 600 ms (da -100 ms a 500 ms rispetto all'impulso TMS), e successivamente mediato. L'attività corticale evocata dalla TMS è stata valutata calcolando l'indice Global Mean Field Power (GMFP). Per ogni partecipante, i primi quattro picchi del GMFP (P1, P2, P3, P4) sono stati identificati in specifiche finestre temporali (20-50 ms, 50-80 ms, 80-120 ms, 120-260 ms). L'ampiezza di ciascun picco, misurata prima e dopo ogni sessione di tDCS, è stata utilizzata per le successive analisi statistiche. Due differenti ANOVA a misure ripetute sono state eseguite confrontando separatamente il gruppo di partecipanti giovani ed anziani sani (between-subject factor), ed il gruppo di anziani sani e pazienti AD (between-subject factor). Nelle ANOVA sono stati considerati quali fattori within-subject: tDCS (anodica, catodica, sham), Tempo (pre e post tDCS) e Picco (P1, P2, P3, P4). Nel caso di interazioni significative, i risultati sono stati confrontati con t-test a due code, utilizzando la correzione di Bonferroni. Infine, abbiamo svolto ANOVA separate per

ciascun picco, al fine di comprendere meglio l'effetto indotto dalla tDCS sulle singole componenti del GMFP.

Per eliminare le interferenze causate da artefatti di origine oculare, muscolare, cardiaca ed altri tipi di rumore, l'EEG è stato frammentato in epoche da 2-s e sono state utilizzate due procedure: i dati sono stati rivisti per eliminare manualmente le epoche con forme d'onda aberranti; la rilevazione degli artefatti è stata poi completata con un algoritmo per l'analisi delle componenti indipendenti (ICA) sviluppato in EEGLAB. Sono stati presi in considerazione segmenti privi di artefatti per le successive analisi. Le bande di frequenza di interesse sono: delta (2-4 Hz), theta (4-8 Hz), alfa1 (8-10,5 Hz), alfa2 (10,5-13 Hz), beta1 (13-20 Hz), beta2 (20-30 Hz) e gamma (30-40 Hz).

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 su piattaforma Matlab (Matlab, Mathworks Inc). È stata sviluppata ed usata anche una media di tutte le coerenze possibili tra i vari elettrodi (total coherence).

Analisi di connettività funzionale delle sorgenti cerebrali: la connettività cerebrale è stata 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 stata 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 stati usati come peso del grafo calcolato con la teoria dei grafi.

Sono state utilizzate innovative misure di analisi dei network cerebrali per studiarne la connettività e seguirne la sua modulazione successiva alla tDCS. Per ogni partecipante ed in ogni banda di frequenza sono stati calcolati 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.

Per quanto riguarda i compiti cognitivi, per l'abilità di tipo mnestico, i partecipanti hanno svolto un compito di n-back. Il compito di n-back prevede la presentazione sullo schermo di alcune lettere in sequenza. 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 sono stati definiti 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 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 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, è stata studiata la funzione relativa alla memoria di riconoscimento attraverso una versione computerizzata del compito di riconoscimento di parole (word recognition task). 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).

I potenziali evento relativi (ERPs), registrati durante il compito di working memory, sono stati valutati solo per le risposte corrette. Il segnale EEG è stato segmentato in epoche tra -200ms e 800ms relativamente all'insorgenza dello stimolo target. Le componenti analizzate sono la P200 e la P300. Le analisi sono state condotte all'interno di quattro regioni di interesse (ROI), che hanno incluso l'area stimolata (cioè la regione frontale sinistra), l'area omologa (frontale destra) e le aree parietale sinistra e destra, in cui la P300 raggiunge tipicamente le massime ampiezze. Le ROI sono state calcolate raggruppando i seguenti elettrodi: frontale sinistro (F3, F7, AF7, FC5), frontale destro (F4, F8, AF8, FC6), parietale sinistro (P3, P7, PO7, CP5) e parietale destro (P4, P8, PO8, CP6). La P300 è stata analizzata utilizzando un'ANOVA a misure ripetute con il Gruppo come fattore between-

subjects (giovani e anziani, nel primo studio, e anziani sani e pazienti AD nel secondo studio) e il fattore stimolazione (anodica, catodica e sham) e tempo (pre e post tDCS), come fattore within-subjects, per ciascuna finestra temporale studiata all'interno di ciascuna ROI (frontale sinistro, frontale destro parietale sinistro e parietale destro). Nel caso di interazioni significative, sono stati eseguiti confronti post-hoc, applicando la correzione di Bonferroni.

Compito di n-back: la performance di ciascun partecipante è stata valutata considerando il tempo di reazione (RT) e l'accuratezza delle risposte. Nello specifico, l'accuratezza è stata calcolata attraverso l'indice di prime (d'), che prende in considerazione le risposte corrette, le risposte mancate allo stimolo target e le risposte errate allo stimolo non target (falsi allarmi). Compito di riconoscimento di parole (word recognition task): la performance è stata valutata considerando l'accuratezza delle risposte ed i tempi di reazione (RT). Per entrambi i compiti, per valutare se le prestazioni comportamentali risultavano modulate dall'applicazione della tDCS, sono state effettuate ANOVA separate per ogni outcome comportamentale con il Gruppo come fattore between-subjects (giovani e anziani nel primo studio, e anziani sani e pazienti con AD nel secondo studio) e il fattore stimolazione (anodica, catodica e sham) e tempo (pre e post tDCS), come fattore within-subjects.

Lo studio è stato svolto mediante diverse approcci sperimentali. In particolare, sono stati eseguiti esperimenti di elettrofisiologia (registrazioni di field-recording e di patch-clamp), di biologia molecolare (Western Blot, PCR, ChIP, ELISA) e comportamentali (labirinto acquatico di Morris [MWM], riconoscimento di nuovi oggetti [NOR]) su topi maschi C57BL/6 (wild-type) e 3xTg-AD, di diverse età, assegnati in modo casuale a due gruppi principali: (i) tDCS (ii) sham. L'animale 3xTg-AD è un modello sperimentale con 3 mutazioni associate alla malattia di Alzheimer familiare ad esordio precoce: APP Swedish, MAPT P301L e PSEN1 M146V).

La tDCS anodica (350 μ A per 20 minuti) è stata applicata mediante uno stimolatore a corrente costante e la densità di corrente usata è stata di 56 μ A/mm² (0,35 mA/0,0625 cm²). Il protocollo ha predisposto un aumento graduale di corrente (rampa di 10 s) fino ai 56 μ A/mm². Gli animali osservati durante applicazione di tDCS non hanno mostrato rilevanti anomalie comportamentali indotte dalla stimolazione. Gli animali di controllo hanno ricevuto una stimolazione sham (topi sham) in cui non è stata applicata alcuna corrente ma sono stati sottoposti alle stesse manipolazioni della condizione di stimolazione.

Gli elettrodi (area interna = 6,25 mm²) utilizzati per la tDCS sono stati impiantati in animali anestetizzati a livello epicraniale (parte sinistra del cranio, 1 mm a sinistra e 1 mm posteriormente al bregma). Tutte le procedure riguardanti gli animali sono state approvate dal Comitato Etico dell'Università Cattolica ed erano totalmente in linea con le normative vigenti Italiane (linee guida Ministero della Salute) e dell'Unione Europea (Direttiva n. 86/609/CEE) in materia di sperimentazione animale.

Gli esperimenti di elettrofisiologia sono stati condotti su sezioni coronali di corteccia e di ippocampo (400 μ m) preparate da cervelli di topo (sano e 3xTg-AD) per valutare la trasmissione e la plasticità sinaptica. La trasmissione sinaptica di base è stata valutata registrando: 1) le curve input-output (I/O) ottenute rapportando le ampiezze di fEPSP con le diverse intensità di stimolazione; 2) la probabilità di rilascio vescicolare valutata applicando 2 stimoli ravvicinati nel tempo (50 ms di intervallo l'uno dall'altro), rapportando il valore dell'ampiezza del secondo fEPSP sul primo fEPSP e ottenendo il paired-pulse ratio (PPR); 3) le modificazioni delle proprietà funzionali dei principali recettori ionotropici coinvolti nella trasmissione glutamatergica studiate con la tecnica del patch-clamp in configurazione whole-cell misurando il rapporto delle correnti postsinaptiche evocate mediate sia dai recettori AMPA che quelle mediate dai recettori NMDA. L'eccitabilità neuronale è studiata mediante protocolli di "blocco di corrente" come descritto in letteratura. Per gli studi di plasticità sinaptica, i potenziali di campo post-sinaptici eccitatori (fEPSP), evocati mediante un elettrodo bipolare di tungsteno connesso ad uno stimolatore, sono stati registrati attraverso un elettrodo di vetro riempito di aCSF connesso ad un amplificatore. Una volta ottenuta una baseline stabile, sono stati applicati i protocolli per l'LTP (4 treni a 100 Hz, 500 ms ognuno, ripetuti ogni 20 s). Le risposte agli impulsi test sono state registrate ogni 20 s per 60 min. Le ampiezze dell'LTP sono state valutate dopo 60 min

dall'induzione ed espresse come variazione percentuale dell'ampiezza dei fEPSP, rispetto alla baseline.

Negli esperimenti di Western Blot, i tessuti corticali ed ippocampali sono stati lisati con opportuni buffer di lisi supplementati con inibitori delle proteasi e/o fosfatasi. Dopo centrifugazione, le proteine presenti nei sovranatanti sono state quantificate con il reagente di Bradford, separate in SDS-PAGE, infine trasferite su membrane di nitrocellulosa. Il legame specifico degli anticorpi è stato rivelato mediante chemiluminescenza.

Esperimenti di immunoprecipitazione della cromatina (ChIP) sono stati realizzati sui cervelli di topi perfusi per via trans-cardiaca. Le modificazioni degli istoni sono state analizzate immunoprecipitando i complessi di cromatina con anticorpi anti-acetil H3K9. I promotori dei geni del Bdnf sono stati amplificati con primers specifici mediante PCR.

Negli esperimenti di comportamento MWM, i topi sono stati allenati a localizzare una piattaforma nascosta sotto il pelo dell'acqua di una piscina (dimensioni: 127 cm di diametro, divisa in 4 quadranti di uguale dimensione) sfruttando punti di riferimento esterni e l'avversione dei topi per l'acqua come la motivazione per svolgere il test. I topi apprendono a localizzare accidentalmente la piattaforma, posta in un quadrante target, durante il nuoto in prove successive (trials) di durata prestabilita. Una volta completata la procedura di apprendimento sono state verificate le capacità mnemoniche dei topi rimuovendo la piattaforma e valutando il tempo trascorso, il numero di attraversamenti e la distanza percorsa nel quadrante target. Il test NOR è stato condotto in una gabbia in plexiglas con pareti e fondo scuri, con due oggetti identici posti a una distanza uguale. Dopo 24 ore i topi sono stati posti ad esplorare la stessa gabbia alla presenza dell'oggetto familiare e di un nuovo oggetto. Il tempo trascorso esplorando ogni oggetto e la discriminazione dello stesso, misurati in valore percentuale sono stati registrati. Il test NOR si basa sulla tendenza spontanea dei topi di dedicare più tempo ad esplorare un nuovo oggetto rispetto ad un oggetto familiare. Spendere più tempo ad esplorare un nuovo oggetto riflette l'apprendimento e la memoria verso l'oggetto già conosciuto.

Complessivamente i risultati degli studi condotti nel progetto hanno evidenziato specifiche modulazioni indotti dalla tDCS a livello corticale, comportamentale e molecolare. I risultati conseguiti hanno permesso di comprendere più chiaramente i meccanismi sottostanti i fenomeni di neuroplasticità, indotti dalla tDCS, sia nell'essere umano che nel modello animale e di individuare possibili marcatori neurofisiologici della neuroplasticità sia nell'invecchiamento sano che in quello neurodegenerativo, correlato alla malattia di Alzheimer.

Per quanto riguarda lo studio nell'essere umano e dei suoi correlati neurofisiologici, i risultati ottenuti hanno evidenziato un preciso ruolo dell'invecchiamento sano e patologico nella capacità di indurre fenomeni di neuroplasticità, in termini di modulazioni dell'attività, eccitabilità e connettività corticale. In sintesi, per quanto riguarda lo studio sugli effetti dell'applicazione della tDCS sulla corteccia prefrontale, possiamo concludere che la tDCS è in grado di modulare in maniera polarità dipendente l'attività elettrica frontale e parietale (misurate con gli ERPs) e le componenti di reattività globale (misurate con TMS-EEG), in maniera differenziale in relazione all'età e all'invecchiamento sano e neurodegenerativo.

I risultati comportamentali evidenziano 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.

Presi insieme, i risultati dell'Attività 1 e Attività 2 suggeriscono che la tDCS anodica potrebbe avere la capacità di migliorare le prestazioni della memoria di lavoro nei soggetti anziani sani promuovendo meccanismi compensatori frontali correlati ai processi attentivi, mentre la tDCS catodica potrebbe essere più efficace nei pazienti con AD. Inoltre, si ipotizza che un diverso coinvolgimento e/o un'alterazione del sistema GABAergico nell'invecchiamento fisiologico e patologico possa spiegare la diversa modulazione dell'eccitabilità corticale come valutata mediante

TMS-EEG nei tre gruppi. I risultati supportano l'idea di un continuum nei cambiamenti funzionali attraverso il normale invecchiamento e l'AD, poiché una rottura dell'equilibrio eccitatorio / inibitorio funzionale è probabilmente presente nell'invecchiamento sia fisiologico che patologico. Per la prima volta, lo studio dimostra la capacità della tDCS di indurre modificazioni di eccitabilità corticale in modo polarità dipendente e, cosa più importante, che gli effetti indotti dall'applicazione della tDCS non sono lineari per tutta la durata della vita e in presenza di patologia neurodegenerativa. E' stato anche dimostrato che gli effetti indotti dalla tDCS in termini di neuroplasticità possono essere rivelati attraverso specifiche modulazioni dell'attività, eccitabilità e connettività corticale, anche quando i dati comportamentali non sono abbastanza sensibili da rilevare i cambiamenti funzionali. I risultati suggeriscono che la misurazione empirica della reattività corticale può fornire indicazioni interessanti e i dati elettrofisiologici potrebbero rappresentare indicatori idonei dell'invecchiamento sia fisiologico che patologico, in assenza di differenze comportamentali, permettendo di sviluppare consapevolmente interventi neuroriabilitativi modellati su caratteristiche individuali.

Globalmente lo studio relativo all'Attività 3, ha dimostrato che la tDCS anodica è in grado di migliorare la performance cognitiva sia nel modello sano che nei modelli di malattia di Alzheimer e che gli effetti della tDCS si correlano ad una significativa modulazione di vie molecolari coinvolte nella neuroplasticità. In particolare, i risultati ottenuti dimostrano che nell'animale sano la tDCS è in grado di modulare la plasticità sinaptica (indice elettrofisiologico: long-term potentiation, LTP) con effetti che durano per una settimana e che si manifestano anche in termini di miglioramento delle funzioni di apprendimento e memoria (indice comportamentale ottenuto mediante test di riconoscimento di nuovi oggetti, NOR e test del labirinto d'acqua di Morris, MWM). Le analisi molecolari hanno permesso l'identificazione del mediatore chimico degli effetti positivi della tDCS: si tratta del fattore di crescita cerebrale Bdnf la cui concentrazione aumenta sia nell'ippocampo che nella corteccia prefrontale dopo la stimolazione. Abbiamo, inoltre, dimostrato che la tDCS induce una modificazione epigenetica che consiste nell'aumentata acetilazione a livello della lisina9 dell'istone 3 (H3K9) sul promotore 1 del gene del Bdnf. Nella seconda parte del progetto, l'analisi elettrofisiologica, comportamentale e molecolare è stata condotta in modelli sperimentali di AD (topo 3xTg-AD) dell'età di 3, 6 e 9 mesi che riproducono, nel suddetto modello sperimentale, rispettivamente, le fasi preclinica, lieve e moderata della malattia di Alzheimer. Infatti, in tale modello, le prime alterazioni di plasticità sinaptica e della memoria si manifestano all'età di 6 mesi. Utilizzando questo modello sperimentale è stato dimostrato che nella fase asintomatica della malattia la tDCS non è in grado di indurre cambiamenti: i) nella LTP; ii) nell'eccitabilità neuronale; iii) nella fosforilazione della CaMKII. E' interessante notare che nei topi wild-type della stessa età la tDCS ha indotto, invece, aumenti significativi in tutti i parametri studiati. Questi dati ottenuti, in vivo, in modelli sperimentali di malattia di Alzheimer permettono di candidare la tDCS come tool utile per svelare cambiamenti neurofisiologici in una fase prodromica della malattia di Alzheimer.

Bando 2011-2012

Daily at-home follow-up of Parkinson's Disease patients motor performance through robotic and portable devices

Unità Operativa

La malattia di Parkinson (MP) è una malattia neurodegenerativa, che porta alla progressiva degenerazione e morte dei neuroni dopaminergici, localizzati nella Substantia Nigra a livello del mesencefalo. Tale progressiva deplezione neuronale conduce alla manifestazione dei sintomi della malattia (caratterizzati dalla triade: tremore a riposo, rigidità e bradicinesia) solo quando più del 70% dei neuroni dopaminergici va in contro a morte neuronale. La MP rappresenta la seconda causa di malattia neurodegenerativa in termini di frequenza e colpisce circa il 2% della popolazione al di sopra dei 65 anni. La prevalenza della malattia è di 1 caso/1000 abitanti, in Italia di 95-199/100.000 abitanti. La malattia esordisce insidiosamente nella seconda metà della vita, solitamente dopo i 50-60 anni; più rare le forme prima dei 40 anni, verosimilmente su base genetica o tossica. Le cause non sono note; l'ipotesi ritenuta più valida coinvolge i meccanismi di stress ossidativo a livello nigrale (e

conseguente morte cellulare), dovuto all'azione di prodotti catabolici del metabolismo della dopamina tra, perossido di idrogeno e anioni superossido. Sono poi note oggi rare forme genetiche dovute a mutazioni di singolo gene e trasmesse con modalità autosomica dominante (α -synucleina) e recessiva (parkina). La diagnosi della malattia è essenzialmente su criteri clinici e si basa sulla valutazione del neurologo e l'applicazione di scale, in particolare la MDS-UPDRS parte III (Unified Parkinson's Disease Rating Scale). La RMN dell'encefalo viene usualmente eseguita, ma ha lo scopo principalmente di escludere cause di parkinsonismo secondario (soprattutto di tipo vascolare). Esami funzionali, come la PET o il DaTSCAN possono aiutare nella diagnosi, documentando la riduzione della captazione di dopamina a livello dello striato.

I sintomi motori cardinali della MP sono rappresentati dalla bradicinesia, il tremore a riposo e la rigidità muscolare. Il disturbo usualmente all'inizio della malattia è unilaterale, per poi peggiorare progressivamente, divenendo bilaterale e determinando un'alterazione della deambulazione fino alla perdita dell'autonomia. La classificazione della gravità della malattia avviene attraverso scale cliniche, in particolare la più utilizzata è la scala di Hoenn e Yahr.

Man mano che la malattia progredisce si sviluppano delle fluttuazioni giornaliere della sintomatologia motoria. I diari clinici domiciliari sono estremamente utili nel valutare le performance motorie nel tempo, ma sono inevitabilmente caratterizzati da una scarsa oggettività valutativa, mentre le scale cliniche devono essere somministrate ed interpretate da personale medico esperto, per cui comportano un certo grado di ospedalizzazione, determinando un incremento dei costi sanitari. Lo sviluppo di tecnologie non invasive a basso costo per l'analisi del movimento mette a disposizione dei nuovi modi per studiare le patologie che comportano una disfunzione motoria. Nello specifico, tutti i sintomi motori cardinali della MP possono essere valutati in maniera quantitativa con dei sensori indossabili e dispositivi robotici portatili. Nonostante l'ampia disponibilità di tali tecnologie ed il loro comprovato valore nel quantificare i disturbi motori, il loro uso nella pratica clinica in pazienti affetti da MP è ancora carente.

Lo scopo del presente progetto è stato quello di realizzare un device indossabile e wireless, di modesto ingombro, capace di estrarre i parametri di rigidità e gli indici cinematici precedentemente descritti, e così descrivere con accuratezza lo stato motorio dei pazienti con MP in relazione al progredire della malattia e ai cambiamenti clinici indotti dall'assunzione della terapia con L-DOPA.

Per tale scopo il disegno dello studio si è articolato in tre fasi principali:

1) Identificazione dei parametri più informativi al fine di descrivere i sintomi motori della MP attraverso piattaforme robotiche e dispositivi magneto-inerziali utilizzati per analizzare le caratteristiche cinematiche e dinamiche dei movimenti, la rigidità muscolare ai movimenti passivi ed il tremore in pazienti affetti da MP (arruolati seguendo gli stessi criteri di inclusione e di esclusione che verranno utilizzati nella fase 3) ed in controlli sani.

2) Sviluppo del nuovo dispositivo mecatronico ad-hoc (PDMeter) per la valutazione domiciliare delle performance motorie di pazienti affetti da MP, progettato in modo da soddisfare il principale requisito di essere il meno ingombrante possibile, nonché di piccole dimensioni, leggero, a basso costo, wireless, indossabile e portatile.

3) Validazione clinica del PDMeter in pazienti affetti da MP idiopatica lieve-moderata (stadio di Hoehn and Yahr da 1 a 2.5, assenza di complicanze relative alla levodopa), che soddisfano i criteri diagnostici per MP della UK PD Society Brain Bank (possibile-probabile) (Daniel and Lees 1993) ed in soggetti sani di controllo. Inoltre, in uno studio pilota in un sottogruppo selezionato di 5 pazienti affetti da MP, sono state valutate le performance motorie attraverso il dispositivo portatile in una stanza attrezzata al fine di simulare l'ambiente domestico. Tale dispositivo è stato monitorizzato online attraverso un'unità telemetrica sviluppata attraverso uno strumento di tele-monitoraggio mobile tecnologico. Infine, come protocollo ancillare, al fine di una migliore valutazione delle caratteristiche neurofisiologiche dei pazienti, abbiamo preliminarmente acquisito registrazioni EEG su 13 dei 34 pazienti con MP e 13 dei 20 controlli sani pareggiati per sesso con l'obiettivo futuro di correlare le modifiche elettroencefalografiche con le variazioni delle performance motorie, descritte dagli indici cinematici e di rigidità precedentemente descritti.

Per lo scopo del progetto sono stati arruolati 14 pazienti (gruppo PD) affetti da MP (età media: 67 ± 6 anni, 8 maschi).

I risultati ottenuti nei pazienti sono stati confrontati con quelli ottenuti in un gruppo di 13 controlli sani (gruppo HS), di età e sesso omogenei rispetto ai pazienti (età media: 69 ± 19 ; 7 maschi), in cui fossero assenti disturbi neurologici e psichiatrici, o patologie che limitassero il fisiologico range di movimento articolare dell'arto superiore e inferiore.

La sperimentazione è stata effettuata seguendo scrupolosamente le linee guida ICH/GCP, la norma UNI EN ISO 14155-2:2004 e successivi aggiornamenti, la carta delle finalità dell'ateneo Campus Bio-Medico di Roma e le attuali linee-guida etiche, in particolare la Dichiarazione di Helsinki per la ricerca medica che coinvolge i soggetti umani, della World Medical Association nella sua ultima versione (attualmente Edimburgo 2000) e ulteriori integrazioni (First clarification, Washington 2002 e Second clarification, Tokyo 2004).

Pazienti e controlli arruolati per lo studio hanno firmato personalmente un Consenso Informato alla sperimentazione, approvato dai Comitati Etici di entrambi gli Istituti in cui si è svolto il progetto (IRCS San Raffaele Pisana, Università Campus Bio-Medico, Roma).

Sono stati definiti due protocolli sperimentali (PS) al fine di individuare i parametri maggiormente informativi per il monitoraggio dei sintomi motori.

- PS1: MDS-UPDRS parte III

-PS2: Misura rigidità del polso

Durante il PS1 è stata effettuata la registrazione attraverso sensori magneto-inerziali (M-IMU, dispositivo OPAL, APDM, Inc., Portland, OR) di alcuni task motori selezionati dalla scala clinica comunemente utilizzata per la valutazione dei pazienti con MP (MDS-UPDRS parte III). Con il PS2 si è voluto misurare e quindi poi caratterizzare la rigidità del polso nella MP per mezzo del dispositivo robotico InMotion WRIST™.

Protocollo sperimentale 1 (PS1):

Per i pazienti (gruppo PD), l'analisi cinematica è stata eseguita per il braccio più gravemente affetto. Per il gruppo HS, l'analisi cinematica è stata eseguita su braccio dominante, identificato con il test di Oldfield (Oldfield, 1971). I soggetti affetti da malattia di Parkinson sono stati analizzati due volte: dopo 12 ore dalla sospensione di eventuali farmaci (condizione motoria OFF) e dopo 1 ora dalla somministrazione del 150% della dose mattutina della L-Dopa del paziente (condizione motoria ON). I soggetti erano seduti su una sedia e sono stati invitati a svolgere tre compiti motori dalla scala UPDRS/parte III. La rigidità (compito UPDRS 22) è stata testata, senza una manovra di attivazione, sul lento movimento passivo delle articolazioni del gomito, con il paziente in una posizione rilassata. Durante questo compito, l'esaminatore, sostenendo il braccio contro gravità, ha mosso l'avambraccio per 10 volte per ciascun lato. La bradicinesia è stata valutata eseguendo due compiti: finger tapping (task UPDRS 23) e un movimento di prono-supinazione delle mani (compito UPDRS 25). Durante il compito con il finger tapping, ai soggetti è stato chiesto di battere il dito indice sul pollice 15 volte più velocemente e in modo più ampio possibile; ogni lato è stato valutato separatamente. Durante il compito di pronazione, ai soggetti è stato chiesto di estendere il braccio di fronte a loro con i palmi giù; quindi di girare il palmo su e giù alternativamente 15 volte più velocemente e il più completamente possibile. Un esperto di disturbi del movimento ha valutato i tre compiti in base al sistema di punteggio di UPDRS/parte III.

Al fine di identificare i parametri più informativi per descrivere i sintomi della MP, i compiti motori sono stati registrati utilizzando cinque unità magneto-inerziali (M-IMU, dispositivo OPAL, APDM, Inc., Portland, OR, USA) e una videocamera GoPro Hero4 (GoPro, San Mateo, CA, USA). Il software di acquisizione dei dati MotionStudio (APDM Inc., Portland, OR, USA) ha permesso di sincronizzare la telecamera con i sensori. Gli esperimenti sono stati effettuati posizionando sensori sul seguente punto di riferimento anatomico: seconda falange del dito indice (con l'asse X del sensore in linea con lo stesso osso), falange distale del pollice (con l'asse X del sensore in linea con lo stesso osso), metacarpo (fissato al punto medio del terzo osso metacarpale, sul metacarpo dorsale, con l'asse X del sensore in linea con il terzo osso metacarpale), polso (fissato al punto medio tra il raggio e le ossa dell'ulna, sul più distale parte dorsale del radio e dell'ulna, con l'asse X del sensore in linea

con l'osso del radio) e il braccio (fissato a un punto medio tra il tubercolo più grande dell'omero e il suo epicondilo laterale, con l'asse X del sensore in linea con l'omero).

In accordo ai precedenti lavori della letteratura (Dai et al., 2013; Patel et al., 2009), i dati grezzi sono stati inizialmente filtrati con filtro passa-alto con una frequenza di taglio di 1 Hz, per rimuovere l'effetto di cambiamenti grossolani nell'orientamento dei segmenti corporei. Inoltre, è stata isolata la componente di frequenza di interesse per la stima di ciascun sintomo; specificamente per il tremore è stata utilizzata la larghezza di banda 4-8 Hz, mentre per i dati di bradicinesia un filtro passa-banda tra 1-4 Hz. Nel compito utilizzato per valutare la severità della bradicinesia, è stato definito come un ciclo di movimento il set di submovements necessari per completare il compito di una ripetizione. Ad esempio, un ciclo di 'finger-tapping' consiste nell'iniziare con la mano aperta, chiudendo e poi aprendo le dita nella posizione iniziale per una volta. E' stato stimato il tempo di movimento come l'inizio e la fine dei cicli, identificati dal profilo di velocità con una soglia del 10% del valore di picco di ogni ciclo.

Dai segnali del giroscopio nel dominio del tempo, sono stati stimati i valori picco-picco della velocità angolare per tutti e tre gli assi. Al fine di catturare la progressiva riduzione dell'ampiezza della velocità, è stata eseguita una regressione di primo ordine tra questi valori picco-picco e il numero progressivo di cicli. E' stato definito un indice di faticabilità (Fatigability index)

Da notare che, per l'indice di faticabilità, è stato considerato per ogni attività solo l'asse del giroscopio più rilevante per quel compito specifico. Per quanto riguarda il dominio della frequenza, è stata estratta la potenza totale (l'integrale dello spettro di potenza) dallo spettro di densità di potenza (PSD) di velocità angolare come suggerito da Kim et al. (2011).

Infatti, uno dei risultati dell'analisi di Fourier è il teorema di Parseval, che afferma che l'area sotto la curva della densità spettrale di energia è uguale all'area sotto il quadrato della magnitudine del segnale, cioè l'energia totale. Un risultato simile vale per la potenza. Si prevede che la potenza totale rappresenti l'intensità complessiva di movimento. E' stato anche introdotto un parametro di scorrevolezza come descrittore di bradicinesia. Secondo studi precedenti (Balasubramanian et al., 2012; 2015), è stata misurata la smoothness (fluidità del movimento) utilizzando la lunghezza dell'arco spettrale (SAL) del profilo di velocità del movimento come indice appropriato di fluidità del movimento.

Si è deciso di considerare questo tipo di misura della smoothness/bradicinesia perché Balasubramanian et al. (Balasubramanian et al., 2012) ha dimostrato che il SAL può tenere conto del cambiamento nel numero di submovements e dell'intervallo di inter-submovement, che sono caratteristiche del movimento influenzate dalla bradicinesia. Come spiegato dagli autori (Balasubramanian et al., 2012; 2015), per il calcolo della smoothness non era necessario filtrare i dati a causa dell'azione di filtraggio passa-basso già eseguita. In particolare, è stato calcolato il SAL entro la gamma di frequenza 0-4 Hz del profilo della velocità in ogni ciclo di movimento e in ogni singolo movimento. La lunghezza dell'arco spettrale calcola la smoothness misurando il valore lunghezza dell'arco della grandezza dello Spettro di Fourier di un dato profilo di velocità $v(t)$, all'interno di un intervallo di frequenza $(0 - \omega_c)$. Definizione di SAL introdotta da (Balasubramanian et al., 2012; 2015):

Infine, è stata studiata la relazione tra questo indice e la rigidità dell'articolazione del gomito ed è stato testato l'indice di smoothness come descrittore di rigidità. Nel paziente con MP, la classica rigidità a 'ruota dentata' provoca una frammentazione e una decomposizione del movimento passivo, portando a movimenti passivi meno regolari dei normali. Sono stati stimati l'inizio e la fine del movimento guardando il profilo di velocità con una soglia del 10%. Quindi, è stato calcolato il SAL medio del profilo di velocità di movimento per ciascun movimento e sono state esaminate le differenze tra le condizioni motorie OFF e ON. Nello specifico, è stato calcolato il SAL entro la gamma di frequenza 0-20 Hz del profilo di velocità in ogni ciclo di movimento.

Protocollo sperimentale 2 (PS2):

Lo scopo di questo protocollo è stato quello di caratterizzare la rigidità del polso nella MP. Per quantificarla in maniera oggettiva, si è utilizzato un protocollo in grado di stimare come parametro

fisico la rigidità meccanica del polso, definita come il legame statico tra coppie e movimenti angolari del polso (Krebs et al., 2007).

Tale protocollo prevede l'utilizzo di un robot da polso (l'InMotion WRIST™ della Interactive Motion Technologies, Inc.) (Krebs et al., 2007), che muove il polso eseguendo movimenti di flessione-estensione e deviazione radio-ulnare mentre misura sia gli spostamenti angolari sia le coppie necessarie a produrre tali spostamenti.

I partecipanti sedevano su una sedia in prossimità del robot, col braccio posizionato in modo da avere la spalla abducta di 40° e flessa di 30° e con il gomito flessa a 60°. La mano era chiusa sul manico del robot ed era fissata con una fascia, in modo tale che il soggetto rimanesse completamente passivo ai movimenti imposti dal robot stesso, senza avere alcuna attività muscolare.

Durante l'acquisizione è stato chiesto ai volontari di rilassarsi e di non opporre resistenza ai movimenti del robot.

Una volta sistemati i soggetti come descritto, lo sperimentatore avviava la procedura in cui il robot, controllato in posizione per eseguire movimenti 2D nelle direzioni di flessione-estensione (FE) e deviazione radio-ulnare (RUD), movimentava il polso del soggetto ad esso solidale. Misurando le coppie applicate, necessarie alla movimentazione passiva del polso, e la variazione angolare indotta dalla perturbazione, è stato possibile ottenere il valore della rigidità del polso mediante regressione lineare tra coppie e movimenti angolari, come descritto in lavori precedenti del gruppo di lavoro (Krebs et al., 2007).

I pazienti con MP e i soggetti sani di controllo sono stati sottoposti alla misura della rigidità con il wrist robot, utilizzando 2 diversi protocolli di perturbazione:

- Perturbazioni quasi/statiche a velocità molto basse (< 0.1 rad/sec) con spostamenti di circa 17 gradi (0.3 rad).
- Perturbazioni piccole in ampiezza (circa 5 gradi, 0.08 rad) e rapide (~0.8 rad/s).

Per entrambi i protocolli le perturbazioni sono state effettuate in 24 diverse direzioni dello spazio FE/RUD in maniera random.

I pazienti con MP hanno ripetuto i protocolli 2 volte in assenza di medicazione (fase OFF) e dopo un'ora dall'assunzione della loro terapia (fase ON).

La stima della rigidità è stata ricavata nei 2 protocolli tramite regressione lineare multivariata tra gli spostamenti angolari () e le coppie ().

Il risultato di questa regressione è la stima della matrice di rigidità K che esprime nelle varie direzioni dello spazio FE/RUD com'è distribuita la rigidità dell'articolazione di polso (cioè quanto è la resistenza meccanica alle perturbazioni). Poiché la stima della rigidità è accurata solo per coefficienti di determinazione R^2 della regressione elevate, sono stati esclusi dai risultati quelle stime della matrice di rigidità con un valore di R^2 inferiore a 0.6.

Setup del PDMeter

Sulla base dei risultati dei protocolli sperimentali 1 e 2 è stato progettato e costruito il primo prototipo del PDMeter, che descritto nella sezione D.1.2

Al fine della validazione clinica del PDMeter sono stati arruolati 34 soggetti affetti dalla malattia di Parkinson (età media 67.5 ± 5.4 anni), i quali sono stati valutati mediante UPDRS parte III e successivamente registrati, sia prima di assumere il farmaco costituito da L-Dopa (condizione OFF) ed in seguito l'assunzione di L-Dopa (condizione ON).

Per i pazienti (gruppo PD) e per i soggetti sani (HS) il PDMeter è stato indossato a carico del braccio destro. I soggetti affetti da MP sono stati analizzati due volte: dopo 12 ore dalla sospensione di eventuali farmaci (condizione motoria OFF) e dopo 1 ora dalla somministrazione del 150% della dose mattutina della L-Dopa del paziente (condizione motoria ON).

I risultati ottenuti nei pazienti sono stati confrontati con quelli ottenuti in un gruppo di 20 soggetti sani di controllo appaiati per età (età media 66.2 ± 14.6 anni).

Al fine di validare il dispositivo nella stima della rigidità lungo la direzione di FE il sistema è stato confrontato con il robot InMotion WRIST™.

In entrambe le sessioni (condizioni OFF e ON), il dispositivo ha applicato al polso dei soggetti coppie lungo l'asse di FE, che in questo setup era parallelo alla direzione della gravità, mentre questi

ultimi sono stati istruiti nell'applicare la minima quantità possibile di resistenza alla movimentazione imposta dai device. Per soggetto arruolato, la perturbazione consisteva nell'applicazione di un carico in coppia lungo la direzione di FE e caratterizzata da cinque cicli di Estensione e successiva Flessione.

PDMeter per uso in telemetria

All'interno di questo progetto, come ultimo obiettivo, si è cercato di validare il prodotto della ricerca (PDMeter) per il suo utilizzo in telemedicina. A tal fine, 5 dei 34 pazienti sono stati reclutati per registrare all'interno di un ambiente protetto (stanza appositamente predisposta in entrambe le strutture cliniche coinvolte nel presente progetto e fornita di oggetti di uso comune come penna, blocco, telefono, giornale, piatto, bicchiere, posate, frutta, ecc) i parametri provenienti dal dispositivo qui progettato.

Tutti i parametri sono stati acquisiti ed infine trasmessi, prima dalla strumentazione costruita (PDMeter) ad uno smartphone attraverso una app appositamente progettata in wifi (velocità di trasmissione e altri parametri di invio), dopodiché spediti alla strumentazione all'interno della unità clinica.

Come protocollo ancillare, al fine di una migliore valutazione delle caratteristiche neurofisiologiche dei pazienti, sono state preliminarmente acquisite registrazioni EEG su 13 dei 34 pazienti con MP e 13 dei 20 controlli sani pareggiati per sesso (8 donne) ed età ($61,54 \pm 2,47$ anni). In futuro l'obiettivo sarà quello di correlare le modifiche elettroencefalografiche con le variazioni delle performance motorie, descritte dagli indici cinematici e di rigidità precedentemente descritti.

Registrazione EEG ed analisi preliminari

L'attività elettrica cerebrale è stata registrata tramite EEG da almeno 32 elettrodi posizionati secondo il Sistema Internazionale 10-20 aumentato durante le condizioni di riposo ad occhi chiusi (5 minuti). Per monitorare i movimenti degli occhi, è stato 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 stato frammentato in epoche da 2-s e sono stati utilizzati due processi: i dati sono stati rivisti per eliminare manualmente le epoche con forme d'onda aberranti; la rilevazione degli artefatti è stata completata con un algoritmo per l'analisi delle componenti indipendenti (ICA) sviluppato in EEGLAB. Sono state prese in considerazione le epoche prive di artefatti per le successive analisi. Le bande di frequenza di interesse sono state delta (2-4 Hz), theta (4-8 Hz), alfa 1 (8-10,5 Hz), alfa 2 (10,5-13 Hz), beta 1 (13-20 Hz), beta 2 (20-30 Hz) e gamma (30-40 Hz).

Analisi di connettività funzionale delle sorgenti cerebrali

La connettività cerebrale è stata calcolata con il software eLORETA (exact Low Resolution Electromagnetic Tomography, disponibile online come pacchetto software gratuito) 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 stata 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 stati usati come peso del grafo calcolato con la teoria dei grafi.

Sono state utilizzate innovative misure di analisi dei network cerebrali (teoria dei grafi) per studiarne la connettività.

Sulle sorgenti di attivazione cerebrale vengono calcolati almeno i seguenti parametri, per ogni partecipante ed in ogni banda di frequenza :

- 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.

E' stata indirizzata una statistica ANOVA sui dati di Small World il cui disegno includeva tre fattori: Gruppo (normali, Parkinson), Bande (delta, theta, alfa 1, alfa 2, beta 1, beta 2, gamma).

Nella prima fase dello studio sono stati estratti quattro indici cinematici: Faticabilità, Tempo totale, Potenza totale e Smoothness. Questi ultimi tre indici hanno consentito di differenziare i soggetti sani dai pazienti con MP, e le varie condizioni motorie OFF/ON dei pazienti, durante il compito di finger-tapping, con un sensore posto sul dito indice. Durante il compito di prono-supinazione, il sensore da polso è stato in grado di differenziare le condizioni motorie OFF/ON. L'indice di Smoothness, usato come descrittore di rigidità, ha fornito una buona discriminazione delle condizioni OFF/ON del PD. L'indice di Potenza Totale, ha mostrato la migliore precisione per la differenziazione tra soggetti sani e con MP, con qualsiasi posizione del sensore tra indice, pollice, metacarpo e polso. Attraverso InMotion WRIST™ sono stati registrati i valori di rigidità su vari piani di movimento, ed è stato anche dimostrato nelle registrazioni dei pazienti con MP che un aumento di rigidità clinica corrisponde ad una diminuzione di rigidità complessiva sul piano FE/RUD, anziché ad un suo aumento. Sulla base dei risultati di tali protocolli sperimentali preliminari è stato progettato e costruito il PDMeter, un dispositivo robotico indossabile (esoscheletro) con lo scopo di misurare la rigidità del polso e le caratteristiche di movimento di pazienti affetti da MP. Nell'ultima fase dello studio di validazione clinica, il PDMeter ha mostrato una buona accettabilità e facilità d'uso, nonché la capacità di ottenere dati riguardanti i valori di rigidità (e quindi informazioni sulla rigidità) con una buona correlazione con i dati di InMotion WRIST™, e consentendo una discriminazione tra soggetti sani e soggetti con MP e tra le diverse condizioni motorie OFF/ON. Il PDMeter, inoltre, è risultato in grado, durante la modalità registrazione, di monitorizzare il movimento di mano e indice, mediante sistemi magneto-inerziali disposti rispettivamente sul palmo della mano e dito indice. Infine, in uno studio pilota in un sottogruppo selezionato di 5 pazienti affetti da MP, sono state valutate le performance motorie attraverso il dispositivo portatile PDMeter, monitorizzato on-line attraverso un'unità telemetrica sviluppata attraverso uno strumento di tele-monitoraggio mobile tecnologico. Tutti i parametri sono stati correttamente acquisiti ed infine trasmessi, prima dalla strumentazione costruita (PDMeter) ad uno smartphone attraverso una app appositamente progettata in wifi (velocità di trasmissione e altri parametri di invio), dopodiché spediti alla strumentazione all'interno della unità clinica. A questo punto, attraverso un software dedicato per la lettura di questi parametri, il medico è stato in grado di leggere i parametri legati alle performance del paziente stesso.

NEUROMASTER: NEURONavigated MAGnetic STimulation in patients with mild-moderate Alzheimer disease combined with Effective cognitive Rehabilitation

Capofila

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.

Si propone uno studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato, con Sham, per la valutazione dell'efficacia di una doppia stimolazione TMS combinata con training cognitivo, che consiste in 3 bracci. Un totale di 72 partecipanti (arruolati e trattati) sono assegnati in modo casuale in egual numero (tra sano, lieve e moderato AD) per i gruppi trattati e di controllo:

- Gruppo Trattato A: stimolazione TMS e training cognitivo
- Gruppo Trattato B: training cognitivo
- Gruppo di controllo: sham TMS e pseudo training cognitivo

Alla fine dell'intero protocollo, il gruppo trattato B ed il gruppo di controllo ricevono TMS reale e riabilitazione cognitiva.

Per valutare gli effetti della TMS combinata con la riabilitazione cognitiva computerizzata nei pazienti con AD, rispetto al trattamento placebo, si confrontano il primo e il terzo braccio.

Il coil TMS viene posizionato grazie alla navigazione stereotassica su un modello personalizzato estratto dalle singole risonanze magnetiche volumetriche. L'intensità della TMS viene regolata al 90% dell'intensità della soglia motoria definita in base alle linee guida internazionali (Rossini et al 1994). Vengono somministrati diversi paradigmi tra cui: compiti di sintassi e grammatica per la stimolazione della regione di Broca; compiti di comprensione del significato e categorizzazione lessicali per la stimolazione della regione di Wernicke; compiti di denominazione di azione, di denominazione di oggetti e memoria spaziale (forme, colori e lettere) per la stimolazione di regioni cerebrali dlPFC destro e sinistro; compiti di attenzione spaziale (forme e lettere) per la stimolazione di regioni del cervello PSAC destro e sinistro. All'interno del progetto, sono trattate giornalmente tre regioni del cervello: 20 o 30 treni, composti da 2 sec a 10 Hz (20 impulsi per treno) somministrati per ogni correlata regione del cervello, per un totale di 1300 impulsi per giorno, in modo da conformarsi alle limitazioni di sicurezza di un massimo di 1500 impulsi per giorno. Pertanto, il dispositivo non rappresenta alcun rischio significativo per la sicurezza al di là dei dispositivi medici non invasivi TMS già approvati.

Ogni gruppo viene sottoposto a 30 sedute di riabilitazione, che si svolgono in 6 settimane (1 seduta al giorno x 5 giorni alla settimana x 6 settimane). La TMS viene effettuata ogni giorno nelle 3 aree corticali (totale 45-60 min) e, in contemporanea, viene eseguita la riabilitazione cognitiva che coinvolge le stesse aree con compiti selettivi. La difficoltà dei compiti cognitivi è adattata al rendimento individuale del paziente per l'intero periodo di trattamento. L'area corticale stimolata dalla TMS corrisponde al dominio cognitivo che viene allenato poco dopo.

La valutazione clinica e neuropsicologica effettuata in fase di selezione dei pazienti comprende MMSE; Rey Auditory Verbal Learning; Digit span avanti e indietro; Figura complessa di Rey - Osterrieth; Matrici Progressive di Raven; Verbal Fluency Fonologica e Semantica; denominazione di nomi e di azioni; test di Stroop. Le scale di valutazione effettuate per valutare l'efficacia della terapia sono l'ADAS-Cog, l'ADAS-ADCS e la scala CDR. I dati EEG sono analizzati per spettro di potenza: 1) sorgente, 2) coerenza spettrale, 3) connettività cortico - corticale tramite teoria dei grafi.

Per valutare la persistenza dell'effetto della riabilitazione cognitiva, i soggetti sono invitati a presentarsi alla valutazione clinica e alle registrazioni EEG anche alla fine del trattamento e dopo 12 mesi dalla fine della procedura di stimolazione.

Al fine di testare l'effetto della TMS come tecnica che potenzia l'effetto della riabilitazione confrontata con la sola riabilitazione cognitiva, viene utilizzato il secondo braccio del protocollo.

Evidenze sperimentali suggeriscono che la TMS può interferire con le prestazioni cognitive e di apprendimento, influenzando la plasticità sinaptica nel cervello (Rossi et al., J. Neurosci. 2004). Alcuni studi proof-of-principle indicano che una riabilitazione cognitiva computerizzata simultanea ad una TMS neuronavigata per la stimolazione selettiva delle aree cerebrali, correlate all'attività cognitiva svolta, può essere utilizzata con successo per il trattamento di pazienti con AD (Bentwich et al., J. Neural Trasm 2011, Rabey et al., J neurale Trasm 2013). Strategie rTMS non invasive del cervello inducono cambiamenti funzionali prolungati nella corteccia cerebrale. Diversi studi hanno dimostrato che l'uso terapeutico della rTMS per migliorare le prestazioni cognitive in pazienti AD,

induce effetti benefici di breve durata. Sebbene questi studi non fossero adeguatamente dimensionati per dimostrare l'efficacia terapeutica (Nardone et al., Int J Alzheimer Dis 2012), potrebbero suggerire di utilizzare questa procedura a "doppio stimolo" di rTMS e training cognitivo.

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 il 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 viene frammentato in epoche da 2-s e sono utilizzati due processi: i dati sono rivisti per eliminare manualmente le epoche con forme d'onda aberranti; la rilevazione degli artefatti è completata con un algoritmo per l'analisi delle componenti indipendenti (ICA) sviluppato in EEGLAB. Vengono prese in considerazione le epoche prive di artefatti per le successive analisi. Le bande di frequenza di interesse sono delta (2-4 Hz), theta (4-8 Hz), alfa1 (8-10,5 Hz), alfa2 (10,5-13 Hz), beta1 (13-20 Hz), beta2 (20-30 Hz) e gamma (30-40 Hz).

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

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

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

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

Attraverso le 84 regioni di interesse di eLORETA, viene 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.

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

Sulle sorgenti di attivazione cerebrale vengono calcolati almeno i seguenti parametri, per ogni partecipante ed in ogni banda di frequenza :

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

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

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

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

Il progetto ha la durata di 36 mesi.

Sono stati organizzati diversi incontri periodici con le unità partecipanti al progetto con lo scopo di coordinare l'attività di ricerca, sia in termini di pianificazione delle attività che di analisi dei dati.

Un totale di 35 soggetti ha iniziato lo studio. Di questi, 6 stanno effettuando il trattamento; 4 hanno terminato il trattamento e stanno effettuando le valutazioni di follow-up; gli altri hanno terminato il

follow-up neuropsicologico e dovranno essere richiamati per l'esecuzione dell'EEG di controllo a distanza di 12 mesi.

Attraverso una forte interazione tra le due unità operative si è giunti ad un ottimo risultato preliminare nei primi 14 soggetti che hanno terminato il trattamento e sono stati sottoposti a registrazioni EEG e al test ADAS-Cog prima e dopo il trattamento.

Nello specifico i risultati hanno mostrato che dei 6 pazienti arruolati nel braccio A, 4 (67%) hanno migliorato il loro punteggio all' ADAS-Cog, dei cinque del braccio B tre (60%) hanno migliorato e dei tre del braccio C, solo 1 (34%) ha migliorato.

Andando ad analizzare le caratteristiche dell'architettura dei network cerebrali analizzata tramite EEG ed in particolare il valore dello Small World (cioè un indice di bilanciamento tra integrazione e segregazione dei nodi che costituiscono le varie reti) si è notato che, mentre tutti i soggetti (indipendentemente dal loro successivo miglioramento all'ADAS-Cog) al baseline (cioè prima del trattamento) presentavano andamenti simili, dopo il trattamento, i soggetti che mostrano un miglioramento all'ADAS-Cog, mostrano una riduzione dello Small World in una specifica banda di frequenza (alfa 1), segno di un più regolare comportamento del network cerebrale.

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 (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 ad AD.
- Monitorare clinicamente i soggetti 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.

LABORATORIO DI IMMUNOPATOLOGIA SINAPTICA

Interleuchina-9 e sclerosi multipla: biomarcatore e potenziale terapia

Unità 2

La sclerosi multipla (SM) è una malattia autoimmune infiammatoria e neurodegenerativa. L'interleuchina (IL)-9 è una citochina che svolge un ruolo immunoregolatorio importante nella SM e nell'encefalomielite autoimmune sperimentale (EAE): i livelli di IL-9 nel liquido cerebrospinale, misurati nei pazienti con SM al momento della diagnosi, sono inversamente correlati agli indici di infiammazione, neurodegenerazione, progressione della disabilità e risposta alla terapia di prima linea. In EAE, la neutralizzazione di IL-9 prima dell'inizio della malattia aggrava la malattia. Recentemente è stato dimostrato che IL-9 inibisce le cellule immunitarie proinfiammatorie nella periferia. Ci si propone di studiare come l'IL-9 medi la neuroprotezione all'interno del sistema nervoso centrale attraverso un effetto diretto sulle cellule residenti nel cervello. Il

Laboratoriocoordinerà gli esperimenti di elettrofisiologia e trattamenti in vivo su topi EAE. Questo progetto farà luce sul ruolo dell'IL-9 nella patologia SM e potenzialmente in altre malattie neurologiche, e consentirà di progettare nuovi approcci terapeutici.

Mediatori lipidici pro-risolutivi specializzati nella risoluzione della sclerosi multipla
Unità 2

La Sclerosi Multipla (SM) è una patologia infiammatoria cronica neurodegenerativa caratterizzata da eventi infiammatori e fenomeni autoimmunitari incontrollati e per la quale la ricerca di nuovi metodi diagnostici e terapeutici rappresenta una costante necessità, specialmente nell'ambito delle forme progressive della malattia. Studi di recente pubblicazione suggeriscono che l'infiammazione cronica e l'autoimmunità siano causate dall'incapacità dei sistemi omeostatici di improntare in modo adeguato i meccanismi di risoluzione dell'infiammazione, un processo che viene iniziato e orchestrato da un genere di lipidi anti-infiammatori di recente identificazione e derivati metabolicamente dagli acidi grassi omega-3, definiti lipidi specializzati pro-risolutivi (specialized pro-resolving lipid mediators, SPMs). In questo progetto, ci si propone di identificare gli SPM come nuovi composti guida nel controllo della patogenesi e progressione della SM e di candidarli come nuovi farmaci modificanti la malattia, valutandone il loro ruolo, sia ex vivo/in vitro che in vivo, nel ripristinare l'equilibrio tra cellule effettrici e regolatorie e/o nel controllare i meccanismi che portano alla cronicizzazione, al fine di potenziare l'attivazione di vie anti-infiammatorie e neuroprotettive. Il Laboratorio eseguirà trattamenti in vivo nel modello EAE ed esperimenti di elettrofisiologia per studiare l'effetto neuroprotettivo degli SPM.

ALTRA TIPOLOGIA DIRICERCA

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Progetto Conto Capitale – Ministero della Salute

La riabilitazione domiciliare con controllo remoto: sistemi innovativi per la somministrazione, la valutazione e la misura dell'esercizio riabilitativo. Nell'ambito del progetto complessivo di: 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; Istituto Clinico Humanitas – IRCCS, Milano.

L'incremento della popolazione anziana fragile, l'aumentata incidenza di condizioni cliniche croniche e le crescenti richieste di cure più personalizzate, richiedono nuovi approcci nell'erogazione dell'assistenza sanitaria. I Servizi Sanitari di numerosi Paesi chiedono una limitazione delle degenze ospedaliere per motivi clinici ed economici. 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 intendee realizzare una rete integrata italiana per l'erogazione a distanza, su tutto il territorio nazionale, di trattamenti specifici di neuro riabilitazione motoria, cognitiva e logopedia.

Sulla base delle strumentazioni in acquisitedagli IRCCS coinvoltisono stati generati tre studi differenti: uno sull'uso della Teleriabilitazione nelle persone con esiti di Ictus, uno sulle persone con Parkinson Disease ed uno nella persone con Sclerosi Multipla. Tutti gli IRCCS che hanno aderito ai progetti hanno ottenuto le rispettive autorizzazioni dal Comitato Etico di riferimento. Sono stati avviati i reclutamenti delle persone eleggibili per i vari protocolli. Saranno resi disponibili i primi dati preliminari, presentati dai centri Coordinatori: IRCCS San Camillo (ictus), IRCCS Fondazione Don Gnocchi (sclerosi multipla), IRCCS Fondazione Maugeri (parkinson).

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 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 e l'impatto per quanto riguarda il rigore scientifico.

La strumentazione (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 notevolissimo 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 di interesse pivotale nello studio clinico dell'efficacia dell'esercizio fisico e/o dei presidi farmacologici e nutrizionali sul 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 (Ad es. 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 istituzionale 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 cronicodegenerative dell'apparato cardiovascolare e respiratorio, lo studio clinico dell'efficacia della riabilitazione e/o dei presidi farmacologici e nutrizionali nel recupero funzionale delle malattie cronicodegenerative dell'apparato cardiovascolare e respiratorio, nonché lo studio delle malattie cronicodegenerative 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, che sostituisce il modello attualmente in uso (ormai obsoleto), 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 è rapido con ottimizzazione del percorso ottico. Il sistema di rilevazione 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.

Nel caso dei pazienti si può valutare l'efficacia delle terapie riabilitative e l'ottimizzazione dei protocolli, tenendo sotto controllo numerosi fattori solubili di interesse e la loro reciproca correlazione, nonché la struttura del tessuto il che avrà ricadute certe sul SSN.

A titolo di esempio, i risultati preliminari di alcuni studi preclinici realizzati dall'Istituto supportano l'uso di modulatori metabolici che agiscono come mimetici dell'esercizio fisico. S'intende valutare la capacità di questi modulatori del metabolismo di potenziare le performance fisiche in soggetti affetti da patologie croniche o anziani fragili. Tramite il sistema Luminex si possono monitorare numerosi marcatori dell'infiammazione e membri della famiglia del TGF-beta associati all'atrofia muscolare. Tramite il microscopio confocale potremo valutare lo shift di fibre, studiare i mitocondri e il danno tissutale in biopsie di tessuto muscolare.

La possibilità di stabilire le variazioni metaboliche e molecolari che caratterizzano il muscolo atrofico permette infatti di valutare se riprogrammazioni del metabolismo abbiano la potenzialità di ridurre la massa muscolare e di migliorare la fisiologia e la funzionalità del muscolo scheletrico. Inoltre, l'individuazione di biomarcatori serici di cachessia nelle diverse patologie rientra negli obiettivi istituzionali dell'IRCCS. La strumentazione richiesta consente lo studio dell'impatto sulla morte cellulare e sul riparo molecolare nei miociti e nei cardiomiociti valutando la risposta al danno della cellula indotto da infarto del miocardio e lo studio del ruolo delle sirtuine mitocondriali nel regolare la funzione e l'integrità mitocondriale misurata tramite produzione di specie reattive dell'ossigeno, l'aumento della permeabilità di membrana con formazione del poro di membrana mitocondriale in linee cellulari.

Questi strumenti rappresentano infatti potenti e convalidati mezzi diagnostici immediatamente utilizzabili ed efficaci. Nel caso dei modelli animali, si hanno degli strumenti molto versatili e di precisione per studiare l'effetto di nuovi strumenti terapeutici negli studi pre-clinici e velocizzare la disponibilità per i pazienti oggetti delle linee di ricerca riconosciute nella programmazione triennale

degli IRCCS. Questo rappresenta un'innovazione che produrrà un avanzamento delle conoscenze di base e pre-cliniche.

Tipologia B: Sviluppo e implementazione delle piattaforme tecnologiche di genomica/proteomica, imaging e neuroriabilitazione delle 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".

L'utilizzo di nuove tecnologie per garantire la continuità assistenziale nel territorio in pazienti con patologie croniche ed altamente invalidanti e lo sviluppo di metodologie di verifica e di sistemi di monitoraggio dell'outcome e della qualità della vita è uno degli obiettivi dell'IRCCS San Raffaele Pisana. In questo contesto, si inserisce questo progetto, che ha come obiettivo il potenziamento delle attività di sperimentazione già in atto (progetto Conto Capitale 2015) 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 saranno finalizzati all'estensione di tali practice ai servizi sanitari a livello nazionale, definendo linee guida e metodologie omogenee nella presa in carico assistenziale.

Si intende validare i sistemi utilizzati nel rispetto di approcci tradizionali di trattamento sul territorio (attività ambulatoriale, domiciliari etc.), qualora possibile, in base ai protocolli utilizzati e concordati con gli altri IRCCS partecipanti, individuare anche dati di efficacia dei trattamenti in teleriabilitazione proposti.

Tipologia 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 delle persone anziane rappresentano una priorità per la sanità pubblica a causa della loro frequenza, del ricorso all'istituzionalizzazione associato ai suoi esiti, della probabilità di causare o aggravare disabilità e dell'elevata mortalità. Il fenomeno delle cadute nelle persone anziane ha quindi un rilevante impatto sanitario, sociale ed economico. I fattori fisiologici, patologici, ambientali, comportamentali e la paura di cadere incidono considerevolmente. In particolare, le persone anziane con patologie neurologiche (ictus, polineuropatie, demenza, Parkinson, depressione), muscoloscheletriche (artrosi, esiti di interventi ortopedici di elezione - protesi, osteoporosi), cardiovascolari e patologie della vista e dell'udito hanno un maggiore rischio di cadere. Le linee guida del Ministero della Salute sulla "Prevenzione delle cadute da incidente domestico negli

anziani” evidenziano come le cadute rappresentano una priorità per la sanità pubblica a causa della loro frequenza e gravità. I test utilizzati per valutare il rischio di caduta dovrebbero essere di semplice esecuzione, di breve durata e ripetibili, per consentire il follow-up.

In tale contesto, questo progetto si pone come obiettivo lo screening del rischio di caduta nei pazienti in dimissione dagli IRCCS partecipanti al progetto, che clinicamente presentino elevati rischi di caduta. In dettaglio, gli obiettivi specifici sono:

- validare il sistema rispetto alle seguenti scale cliniche (Berg Balance Scale; Timed Up and Go; Tinetti Balance; One Leg Stand; Functional Reach; Activities-specific Balance Confidence) e all’analisi strumentale del cammino;
- valutare il rischio di cadute dei pazienti in dimissione, con particolare attenzione alle persone anziane con esiti di patologia ortopedica e/o neurologica grave;
- attuare una terapia preventiva;
- osservare l’efficacia della terapia riabilitativa somministrata;
- suggerire ulteriori esercizi riabilitativi per migliorare la propria stabilità.

LABORATORIO DI CITOFUORIMETRIA

Anno 2015

Ricerca e identificazione di indici e marcatori molecolari per la valutazione degli effetti della riabilitazione

La citofluorimetria è una tecnica di analisi estremamente versatile, che trova applicazione nella pratica clinica, nella ricerca traslazionale e nella ricerca di base. Grazie all’utilizzo combinato di un sistema ottico e di anticorpi monoclonali coniugati a fluorocromi, la citofluorimetria permette di individuare, in una sospensione cellulare mista, specifiche sottopopolazioni cellulari identificate per le loro caratteristiche fisiche (dimensione, presenza di granuli all’interno delle cellule) e biologiche (espressione di molecole di membrana ed intracellulari). Inoltre, l’utilizzo di specifici coloranti fluorescenti permette di analizzare il contenuto in DNA, la presenza di morte cellulare programmata (apoptosi), la produzione di radicali liberi dell’ossigeno, l’attività mitocondriale, la proliferazione cellulare.

Nella ricerca clinica, l’identificazione di specifiche popolazioni cellulari, per esempio circolanti nel sangue periferico o presenti in una biopsia, può fornire indicazioni sul possibile coinvolgimento di quella data popolazione nella patogenesi di una malattia, oppure essere proposta come marcatore diagnostico e prognostico.

In questo primo anno, il citofluorimetro è stato utilizzato principalmente per tre progetti, di cui due di ricerca traslazionale e uno di ricerca di base:

1. Fenotipo degli eosinofili in corso di Bronco Pneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO).

In una considerevole parte di pazienti affetti da BPCO (30%), si osserva un aumento del numero degli eosinofili. Questo aumento è correlato ad un fenotipo clinico più severo, ma anche ad una migliore risposta alla terapia cortisonica. Non è noto tuttavia il ruolo degli eosinofili nella patogenesi della BPCO, né ci sono informazioni relative al loro stato di attivazione nelle diverse fasi della patologia. Il progetto in corso si propone di verificare se esistano delle differenze fenotipiche (marcatori di attivazione, recettori delle chemochine e di fattori di crescita) degli eosinofili circolanti in corso di BPCO.

2. Espressione dei recettori per gli oppioidi endogeni sui linfociti circolanti in pazienti con fibromialgia.

La fibromialgia è una sindrome complessa, fortemente invalidante, della quale sono ancora poco noti i meccanismi patogenetici. Anche la risposta dei pazienti ai consueti trattamenti analgesici è molto variabile. Lo studio mira ad identificare e quantizzare l’espressione dei recettori per gli oppioidi sui linfociti circolanti, in modo da porre le basi per futuri studi farmacologici di tipo

interventistico, e per studi osservazionali, volti a definire il ruolo dei linfociti nella patogenesi della fibromialgia.

3. Analisi dell'effetto dei modulatori del metabolismo sull'attività mitocondriale di linee cellularimioblastiche in vitro.

I modulatori del metabolismo, farmaci in grado di spostare il metabolismo verso i processi glicolitici o quelli di tipo ossidativo, si sono dimostrati utili nel trattamento dello scompenso cardiaco e i pazienti trattati con questi farmaci hanno mostrato anche un recupero della funzionalità muscolare. Partendo da queste basi, è stato proposto un progetto di reverse pharmacology per stabilire, a livello molecolare, quale fosse l'azione dei modulatori del metabolismo in modelli sperimentali in vitro di differenziamento muscolare.

In aggiunta a questi progetti principali, il citofluorimetro è stato messo a disposizione di ogni gruppo che possa averne bisogno anche per analisi di conferma di altri dati, come quelli sul ciclo cellulare o sull'apoptosi, in corso di esperimenti *in vitro*.

La metodologia usata principalmente è stata quella della marcatura delle molecole di membrana su sangue intero. Questa metodica, messa a punto per ridurre al minimo la manipolazione del campione, permette di avere una fotografia delle popolazioni cellulari circolanti. In breve, il sangue, aliquotato sterilmente sotto cappe biologiche con filtro Hepa (livello di contenimento 2), viene marcato con anticorpi coniugati a fluorocromi diretti contro le molecole di membrana d'interesse. Dopo 15 minuti di incubazione viene aggiunta una soluzione di lisi (FACS lysing solution, BD Bioscience) che elimina in maniera selettiva gli eritrociti e fissa le cellule. Il campione viene quindi lavato ed è pronto per l'acquisizione al citofluorimetro.

Per l'analisi dell'attività mitocondriale, le cellule sono state incubate con una sonda (TMRE) che entra all'interno della membrana mitocondriale, e emette una fluorescenza la cui intensità è direttamente proporzionale all'attività mitocondriale. Dopo l'incubazione, le cellule sono state raccolte e acquisite al citofluorimetro.

Per l'analisi del ciclo cellulare e dell'apoptosi, le cellule sono state fissate mediante incubazione con etanolo al 75% per 30 minuti a -20°C. Dopo la fissazione, le cellule sono state lavate e risospese in una soluzione di PBS e propidiodiuro. Dopo 15 minuti di incubazione, sono state acquisite al citofluorimetro e analizzate con il programma ModFit, specifico per l'analisi del ciclo cellulare.

Relativamente ai risultati fin qui ottenuti dai 3 progetti sopra elencati, si riporta quanto segue:

1. Progetto eosinofili

Prima dell'inizio dell'analisi sui campioni da pazienti, è stata messa a punto la metodica per l'identificazione degli eosinofili nel grafico contenente linfociti, monociti e granulociti. Poiché gli eosinofili sono indistinguibili dai neutrofili e dai basofili osservando solo le caratteristiche morfologiche (dimensioni e granulosità), è stato disegnato un pannello di anticorpi che permettesse l'identificazione della popolazione d'interesse. Combinando assieme anticorpi anti CD45, anti CD15 e anti CD16 si è potuto individuare, senza rischio di interferenze da parte di altre popolazioni cellulari, gli eosinofili (identificati come cellule molto granulose, CD45⁺⁺, CD15⁺, CD16⁻). Il pannello di anticorpi comprende anche l'anti CD125, l'anti CD294 e l'anti CD197, che rappresentano marcatori di attivazione per gli eosinofili. Stimolando le cellule con LPS (lipopolisaccaride, un comune stimolo pro infiammatorio) si è potuto osservare l'aumento di espressione di questi marcatori. I diversi livelli di espressione di questi marcatori sono quindi distinguibili e misurabili. Il pannello si completa con gli anticorpi anti IL-2, IL4 e TGFbeta, citochine prodotte dagli eosinofili in risposta agli stimoli infiammatori.

2. Progetto fibromialgia

L'analisi dei campioni reclutati sinora ha mostrato che delle popolazioni linfocitarie esaminate (T, B ed NK), i recettori per gli oppioidi sono espressi prevalentemente sui linfociti B. Inoltre, di due recettori sono espressi in maniera differente: il recettore KOR è espresso da una bassissima percentuale di linfociti (< 1%), mentre il recettore MOR, espresso principalmente dai linfociti B, è presente in quantità variabili dal 3 al 45%. È interessante notare come l'analisi statistica abbia mostrato la presenza di due gruppi di pazienti: nel primo, l'espressione del recettore MOR è

presente in una bassa percentuale di linfociti ($9\% \pm 6$), e nell'altro gruppo in una percentuale consistente di linfociti ($31\% \pm 7$).

3. Progetto modulatori del metabolismo

Gli esperimenti hanno evidenziato come, nel modello in vitro di differenziamento muscolare (cellule C2C12) i modulatori del metabolismo (in particolare la trimetazidina, TMZ) siano in grado di indurre un aumento dell'attività mitocondriale.

Nel corso del prossimo anno si intende:

- Proseguire il progetto eosinofili, con il reclutamento dei pazienti e l'analisi degli eosinofili in corso di patologia;
- Proseguire il progetto fibromialgia, con il disegno di un nuovo pannello di anticorpi per studiare meglio le caratteristiche della popolazione di linfociti B esprimenti il recettore MOR;
- Mettere a punto di uno studio per la caratterizzazione delle micro vescicole circolanti nel sangue intero. Questo protocollo dovrebbe permettere l'analisi delle micro vescicole direttamente dal prelievo ematico, senza passare attraverso gli step di centrifugazione dei protocolli classici, che potrebbero alterarne numero e caratteristiche. L'analisi delle micro vescicole tessuto specifiche potrebbe rivelarsi un utilissimo strumento diagnostico e prognostico;
- Iniziare di un protocollo per lo studio del sistema immunitario in pazienti con cefalea cronica trattati con dieta chetogenica.

LABORATORIO DI BIOINGEGNERIA DELLA RIABILITAZIONE

Bando European Space Agency (ESA)2015- Programma Artes 3-4

Satellite enhanced Multi-channel ehealth Assistance for Remote Tele-rehabilitation and CAREgiving - SmartCare

SMARTCARE CCN#1- Continuation Change Notification: Satellite enhanced Multi-channel ehealth Assistance for Remote Tele-rehabilitation and CAREgiving - SmartCare CCN#1

Visti gli eccellenti 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 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 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.

Sono stati reclutati 12 pazienti ed è stato eseguito il protocollo di riabilitazione domiciliare. I dati sono in corso di analisi.

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. Il risultato dello studio sarà determinare l'adeguatezza percepita e l'usabilità della piattaforma, e comprenderà anche un'analisi quantitativa sul valore aggiunto e l'impatto potenziale delle soluzioni proposte sulla capacità funzionale degli utenti.

AREA DI RICERCA PARKINSON E DISTURBI DEL MOVIMENTO

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

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

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".

L'insufficienza cardiaca come modello gravitazionale delle alterazioni cardiovascolari e muscolo scheletriche indotte dalla microgravità: effetti di contromisure basate sull'esercizio fisico

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.

Ministero dell'Istruzione dell'Università e della Ricerca – Programma Operativo Nazionale (PON)

Formulazione, sperimentazione e studi registrativi per lo sviluppo di prodotti innovativi nel settore nutraceutico, cosmeceutico e farmaceutico

Il Progetto con il completamento del 10 SAL, è entrato nella sua fase conclusiva degli studi clinici randomizzati, doppio cieco, controllati da placebo che consentono di poter predisporre i dossier registrativi per il Ministero relativamente ai prodotti sviluppati. In particolare, questa fase del progetto ha consentito:

- 1) di documentare come gli estratti di bergamotto e di Olea Europea, da soli od in combinazione con altri estratti da piante autoctone del territorio calabrese, ottenuti attraverso le metodiche estrattive siano di provata efficacia e sicurezza.
- 2) Di comprendere come i bersagli principali di queste attività siano rappresentate dai disturbi metabolici (diabete, syndrome metabolica ecc.) con importanti implicazioni nel settore cardiovascolare

3) di concludere che le formulazioni proposte siano ben caratterizzate dal punto di vista degli active ingredients e coerenti con gli studi preclinici di cui agli OR precedenti.

4) Infine, i dati ottenuti consentono di identificare sia percorsi registrativi dei prodotti con dei claim abbastanza definiti, che possibili spazi futuri di mercato.

Il progetto si prefigge i seguenti obiettivi realizzativi:

- Identificazione e selezione dei principali fitocomplessi da studiare per la realizzazione di forme nutraceutiche e cosmeceutiche, per preparati anti-denaturanti e per farmaci da introdurre negli studi formulativi
- Analizzare i principali fitocomplessi e farmaci al fine di caratterizzare, preliminarmente, le caratteristiche formulative per realizzare i lotti sperimentali.
- Realizzare le formulazioni nutraceutiche e cosmeceutiche ed i preparati sublinguali per fitocomplessi e farmaci
- Determinare le attività di cinetica dei vari prodotti da sperimentare
- Realizzare la sperimentazione clinica dei lotti sperimentali

Metodologie innovative per l'estrazione e purificazione di derivati del bergamotto e dall'olea europea e per lo sviluppo di biomateriali, biosensori e biomarcatori a basso impatto tossicologico ed ambientale

Il presente progetto si propone di:

- Identificare in maniera analitica delle principali frazioni bioflavonoiche del bergamotto e dell'Olea Europea
- Studiare i processi estrattivi in fase solida e liquida dei derivati di cui al punto
- Caratterizzazione e titolazione degli estratti
- Determinare le attività di cinetica dei vari prodotti da sperimentare
- Testare l'efficacia e la sicurezza in preparazioni sperimentali in vitro e nell'animale da esperimento per i saggi in vivo
- Disegnare gli studi clinici di efficacia e sicurezza
- Realizzare la sperimentazione clinica dei lotti sperimentale

Cost - Action

The comet assay as a human biomonitoring tool
hCOMET

Molti studi di biomonitoraggio umano hanno utilizzato il test della cometa per misurare il danno al DNA (alcuni misurano anche la riparazione del DNA).

Nella maggior parte dei casi, il dosaggio viene applicato alle cellule mononucleate del sangue periferico. I risultati di studi relativamente piccoli sono spesso incoerenti ed potrebbe essere utile effettuare un'analisi congiunta dei dati combinati di tutti gli studi disponibili.

hCOMET sarà una rete di ricercatori già attivi (o che intendono essere attivi) nel biomonitoraggio umano con questo test. I risultati forniti da questi ricercatori saranno compilati come un unico database che presenta circa 19.000 misurazioni individuali di danni al DNA.

L'analisi congiunta consentirà di determinare quali fattori (fumo, età, alimentazione, sesso, esposizione professionale ecc.) influenzano il danno al DNA e in che misura.

Pochi studi hanno incluso la capacità di riparazione del DNA come endpoint; si raccolgono i dati possibili e si effettua una revisione dettagliata (o un'analisi aggregata se i dati sono sufficienti).

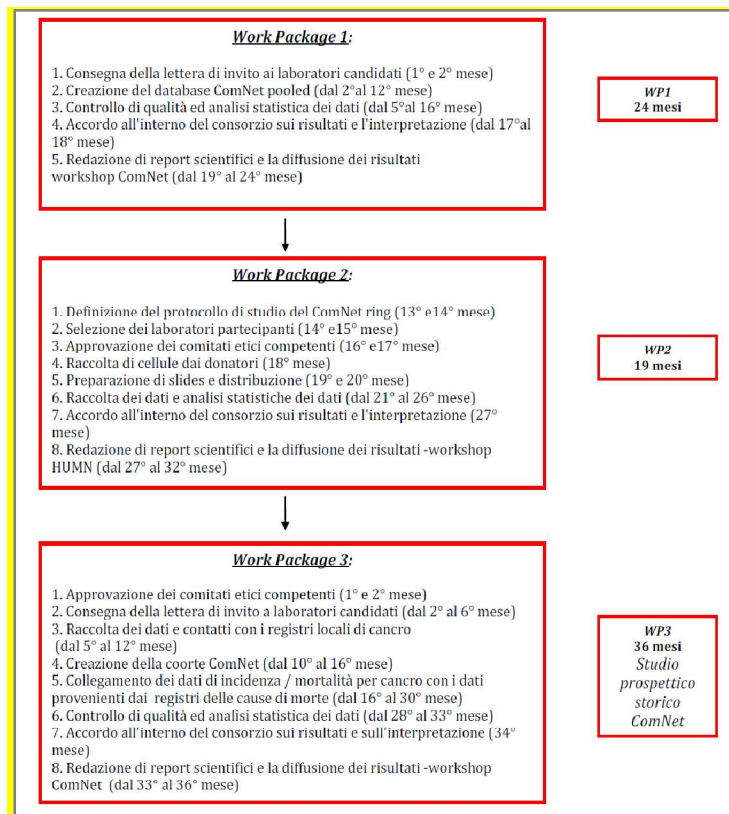
Inoltre, hCOMET affronterà il problema della riproducibilità inter-laboratorio del test mediante l'elaborazione di protocolli standard, sia per il danno al DNA sia per la misurazione della riparazione del DNA, coordinando studi strutturati per testare questi protocolli e offrendo corsi di formazione e scambi, in modo tale che nel futuro il confronto dei risultati di diversi studi sarà facilitato.

Verranno esaminate le applicazioni del test ad altri tipi di cellule umane e metodi di isolamento (come i leucociti ottenuti dal sangue congelato).

Fondazione AIRC per la Ricerca sul Cancro

An International Network for standardisation and validation of the Comet Assay as a cancer risk biomarker

ComNet è un network di ricercatori, lanciato nel settembre del 2011, che utilizza la Comet Assay, o Test della Cometa, negli studi di biomonitoraggio umano. ComNet affronta i problemi che insorgono nella comparazione dei risultati del Test della Cometa tra diversi laboratori e ha come finalità la validazione di tale test come strumento di biomonitoraggio e come indicatore di rischio di cancro e di altre malattie cronico-degenerative associate all'invecchiamento o alla presenza di mutazioni. Le principali priorità del ComNet Project sono di accertare che il Test della Cometa è uno strumento affidabile di biomonitoraggio per studi sull'uomo e di stabilire la rilevanza del danno al DNA (come misurato dal Test della Cometa) per la salute umana e per il rischio di cancro e di altre malattie legate all'invecchiamento. Nell'ambito di una collaborazione internazionale, sulla base degli importanti risultati dei precedenti studi internazionali - il progetto HUMN, International Collaborative Project on Micronucleus Frequency in Human Populations e il progetto ESCH, European Study Groups on Chromosome Damage and Health - che hanno fornito una decisiva validazione di questi biomarcatori da un punto di vista tecnico e come indicatori di rischio stabilendo il nesso tra il danno al DNA nei soggetti sani e il rischio di cancro, il progetto ComNet si propone di generare un database pooled assemblando dati individuali provenienti da oltre 100 laboratori che lavorano con il Test della Cometa. ComNet Project è uno studio osservazionale di coorte storica, No Profit, promosso dall'IRCCS San Raffaele Pisana, in collaborazione con la rete di 49 laboratori internazionali, aderenti al progetto ComNet, co-finanziato dall'associazione AIRC (all'interno delle "Call for Proposals 2015". Il progetto ComNet, della durata complessiva di 36 mesi, si articolerà pertanto in 3 Work Packages (Flowchart).



Lo studio intende procedere con:

- Creazione di 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;
- Identificazione di caratteristiche tecniche che riguardano la misurazione del danno al DNA e proposta di protocolli standard;
- Valutazione della presenza di associazione tra le misure del danno al DNA in soggetti sani e l'incidenza del cancro/mortalità: Lo studio prospettico storico ComNet.

La dimostrazione di un legame tra il livello di danno e l'incidenza del cancro/mortalità può drasticamente cambiare l'interpretazione di tale test (come è avvenuto per le aberrazioni cromosomiche, micronuclei, addotti del DNA) soprattutto per la possibile influenza sulle strategie preventive, per l'implicazione legale e per le potenziali applicazioni cliniche. Risultati positivi aprirebbero prospettive importanti che riguardano la possibilità di utilizzare il Test della Cometa in oncologia clinica (ad esempio per la diagnosi precoce) e nella prevenzione del cancro. La disponibilità di un metodo standardizzato e convalidato potrebbe avere conseguenze anche su altri campi in cui è utilizzato il Test della Cometa: gli studi in vitro/in vivo di genotossicità; la ricerca di base; il monitoraggio (come marker di esposizione/effetti precoci in ambito occupazionale).

Il primo step è consistito nella validazione della metodica. Linfociti umani prelevati da soggetti volontari sani sono stati esposti a concentrazioni scalari di H₂O₂ per 10 minuti. La frammentazione del DNA è proporzionale alla concentrazione di H₂O₂. E' stata valutata anche la capacità di riparazione del DNA dopo rimozione dell'agente ossidante.

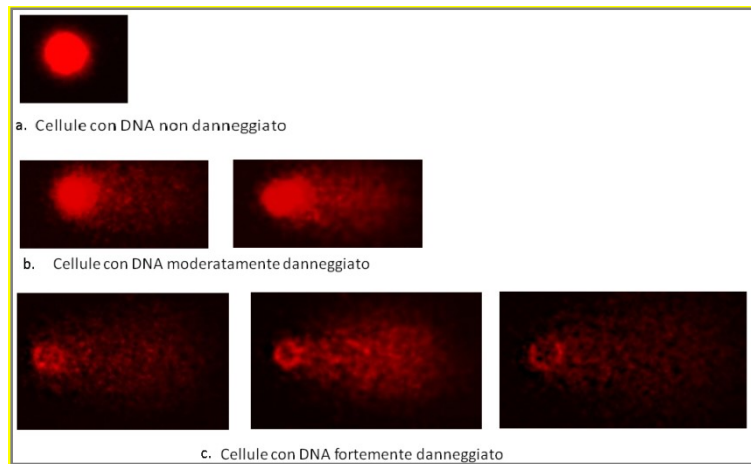


Figura 1. Linfociti umani “sani” esposti a concentrazioni di H₂O₂ [a. 0.0; b. 50.0; c. 100 μ M] per 10 minuti.

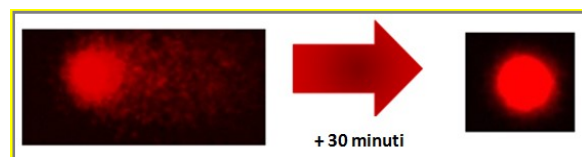


Figura 2 - Linfociti umani “sani” esposti a H₂O₂ [100 μ M per 10 min], lavati e risposi in mezzo completo.

Gli obiettivi principali di hCOMET consistono nel 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 contribuirà a ridurre le variazioni interlaboratorio e porterà 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:

- 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.
- WG2. Innovazione tecnica e implementazione. Questo gruppo di lavoro sarà responsabile dell'innovazione e dell'implementazione dei risultati ottenuti e dei corsi di formazione, in accordo con le linee guida e SOP che saranno ulteriormente ottimizzati e sviluppati in collaborazione con aziende, piccole e medie imprese.
- WG3 Ring studies. Il gruppo di lavoro organizzerà studi per testare la robustezza dei protocolli standard.
- WG4 Linee guida e SOP. Questo gruppo di lavoro creerà nuove linee guida e SOP per minimizzare le differenze tra i laboratori.

- WG 5 Riparazione del DNA. Il gruppo di lavoro è responsabile dello sviluppo del saggio di riparazione del DNA come strumento di biomonitoraggio.
- WG6 Tipi di cellule differenti. Questo gruppo di lavoro valuterà l'idoneità di diversi tipi di cellule umane per l'analisi del saggio della cometa.
- WG7 Planning for the future.

Nel corso dei due anni precedenti sono state effettuate le seguenti attività:

- Primo meeting "first kick", Brussels, 12 Aprile 2016;
- WG6 -WG8 , Core Group Meeting, Bratislava, Repubblica Slovacca, 26-28 Settembre 2016;
- WG1/2, Core Group Meeting, WG5, WG7, Zagreb, Croatia, 25-29 Novembre 2016;
- Basic Training Course for Comet assay and DNA repair, Oslo, 8-11 Marzo 2017, Norwegian Institute of Public Health, Oslo, Norvegia;
- WG5 meeting, 7 marzo Marzo 2017 , Norwegian Institute of Public Health, Oslo, Norvegia;
- Working Group meetings, 27- 28 Agosto 2017, Pamplona, Navarra, Spagna;
- WG6, WG3, WG2, Czech Academy of Sciences, Prague, Repubblica Ceca, 11-12 Dicembre 2017.

Nel mese di Febbraio 2018, presso l'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma si è svolto l'incontro (WG1, WG4, WG5, WG6, WG7) e nel mese di Marzo si è svolto il corso in Statistica ed Epidemiologia.

AREA DI RICERCA CARDIOVASCOLARE

Rete Cardiologica Nazionale degli IRCCS

Come componente della Rete Cardiologica Nazionale degli IRCCS, l'Istituto prende parte al progetto denominato: Strategie integrate per lo studio dei determinanti cellulari e genomici della placca aterosclerotica. In particolare all'IRCCS San Raffaele Pisana (PI.2) e all'IRCCS Istituti Clinici Scientifici Maugeri di Montescano-PV (PI.1) è stato affidato il work package (WP) 6:

Fattori emergenti di rischio e/o di protezione di aterosclerosi.

Il WP 6 è suddiviso in due sotto-studi.

Il primo si propone di valutare quanto la presenza e gravità dell'apnea ostruttiva nel sonno (OSA) partecipi all'incremento di molecole infiammatorie correlate all'instabilità della placca aterosclerotica carotidea. L'ipossia intermittente periodica genera, infatti, danno da ossigenazione/re-ossigenazione, che è a sua volta responsabile della produzione di specie reattive dell'ossigeno con conseguente infiammazione e disfunzione endoteliale. Il pathway delle lectine (LP) del sistema del complemento può rappresentare un indice di instabilità della placca aterosclerotica carotidea. In questo progetto, si prevede di prelevare un campione di sangue da pazienti con aterosclerosi carotidea al momento della diagnosi e ogni 6 mesi nel follow-up, per l'analisi dei livelli plasmatici di LP come marker periferico delle placche a rischio di rottura.

Il secondo si propone di valutare cambiamenti apportati dall'esercizio fisico sul volume della placca rilevata mediante TAC coronarica, controllandone la regressione precoce con tecniche accurate, che consentano di approfondire la conoscenza dei cambiamenti nella composizione di placca. Il regolare allenamento di resistenza, infatti, è associato a rallentata progressione dell'aterosclerosi coronarica e riduzione del diametro della stenosi se combinato con cessazione del fumo di sigaretta.

Lo studio 1 è uno studio multicentrico sperimentale prospettico della durata di 12 mesi volto ad esplorare i livelli delle molecole infiammatorie in relazione alla presenza e severità di OSA in soggetti con aterosclerosi carotidea. Tutti i pazienti con aterosclerosi carotidea che saranno arruolati nello studio di validazione dei livelli plasmatici di LP come marker periferico delle placche a rischio di rottura sono eligibili alla valutazione della presenza e severità di OSA. Essi saranno raggruppati secondo i valori classici di cut-off che definiscono la presenza e la gravità della apnea

del sonno. Si prevede che non tutti i centri aderenti al progetto “generale” siano dotati di un Laboratorio di Polisonnografia e possano quindi fornire al paziente il sistema di registrazione ed eseguire la lettura e l’analisi della registrazione effettuata. Il Centro Coordinatore pertanto organizza il servizio domiciliare (su tutto il territorio nazionale). In particolare: il centro coordinatore riceve una segnalazione (via mail) contenente i dati del paziente che viene contattato per definire le tempistiche dell’esame. Nel giorno concordato, un tecnico si reca direttamente al domicilio del paziente per l’applicazione dell’apparecchiatura e provvede, il mattino successivo, al ritiro dell’apparecchiatura presso il paziente. Quindi invia la registrazione al Centro Coordinatore che effettua lettura e scoring. I dati della lettura dei monitoraggi notturni sono inseriti nel database generale dello studio.

L’obiettivo dello studio 1 è valutare l’associazione tra la presenza e la gravità di OSA e aumentati livelli plasmatici di molecole infiammatorie (e maggiore vulnerabilità della placca).

I pazienti, dopo aver firmato un consenso informato, sono sottoposti a monitoraggio notturno del sonno mediante l’utilizzo di un dispositivo portatile (Embletta, Broomfield, USA), che include i seguenti sensori: sensore d’aria oro-nasale, sensore termico nasale, sensore di movimenti toraco-addominali attraverso pletismografia induttiva, saturazione O₂ mediante un pulsossimetro, posizione e movimento del corpo e movimento, russamento. Tutti i sensori sono conformi alle attuali linee guida AASM per la rilevazione di eventi respiratori. L’apnea ostruttiva è definita come una caduta del flusso respiratorio di almeno il 90% per una durata minima di almeno 10 secondi in presenza di escursioni toraco-addominali. L’apnea centrale è definita come caduta del flusso respiratorio di almeno il 90% per una durata minima di almeno 10 secondi in assenza di sforzo respiratorio. Le apnee miste sono classificate come eventi ostruttivi. La ipopnea è definita come una riduzione del flusso respiratorio $\geq 50\%$, associata ad una diminuzione del 3% della saturazione di ossigeno, ed è classificata come centrale o ostruttiva secondo le stesse regole utilizzate per le apnee. L’indice di apnea/ipopnea (AHI) è calcolato come il numero di apnee e ipopnea diviso per ora di registrazione. Similmente, l’indice di apnea (AI) è computato considerando solo il numero di apnee. La presenza e gravità di OSA è definita sulla base di: indice di AHI; il valore medio e minimo delle desaturazioni associate all’evento apnoico/ipoapnoico; l’indice di desaturazione di O₂; il tempo totale passato con una saturazione di ossigeno inferiore al 90% (T90). L’AHI sarà categorizzato a < 5 = assenza; AHI 5-15 = OSA lieve; AHI 15-30 = OSA moderata; AHI > 30 = OSA grave. Per i centri che non dispongono di un laboratorio del sonno, il monitoraggio notturno cardiorespiratorio può essere eseguito tramite l’utilizzo di un servizio domiciliare coordinato da IRCSS Maugeri.

Nello Studio 2 tutti i pazienti sono sottoposti ad una valutazione dell’albero coronarico mediante TAC coronarica e ad un test ergometrico. Vengono successivamente randomizzati in due gruppi: (a) trattamento; (b) usual care. Durante il periodo di studio, ai pazienti randomizzati ad intervento viene insegnato come ridurre attraverso stretta dieta alimentare il contenuto di colesterolo sulla base delle indicazioni dell’American Heart Association (proteine 15%, carboidrati 65%, lipidi <20 %, colesterolo totale <200 mg, rapporto saturi/polinsaturi acidi grassi >1). Allo stesso tempo viene loro chiesto di allenarsi quotidianamente a casa con un cicloergometro per un minimo di 30 minuti e di partecipare ad almeno due dei quattro gruppi di allenamento da 60 minuti ciascuno a settimana. La valutazione sull’aderenza durante l’allenamento a casa si basa sull’invio del tracciato al centro attraverso un sistema telematico già utilizzato e verificato in uno studio precedente. Il peso corporeo, le variabili metaboliche ed emodinamiche sono valutate ad intervalli di tre mesi durante i 12 mesi di follow-up. Ai pazienti del gruppo controllo vengono indicati la necessità di ottenere un basso livello di colesterolo e di eseguire attività fisica adeguata e continuativa indicandogli i livelli di colesterolemia da raggiungere e la necessità di eseguire attività fisica come da buona pratica clinica.

L’obiettivo dello studio 2 consiste nel verificare in una popolazione di pazienti con angina stabile l’impatto di un programma a medio termine che comprenda uno stretto controllo dei fattori di rischio e di un intenso programma di esercizio fisico sulle dimensioni della placca coronarica valutata alla TAC coronarica.

Lo studio 2 prevede una durata di 12 mesi. Sono reclutati 30 pazienti con cardiopatia ischemica cronica. I criteri di inclusione prevedono soggetti di sesso maschile con angina pectoris stabile, stenosi delle arterie coronarie documentate da angiografia e/o TAC coronarica. Criteri di esclusione sono: angina pectoris instabile, stenosi dell'arteria coronaria principale sinistra > 30%, frazione di eiezione ventricolare sinistra < 40 %, cardiopatia valvolare maggiore, classe NYHA > II, qualsiasi condizione che precluda l'esercizio fisico regolare. Le attività previste includono: screening ed arruolamento dei pazienti; impostazione di training sull'alimentazione; impostazione allenamento allo sforzo e programma di esercizio al cicloergometro; valutazione basale a sei mesi e al termine del follow-up laboratoristica con particolare riferimento a metabolismo glucidico e lipidico; valutazione dell'albero coronarico mediante TAC coronarica basale e a 12 mesi; test ergometrico al cicloergometro basale e a 12 mesi; analisi statistica, descrizione dei risultati e interpretazione dei dati.

L'associazione tra OSA e biomarcatori dell'infiammazione sarà effettuata mediante analisi della regressione con un modello lineare generale che include sia variabili esplicative continue che categoriche. Per il secondo studio sono usati test non parametrici e χ^2 test. Indagini parametriche e multiparametriche vengono effettuate sui dati raccolti basalmente e al termine del follow-up.

Metodo:

- TAC coronarica ed un test ergometrico
- Gruppo (a) trattamento
 - stretta dieta alimentare per la riduzione del contenuto di colesterolo sulla base delle indicazioni di ESC/AHA (proteine 15%, carboidrati 65%, lipidi < 20 %, rapporto saturi/polinsaturi acidi grassi > 1).
 - allenamento quotidiano a domicilio con un cicloergometro per un minimo di 30 minuti e di partecipare ad almeno due dei quattro gruppi di allenamento da 60 minuti ciascuno a settimana.
 - il peso corporeo, le variabili metaboliche ed emodinamiche sono valutate ad intervalli di tre mesi durante i 12 mesi di follow-up.
- Gruppo (b) usual care
 - istruzione su livelli di colesterolemia da raggiungere e la necessità di eseguire attività fisica come da buona pratica clinica.

L'arruolamento è iniziato nel mese di Maggio 2018

- il data base San Raffaele ha individuato 87 pazienti
- 10 pazienti sono stati inclusi nello studio
 - 4 randomizzati ad intervento
 - (esercizio fisico ad alta intensità e stretto controllo alimentare)
 - 6 usual care

Entro il termine del 2019 si prevede di potere includere altri 10 pazienti.

Agenzia Spaziale Italiana

L' insufficienza cardiaca come modello gravitazionale delle alterazioni cardiovascolari e muscolo scheletriche indotte dalla microgravità: effetti di contromisure basate sull'esercizio fisico

Unità coinvolte:

Centro di Biomedicina Spaziale, Università degli Studi di Roma Tor Vergata
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico San Raffaele Pisana, Roma
Università degli Studi di Milano
Università Telematica San Raffaele, Roma

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 Congestive heart failure (CHF), insufficienza cardiaca congestizia, 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, le 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.

AREA DI RICERCA BIOBANCA- BIOTECNOLOGIE AVANZATE E BIOMARKER DISCOVERY

“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.

L'obiettivo del progetto consiste nella 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 PDTA (Percorso Diagnostico Terapeutico Assistenziale) e PAI (Piano Assistenziale Integrato) e, più in generale, di workflow basati sull'evidenza scientifica e compliant con le linee guida e best practices.

Per quanto riguarda le attività previste dalla Unità dell'IRCCS San Raffaele Pisana – in linea con il piano di sviluppo approvato – sono stati identificati e formalizzati gli eventi e i processi assistenziali nel paziente oncologico, nel passaggio dal trattamento attivo alle cure palliative, ed è stata avviata l'acquisizione e strutturazione delle informazioni cliniche necessarie alla costituzione delle sorgenti dati da integrare nella piattaforma in fase di sviluppo. In particolare, è stata ampliata la raccolta dei campioni biologici e delle informazioni clinico-demografiche necessarie alla meta-modellazione del NET4HEALTH. Le informazioni ottenute hanno permesso di implementare le banche dati preesistenti e sono state messe a disposizione in forma aggregata e anonima per la costituzione del database di progetto. Inoltre, le attività si sono concentrate sull'adeguamento strutturale della piattaforma (trattamenti elettivi - terapia di supporto) e sull'integrazione con le infrastrutture informatiche preesistenti. Contestualmente, in collaborazione con gli Hospice del Gruppo San Raffaele e l'Università di Roma Tor Vergata, è proseguita l'analisi dei requisiti necessari alla modellazione del PDTA in area oncologica e del profilo informativo utile a discriminare le decisioni all'interno delle alternative previste. Tale attività ha portato al riconoscimento formale da parte dell'European Society for Medical Oncology (ESMO) del certificato di “Designated Center of Integrated Oncology and Palliative Care”, all'Hospice – Centro per le Cure Palliative – San Raffaele Cassino in collaborazione con l'Unità Operativa di Oncologia Medica del Policlinico Tor Vergata di Roma. La piattaforma NET4HEALTH è stata inoltre implementata con il sistema decisionale clinico (DSS) sviluppato dal gruppo di ricerca (basato su

tecniche di intelligenza artificiale) ed opportunamente adattato al fine di fornire un supporto all'oncologo per una corretta definizione della prognosi e l'eventuale la transizione alle cure palliative secondo il modello di "simultaneous care". I risultati ottenuti in questa fase del progetto sono attualmente in corso di valutazione.

LABORATORIO DI ENDOCRINOLOGIA CARDIOVASCOLARE

ERA-NET on Cardiovascular Diseases Joint Transnational Call for Proposal 2017(JTC 2017):“Mechanisms of early atherosclerosis and/or plaqueinstability in Coronary Artery Disease”

An interdisciplinary and translational approach towards early detection and precise therapy of subclinicalmyocardial ischemia leading to coronary artery disease
PREMED-CAD - PREcision MEDicine in Coronary Artery Disease

Le malattie cardiovascolari (CVD) rappresentano la maggiore causa di morbidità e mortalità nella Comunità Europea, e hanno un enorme impatto socio-economico contribuendo con circa 200 miliardi di euro alle spese sanitarie annuali. Anche se ormai si conoscono numerosi fattori di rischio e biomarkers di malattie cardiovascolari (CAD), i mezzi a disposizione ancora non consentono di identificare adeguatamente i soggetti a rischio "short term". Per questi motivi risulta necessario individuare approcci innovativi che ci consentano di identificare con più sicurezza e precocità i soggetti a rischio. Nel PREMEDI-CAD si intende utilizzare un approccio interdisciplinare e traslazionale, integrando le conoscenze esistenti relative alla epidemiologia, alla bioinformatica, all'"imaging", alla statistica e alla biologia molecolare nell'ambito delle malattie coronariche. PREMEDI-CAD si origina da dati relativi a biomarker conosciuti relativamente a distinte patologie coronariche e da fenotipi subclinici di ischemia miocardica, da dati riguardanti immagini funzionali, da dati inerenti diverse coorti epidemiologiche e biobanche, da metodologie informatiche e modelli animali.

Vengono integrati biomarkers individuati da campioni ematici e altri basati su evidenze cliniche per creare un identikit di biomarkers che vengono validati in modelli murini prone all'aterosclerosi e in coorti di pazienti. Una volta ottenuta la validazione, questi biomarkers sono traslati e utilizzati in un "clinical trial" di prevenzione già in corso, che prevede l'arruolamento di 3000 pazienti con ischemia subclinica. PREMEDI-CAD consente : 1) delineare la via per l'utilizzo di mezzi accessibili nel riconoscimento precoce di soggetti a rischio di CAD a breve o medio termine, 2) identificare la necessità di strategie di intervento, 3) esplorare la fisiopatologia molecolare e il profilo dell'ischemia del miocardio in una visione complessiva, e 4) intervenire con la medicina di precisione sui pazienti afferendo a uno studio clinico già in essere.

In molti paesi le malattie cardiovascolari sono responsabili di più del doppio dei decessi imputabili al cancro. L'identificazione di soggetti a rischio immediato o a breve termine (< 12 mesi) di eventi coronarici, come l'infarto del miocardio (MI) e l'angina, è divenuta necessaria per ridurre significativamente le mortalità e morbidità riconducibili a eventi coronarici. Facendo riferimento al "German Heart Report" del 2016, circa 420,000 individui hanno subito un evento ischemico acuto. In uno o due terzi di questi soggetti, nei 12 mesi precedenti l'evento acuto, si erano verificati almeno una volta sintomi che potessero suggerire l'ischemia miocardica. Il numero totale di individui che ogni anno presentano sintomi che possano essere ricondotti a ischemia miocardica non acuta, si aggira intorno ai 2 milioni. Pertanto, un'identificazione precoce di tali soggetti a rischio è divenuta necessaria per predisporre trattamenti immediati ed efficaci e in una visione più ampia, per ridurre i problemi di salute pubblica e socioeconomici legati alle malattie cardiovascolari.

Circa 3.5 milioni di persone in Europa ogni anno sono soggette a un evento ischemico acuto. Più di due terzi di questi pazienti afferiscono al pronto soccorso almeno una volta nei dodici mesi precedenti l'evento acuto, ma i mezzi clinici a disposizione ad oggi, non consentono di identificare

adeguatamente questi soggetti che necessiterebbero di interventi farmacologici o procedure interventistiche a breve termine. Molti di questi pazienti “a rischio” vengono dimessi come sani, anche se biomarkers come la troponina sembrerebbero indicare ischemia miocardica. Nella pratica clinica, questi pazienti non vengono sostenuti dalla terapia che sarebbe loro necessaria. E’ divenuto pertanto necessario tentare di diminuire la mortalità e morbilità di questi pazienti a rischio somministrando terapie preventive quali gli anticoagulanti o il trattamento volto alla diminuzione del colesterolo LDL, o procedure di intervento quali la coronarografia. Fondamentale al fine di mettere in atto tali propositi è l’individuazione precoce dei soggetti a rischio.

Questo progetto si basa sull’ipotesi che l’individuazione di uno specifico profilo di biomarkers potrebbe consentire di evidenziare potenziali soggetti a rischio di eventi ischemici coronarici a breve termine. Inoltre, l’utilizzo di tali biomarkers in uno studio clinico potrebbe consentire di ridurre mortalità e morbilità.

Al fine di raggiungere i traguardi prefissati, sono stati definiti quattro “Work Packages” (WPs).

Obiettivi WP1 :

- Derivazione bioinformatica dei primi profili minimi di biomarcatori “consensus”
- Identificazione dei “pathways” coinvolti
- Determinazione del profilo di biomarcatori ottimizzato in seguito alla validazione (WPs 2A e 2B)

Obiettivi WP2:

- Condensare il gruppo di biomarcatori identificati dal WP1 (steps 1 e2), in un sottogruppo che consenta di predire specificamente uno stato ischemico subclinico predittivo di un rischio a breve termine.

Obiettivi WP2A:

- Validazione sperimentale in modelli murini del profilo di biomarcatori
- Determinazione delle dinamiche che coinvolgono i biomarcatori nell’ambito dell’intero spettro di malattie cardiovascolari (da stato fisiologico a quello patologico)

Obiettivi WP2B:

- Validazione del profilo di biomarcatori in coorti/biobanche di ischemia precoce,
- Studio delle dinamiche che coinvolgono i biomarcatori nel passaggio dallo stato di salute a quello patologico.

Obiettivi WP3:

- Applicazione retrospettiva e traslazionale del profilo di biomarcatori ottimizzato, in un trial clinico già in corso (GREYZONE)

Poiché è già stato identificato un consistente gruppo di differenti biomarcatori emergenti coinvolti nella identificazione di soggetti ad alto rischio di evento coronarico imminente, ci si aspetta che, in seguito a correlazione con dati epidemiologici e a validazione in modelli animali, sarà possibile individuare il miglior profilo di biomarcatori e i relativi “pathways”, attraverso approcci bioinformatici e biostatistici. Inoltre lo specifico approccio di questo studio interdisciplinare basato sull’applicazione retrospettiva e traslazionale immediata in uno studio clinico già in essere, consentirà di verificare l’applicabilità clinica di questo profilo ottimizzato di biomarcatori per l’individuazione precoce di soggetti ad alto rischio di eventi coronarici, e il suo potenziale nel ridurre mortalità e morbilità nella pratica clinica quotidiana.

A oggi non sono noti approcci sistemici interdisciplinari su larga scala di predizione del rischio. L’approccio di validazione utilizzato nel PREMEDI-CAD consentirà di individuare esclusivamente quei biomarcatori che si evidenziano unicamente in presenza di patologie ischemiche e che con esse correlano dal punto di vista fisiopatologico. L’applicazione immediata allo studio clinico GREYZONE, rappresenta il primo approccio traslazionale per la valutazione clinica su larga scala di un profilo di biomarcatori dell’ischemia miocardica, scrupolosamente identificati come finora descritto.

WP2A: Modelli murini di aterosclerosi e infarto del miocardio e misurazione dei biomarcatori.

Al fine di promuovere lo sviluppo di aterosclerosi nel gruppo sperimentale (definito “ATH”), topi maschi e femmine ApoE KO, di età compresa tra 9 e 10 settimane di età, vengono sottoposti per 4 settimane a trattamento con aldosterone e a dieta aterogena (con 42% di contenuto in grassi). SI

utilizzano sia maschi che femmine per valutare se nei topi di sesso femminile la presenza di estrogeni può ulteriormente migliorare la protezione dall'aterosclerosi. Infatti l'azione degli estrogeni nei topi di sesso femminile potrebbe aggiungersi agli effetti protettivi sull'aterosclerosi. La dieta da utilizzare è una dieta commerciale (Envigo) che accelera lo sviluppo di ipercolesterolemia e di placche aterosclerotiche. Durante le 4 settimane di dieta aterogena si tratta ciascuno dei due gruppi con aldosterone (ALDO, 6 µg/Kg al giorno) tramite minipompa, o con soluzione di controllo. Oltre al gruppo sperimentale ApoE KO ALDO o ApoE KO (gruppo di controllo), viene trattato con aldosterone anche un gruppo sperimentale di topi C57BL6 wild type di 9-10 settimane (maschi e femmine) che rappresenta un secondo gruppo di controllo (per analizzare l'effetto specifico di aldosterone).

Le minipompe sono lasciate negli animali dei tre gruppi sperimentali per 4 settimane.

Al termine della dieta aterogena e del trattamento con ALDO (o soluzione di controllo) viene effettuato un prelievo di sangue periferico dal plesso sub-mandibolare per ottenere il plasma che viene stoccato a -80°C in aliquote. Nel plasma vengono successivamente analizzati i livelli circolanti dei biomarcatori indicati dall'unità tedesca del progetto PREMEDI-CAD (coordinata dal Prof. Karakas).

Successivamente al prelievo di sangue, gli animali sono sacrificati e vengono dissecati cuore, aorta, tessuto adiposo viscerale che sono stoccati e vengono analizzati per valutare l'espressione tissutale degli stessi marcatori analizzati nel plasma.

In parallelo allo studio descritto, viene effettuata la procedura chirurgica di legatura dell'arteria coronarica ("Ligation of the left anterior descending coronary artery") per indurre infarto del miocardio in topi maschi e femmine C57BL6 wild type di 8 settimane di età (gruppo sperimentale denominato "MIF1"). In tale gruppo sperimentale, i topi vengono sacrificati 20 minuti dopo la conclusione dell'operazione chirurgica. In un altro gruppo sperimentale, composto da topi maschi e femmine C57BL6 wild type (gruppo sperimentale denominato "MIF2"), gli animali vengono sacrificati 6 ore dopo la conclusione legatura coronarica. Infine in un terzo gruppo sperimentale composto da topi maschi e femmine C57BL6 wild type (gruppo sperimentale denominato "MIF3") il sacrificio degli animali avviene 24 ore dopo la legatura coronarica. Come controlli viene costituito un quarto gruppo di topi C57BL6 wild type maschi e femmine di 8 settimane di età, che rappresentano topi di controllo e sono sacrificati senza aver subito procedura chirurgica (gruppo sperimentale di controllo denominato "MIF 0").

Quindi i topi dei gruppi MIF 1, MIF 2 e MIF 3 subiscono lo stesso tipo di intervento chirurgico ma vengono sacrificati a tempi diversi. Infine dopo 20 minuti, 6 ore o 24 ore dalla fine dell'operazione chirurgica è effettuato un prelievo di sangue periferico dal plesso sub-mandibolare per ottenere il plasma che viene stoccato a -80°C in aliquote. Anche nel siero dei gruppi MIF 1, MIF 2, MIF 3, vengono successivamente analizzati i livelli circolanti dei biomarcatori in studio. Dopo il prelievo, gli animali vengono sacrificati e saranno dissecati cuore, aorta e tessuto adiposo che saranno stoccati e verranno analizzati per valutare l'espressione tissutale degli stessi marcatori analizzati nel plasma.

Lo studio è stato appena finanziato e la riunione di start-up del progetto si è appena conclusa, pertanto le unità operative stanno organizzando le fasi preliminari per iniziare il lavoro sperimentale. L'impatto clinico del PREMEDI-CAD è fondamentale se si considera che le malattie cardiovascolari rappresentano la causa principale di mortalità e morbidità nella Comunità Europea, e che ciò determina un impatto socioeconomico enorme poiché fanno aumentare la spesa annua di circa 200 miliardi di Euro. La prevenzione di eventi derivanti dall'aterosclerosi quali l'infarto e la riduzione dell'ospedalizzazione e della mortalità dovute a malattie cardiovascolari attraverso l'utilizzo di test diagnostici facilmente praticabili e per mezzo di approcci di medicina di precisione, rappresenta un traguardo ambito. I pazienti necessitano di un approccio che si basi sui più alti requisiti tecnici e qualitativi. Come descritto precedentemente, questo studio ambisce a delineare un metodo per la determinazione precoce di soggetti a rischio che possa consentire di abbassare i livelli di mortalità e morbidità. L'attenzione in questo studio è posta principalmente sulla mortalità derivante da eventi cardiovascolari, sull'infarto del miocardio e sulla rivascolarizzazione coronarica e la sua accuratezza

in termini di risultati prefissi, di approccio sperimentale e di analisi statistiche, lo rendono uno studio altamente competitivo a livello internazionale.

ERA-NET 2018

Responder/non-responder in clinical trials of medication treatment for CVD, Omics analyses in these subjects, Bioinformatical analyses to derive signature, validation in additional cohorts/Trials and animal models, final molecular signature by bioinformatics – MATCH

Le malattie cardiovascolari rappresentano la causa principale di mortalità e morbidità nella Comunità Europea, e che ciò determina un impatto socioeconomico enorme poiché fanno aumentare la spesa annua di circa 200 miliardi di Euro. La medicina basata sulle evidenze, ha consentito un notevole avanzamento nel trattamento delle malattie coronariche (CHD), e il suo progresso è stato favorito dagli studi interventistici multicentrici. Nonostante ciò nell'ultimo decennio, la maggior parte degli studi clinici su larga scala ha raggiunto differenze statisticamente significative solamente nel risultato finale, ma sono risultati scarsamente efficaci nel ridurre in modo rilevante il rischio residuo. Perciò sono divenuti urgenti approcci innovativi che consentano di superare questo orientamento e di promuovere una farmacoterapia individualizzata nel trattamento delle CHD. Durante lo svolgimento del MATCH, si utilizza un approccio interdisciplinare e traslazionale che consentirà di integrare le conoscenze provenienti dalle analisi di un fenotipo molecolare che raggruppi ciò che è noto dalle "Omics technologies", dall'epidemiologia cardiovascolare, dall'"imaging", dalla bioinformatica, dalla statistica e dalla biologia molecolare. MATCH trae origine da dati noti di fenotipi-genotipi individualizzati provenienti da differenti studi clinici nell'ambito delle CHD, da dati di immagini funzionali, da evidenze provenienti da coorti epidemiologiche e da biobanche, da metodologie bioinformatiche e da modelli animali. La bioinformatica che si serve di modelli di apprendimento basati sui computer, sarà in grado di generare un pannello caratteristico di biomarcatori come responsivi o non-responsivi considerando una varietà di studi sui lipidi cardiovascolari. Questo profilo di biomarcatori è ottimizzato in modelli murini prone all'aterosclerosi e su gruppi di pazienti. Il profilo così ottenuto è validato su un secondo sottogruppo di pazienti arruolati nello studio e, in ultimo, è trasferito in uno studio longitudinale già in essere, basato sull'"imaging" (OCT) che ha come scopo quello di valutare la progressione dell'aterosclerosi in pazienti con CHD.

Facendo riferimento al "German Heart Report" del 2016, circa 420,000 individui hanno subito un evento ischemico acuto. In accordo con le attuali linee guida questi pazienti vengono sottoposti a una terapia di controllo del profilo lipidico, somministrando in particolare statine, ezetimibe, e inibitori della PCSK9. Tuttavia, il rischio residuo, per esempio l'incidenza di eventi ischemici secondari, che permane durante la terapia indicata dalle linee guida, risulta tuttora troppo elevato. Circa i due terzi di questi pazienti vanno incontro a eventi coronarici secondari nell'arco di 10 anni. Il trattamento individualizzato delle malattie cardiovascolari risulta necessario al fine di ridurre mortalità e morbidità associate a eventi coronarici, e per ridurre a lungo termine, i problemi socioeconomici e di salute pubblica originati dalle malattie cardiovascolari.

Circa 3.5 milioni di persone in Europa ogni anno sono soggette a un evento ischemico acuto. Approssimativamente i due terzi di questi soggetti vanno incontro a eventi coronarici secondari nei 10 anni di follow up successivi. La maggior parte degli studi clinici su larga scala, effettuati nell'ultimo decennio, sono risultati scarsamente efficaci nel ridurre in modo rilevante il rischio residuo. Perciò sono divenuti necessari approcci innovativi che consentano di superare questo andamento e di promuovere quindi una farmacoterapia individualizzata nel trattamento delle malattie coronariche. La rete traslazionale ha arruolato forze che possono servirsi efficientemente di tutti i dati e le conoscenze finora disponibili in grado di facilitare la messa a punto di una terapia individualizzata delle CHD da un punto di vista multidisciplinare e sinergico. Le scoperte

scientifiche e l'organizzazione infrastrutturale raggiunta in seno ai gruppi facenti parte del network (quali, ad esempio, gruppi epidemiologici e già arruolati in trials clinici con fenotipi dettagliati e inseriti in biobanche corredati di conoscenza esaustiva nella gestione dati e nelle discipline legali e etiche; tecniche sperimentali di biologia molecolare e con uso di modelli animali standardizzate; studio clinico basato sull'“imaging” coronarico; infrastrutture bioinformatiche ad alto potenziale a disposizione) costituiscono basi eccellenti per consentire di aumentare le potenzialità di applicazioni ad ampio raggio degli studi interdisciplinari.

Per raggiungere gli obiettivi sono stati organizzati 5 gruppi di lavoro (WPs) complementari:

- WP1: Valutazione e correlazione di “OMICs technologies” disponibili derivanti da tutti i “clinical trials”.
- WP2: Derivazione bioinformatica e validazione del profilo di biomarcatori.
- WP3: Validazione del profilo di marcatori in gruppi di soggetti malati, in un sottogruppo di individui afferenti al clinical trial e in modelli animali di aterosclerosi.
- WP4: Applicazione traslazionale nel Clinical trial OTC WP5: Gestione del progetto che avendo un approccio traslazionale e clinico necessita di particolare attenzione per quanto concerne problematiche riguardanti l'etica e la raccolta di dati sensibili.

MATCH consentirà di: 1) tracciare la strada per l'utilizzo di metodi accessibili per il trattamento mirato delle malattie cardiovascolari, 2) esplorare la fisiopatologia e il profilo delle risposte individuali alla terapia ipolipemizzante e fornirne una visione organica, e 3) servirci della medicina personalizzata per la cura dei pazienti utilizzando una farmacoterapia individualizzata.

A oggi non sono disponibili approcci sistemici interdisciplinari su larga scala per una terapia di controllo lipidico. MATCH rappresenta un network interdisciplinare di ricercatori giovani e dinamici in grado di integrare la conoscenza relativa alle malattie cardiovascolari e all'epidemiologia, con la bioinformatica, la statistica, la biologia molecolare e la fisiologia. Tutti i ricercatori afferenti al progetto possiedono una lunga esperienza nel loro settore di ricerca e condividono la loro esperienza e le risorse disponibili per complementarsi a vicenda e lavorare in stretta sinergia. Inoltre tutti i membri del consorzio trarranno benefici da network professionali instaurati nel corso degli anni con altri istituti che si distinguono nel campo delle malattie cardiovascolari e nell'approccio alla medicina personalizzata.

L'impatto clinico di MATCH risulta fondamentale in considerazione del fatto che le malattie cardiovascolari rappresentano la causa principale di mortalità e morbidità nella Comunità Europea, e che ciò determina un impatto socioeconomico enorme poiché fanno aumentare la spesa annua di circa 200 miliardi di Euro. Il peso economico sui budget della salute pubblica è tanto elevato poiché una frazione considerevole di pazienti affetti da disturbi cardiovascolari fa parte di una categoria di persone in età produttiva e che potrebbero ancora contribuire attivamente all'economia. La prevenzione di eventi cardiovascolari secondari e la riduzione delle ospedalizzazioni e delle morti da CVD per mezzo di approcci di medicina personalizzata e “target therapy”, sono considerati il traguardo a cui ambire. I pazienti necessitano di studi che tentino di raggiungere i più alti standard possibili in termini di qualità e tecniche utilizzate. Il gruppo di ricerca afferente al MATCH ambisce all'individuazione di una terapia individualizzata delle malattie cardiovascolari che possa far decrescere mortalità e morbidità ad esse legate. Pertanto vengono combinati gli sforzi per avere prima di tutto un impatto sulla salute pubblica. I progressi negli studi consentiranno non solo di influire sulla salute pubblica, ma anche di cambiare le regole e le conoscenze per il trattamento delle malattie cardiovascolari.

MATCH influirà sulla salute pubblica nei seguenti modi:

- 1) Consentirà di valutare il rischio cardiovascolare attraverso biomarcatori attendibili al fine di indicare la strada verso la terapia personalizzata;
- 2) Aumenterà la pubblica consapevolezza nei confronti di una gestione personalizzata nella cura delle CVD sia in ambito clinico che scientifico e politico;
- 3) Rappresenterà la possibilità di diminuire le morbidità associate alle malattie cardiovascolari e conseguentemente di incrementare l'aspettativa di vita e favorire un invecchiamento in salute.

Grazie al suo approccio che tiene conto delle evidenze della pratica clinica quotidiana, e al suo taglio traslazionale che lo colloca all'interno di uno studio interventistico, il nostro progetto di ricerca ha la potenzialità di migliorare la pratica clinica e di consentire un cambiamento nelle raccomandazioni cliniche che indirizzi alla applicazione della terapia individuale.

COST-Action

Aldosterone and mineralocorticoid receptor: Pathophysiology, clinical implication and therapeutic innovations - ADMIRE

ADMIRE Cost Action è un network di ricercatori principalmente europei il cui obiettivo è promuovere studi scientifici riguardanti il ruolo del Recettore Mineralcorticoide (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 con l'intenzione di ampliare 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 in Francia, Germania, Regno Unito, Irlanda, Svizzera, Italia, Paesi Bassi, Polonia, Spagna, Austria, Danimarca, Grecia, Polonia, Portogallo, Romania, Turchia, con laboratori in 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" del recettore mineralcorticoide 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 dei Mass Media e dell'Industria Farmaceutica a partecipare e finanziare tali ricerche per sviluppare nuovi "tools" diagnostici e nuovi antagonisti di MR. Per promuovere la collaborazione tra i gruppi di ricerca che hanno aderito al network, il consorzio ha finanziato 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, precedenti ed attuali, è stato inoltre realizzato il sito-internet <http://www.admirecost.eu/>.

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

- WG1: ALDO synthesis: physiology, physiopathology and diseases
- WG2: MR structure and function
- WG3: Pathophysiological roles of ALDO/MR in cardiovascular diseases
- WG4: Pathophysiological roles of ALDO/MR in the kidney
- WG5: Pathophysiological roles of ALDO/MR in the novel target tissues
- WG6: Translational and clinical studies.

In particolare, il responsabile del Laboratorio è coordinatore dell'WG5 a cui afferiscono i gruppi di ricerca guidati da Decio Armanini (Italia), Francine-Behar Cohen (Francia), Ron de Kloet (Paesi Bassi), Patrick Prunet (Francia), Francesco Fallo (Italia), Pernille B. Laerkegaard Hansen (Danimarca), Nouridine Faresse (Svizzera). Esistono inoltre stretti rapporti di collaborazione scientifica tra il laboratorio del Prof. Caprio e i laboratori del Prof. Frederic Jaisser (Centre de Recherches Cordeliers, Parigi; presidente del COST-ADMIRE) e quello di Stefan Chlopicki (Jagiellonian University Medical College, Cracovia, Polonia).

Il progetto si è concluso nel novembre 2018 ed il report finale è direttamente accessibile sul seguente link:

<https://www.cost.eu/actions/BM1301/#tabs|Name:overview>

3. Cost Action – “Aldosterone and mineralocorticoid receptor: Pathophysiology, clinical implication and therapeutic innovations” ADMIRE- Massimiliano Caprio

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 con l'intenzione di ampliare 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 in Francia, Germania, Regno Unito, Irlanda, Svizzera, Italia, Paesi Bassi, Polonia, Spagna, Austria, Danimarca, Grecia, Polonia, Portogallo, Romania, Turchia, con laboratori in 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 dei Mass Media e dell'Industria Farmaceutica a partecipare e finanziare tali ricerche per sviluppare nuovi “tools” diagnostici e nuovi antagonisti di MR. Per promuovere la collaborazione tra i gruppi di ricerca che hanno aderito al network, il consorzio ha finanziato borse di studio per permettere ai ricercatori di svolgere ricerche e collaborazioni in altri laboratori del network, consentendo quindi lo scambio di conoscenze, di competenze e metodologie. In parallelo il consorzio consente la più ampia diffusione al network di dati e studi in corso e in pubblicazione da tutti i gruppi di ricerca partecipanti organizzando simposi, “meetings” e “workshops”, e proponendo periodi di “training schools” per studenti di dottorato e post-dottorandi del network per migliorare ulteriormente la preparazione scientifica dei giovani scienziati e alzare la qualità della ricerca svolta dall'ADMIRE.

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

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

WG1: ALDO synthesis: physiology, physiopathology and diseases

WG2: MR structure and function

WG3: Pathophysiological roles of ALDO/MR in cardiovascular diseases

WG4: Pathophysiological roles of ALDO/MR in the kidney

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

WG6: Translational and clinical studies.

In particolare, Massimiliano Caprio è coordinatore dell'WG5 a cui afferiscono i gruppi di ricerca guidati da Decio Armanini (Italia), Francine-Behar Cohen (Francia), Ron de Kloet (Paesi Bassi), Patrick Prunet (Francia), Francesco Fallo (Italia), Pernille B. Laerkegaard Hansen (Danimarca), Nourdine Faresse (Svizzera). Esistono inoltre stretti rapporti di collaborazione scientifica tra il laboratorio del Prof. Caprio e i laboratori del Prof. Frederic Jaisser (Centre de Recherches Cordeliers, Parigi; presidente del COST-ADMIRE) e quello di Stefan Chlopicki (Jagiellonian University Medical College, Cracovia, Polonia).

Il progetto si è concluso nel novembre 2018 ed il report finale è direttamente accessibile sul seguente link:

<https://www.cost.eu/actions/BM1301/#tabs|Name:overview>

Ricerca sponsorizzata da privati

Bayer SpA

Finerenone and the metabolic syndrome: potential systemic beneficial effects through specific blockade of the mineralocorticoid receptor in the adipose organ

Studi del laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare e di altri gruppi di ricerca hanno mostrato che il Recettore Mineralcorticoide (MR) ha un ruolo fondamentale nel regolare il metabolismo del tessuto adiposo. Queste ricerche hanno dimostrato che il blocco farmacologico di MR in vitro blocca la differenziazione adipocitaria. In accordo con i dati in vitro, il trattamento con antagonisti di MR in topi sottoposti a dieta obesogena determina negli animali un ridotto aumento di peso, una ridotta infiammazione, una minor espansione della massa di tessuto adiposo, e un miglioramento del metabolismo glucidico. Inoltre, studi in vitro e in vivo precedentemente effettuati nel laboratorio hanno evidenziato che il blocco farmacologico di MR con spironolattone e drospirenone induce conversione del tessuto adiposo bianco in tessuto adiposo bruno, con effetti metabolici benefici e protettivi contro l'obesità. Considerata l'urgenza di contrastare la sempre maggior diffusione di obesità, diabete e sindrome metabolica, l'impiego di antagonisti MR in soggetti obesi potrebbe costituire un efficace approccio terapeutico all'obesità e a malattie ad essa associate.

Questo progetto si propone di caratterizzare gli effetti del FINERENONE, un nuovo antagonista di MR non steroideo sul fenotipo del tessuto adiposo in un modello murino di sindrome metabolica indotta da dieta. Ci si propone inoltre di studiare gli effetti del FINERENONE sulla secrezione di adipochine, sul metabolismo del glucosio e sull'accumulo di tessuto adiposo ectopico nel fegato. Gli effetti del FINERENONE sono infine comparati con quelli dello spironolattone, il classico antagonista steroideo di MR.

Il progetto ha l'obiettivo di studiare gli effetti in vivo del trattamento con l'anti-mineralcorticoide non steroideo e di recente sintesi, FINERENONE in topi "wild-type" sottoposti a dieta normale o a dieta obesogena per 12 settimane, confrontando tali effetti con quelli già conosciuti dell'antagonista steroideo di MR spironolattone. In tali topi verrà valutata l'azione del FINERENONE nel contrastare gli effetti attesi della dieta obesogena in termini di aumento di peso, aumentata infiammazione e espansione e del tessuto adiposo, alterata espressione di adipochine, e intolleranza glucidica e deposizione ectopica del tessuto adiposo nel fegato. Gli effetti del FINERENONE saranno inoltre studiati in colture di adipociti 3T3-L1 e colture di adipociti primari di topo. In particolare, nelle colture di adipociti trattati con i 2 menzionati antagonisti di MR, sarà investigato il grado di differenziamento, il flusso autofagico e l'espressione di geni specifici dell'adipocita bruno.

In considerazione delle proprietà farmacocinetiche del finerenone, e dei nostri dati precedenti ottenuti con Spironolattone e drospirenone, l'utilizzo di questo nuovo antagonista non steroideo del Recettore Mineralcorticoide potrebbe rivelarsi utile nel contrastare l'insulino-resistenza e la disfunzione adipocitaria, attraverso azioni dirette sull'organo adiposo.

Il blocco farmacologico di MR è utilizzato nella pratica clinica per il trattamento dello scompenso cardiaco, ma l'utilizzo di antagonisti di MR è limitato dai rischi di effetti collaterali gravi, come l'iperpotassemia e il peggioramento della disfunzione renale in pazienti che presentano insufficienza renale. Il FINERENONE appartiene a una classe di molecole la cui selettività e affinità per MR sono maggiori se paragonate a quelle di spironolattone o eplerenone. Grazie a queste peculiarità, la somministrazione del FINERENONE in studi clinici su pazienti scompensati con insufficienza renale, ha evidenziato che il FINERENONE riduce il rischio di iperpotassemia e di un aggravamento del danno renale. Partendo da queste premesse lo studio degli effetti del FINERENONE in un modello in vivo di sindrome metabolica, aiuterà a comprendere meglio le potenzialità nell'utilizzo di questo farmaco nell'obesità e nella sindrome metabolica.

Questo studio è condotto per 3 mesi su 4 gruppi di topi wild-type: topi alimentati con dieta normale (gruppo ND, n=10), topi alimentati con dieta grassa (gruppo HFD, n=10), topi alimentati con dieta grassa contenente FINERENONE (gruppo FINE, n=10), topi alimentati con dieta grassa contenente spironolattone (gruppo SPIRO, n=10). Si utilizzano real-time PCR, western blot e tecniche di immunistochimica per analizzare nel tessuto adiposo dei topi, l'espressione di geni e proteine coinvolti nel processo di adipogenesi e per studiare la morfologia tissutale, la localizzazione di specifiche proteine e la deposizione di tessuto adiposo ectopico in particolare nel fegato e nel muscolo scheletrico. Nei topi in studio viene effettuato il test di tolleranza al glucosio tramite iniezione intraperitoneale di glucosio.

Analisi di real-time PCR e western blot vengono inoltre impiegate per analizzare gli effetti del FINERENONE sul differenziamento di colture di adipociti murini 3T3-L1 e adipociti murini primari.

Considerata l'urgenza di contrastare la sempre maggior diffusione di obesità, diabete e sindrome metabolica, l'impiego di antagonisti MR in soggetti obesi potrebbe costituire un efficace approccio terapeutico all'obesità e alle sue comorbidità.

LABORATORIO DI IMMUNOPATOLOGIA SINAPTICA

Progetto Fondo 5x1000

Il ruolo dei linfociti umani nei meccanismi neurodegenerativi nella Sclerosi Multipla (SM)

Lo scopo principale del progetto è indagare il ruolo specifico dei linfociti umani T nella sinaptopatia del Sistema Nervoso Centrale, con l'obiettivo di identificare le alterazioni della trasmissione sinaptica e quindi del danno neurodegenerativo da essi mediato. A tal fine verrà utilizzato un modello chimerico *ex vivo* di SM incubando le cellule linfocitarie isolate dal sangue dei pazienti SM, su fettine preparate a partire da espianti di cervello di topo. Inoltre, verranno quantificate alcune delle principali citochine rilasciate dai linfociti umani, allo scopo di valutare la correlazione tra queste e le potenziali alterazioni sinaptiche. I risultati derivanti dal progetto potrebbero fornire importanti elementi per capire meglio la patogenesi della SM e potrebbero costituire un utile e innovativo strumento per identificare e studiare l'efficacia dei trattamenti terapeutici. Risultati ottenuti di recente hanno dimostrato che un'ora di incubazione di linfociti T derivati da pazienti affetti da sclerosi multipla recidivante remittente (RRSM) in fase attiva della malattia, è sufficiente ad indurre alterazioni eccitotossiche della trasmissione sinaptica striatale rispetto a linfociti di controllo e linfociti derivati da pazienti RRSM in fase non attiva. Inoltre, utilizzando nelle medesime condizioni sperimentali, un inibitore della citochina fattore di necrosi tumorale (TNF) è stato possibile revertire l'effetto sinaptotossico dei linfociti SM, suggerendo un ruolo del TNF come potenziale fattore solubile in grado di indurre l'alterazione sinaptica

eccitotossica. Il raggiungimento di tali risultati indica fortemente che i linfociti di pazienti SM infiltrandosi nel parenchima cerebrale durante la fase acuta della malattia sono in grado non solo di attaccare la mielina e scatenare una reazione infiammatoria locale (microgliosi ed astrogliosi), ma anche di esercitare un effetto sinaptotossico diretto nel cervello tramite rilascio di fattori citochinici. Nel corso del 2019 ci si propone di approfondire ulteriormente gli aspetti molecolari che legano linfociti di SM attivi e sinaptopatia nel modello chimerico di SM.

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla - FISM

Novel paradigms of human motion analysis for quantitatively assessing the efficacy of robot-assisted gait training in multiple sclerosis

Recentemente è stato condotto uno studio che ha svelato un'associazione tra varianti genomiche del virus di Epstein-Barr (EBV) e la sclerosi multipla (SM), rafforzando l'idea che EBV contribuisce allo sviluppo della malattia. Analizzando una regione del DNA virale che codifica per l'antigene nucleare 2 (EBNA2), abbiamo mostrato che il rischio di sviluppare la SM è significativamente correlato alla presenza dell'allele 1,2 e ad una sotto rappresentazione dell'allele 1.3B nel gruppo dei pazienti.

Oltre a EBNA2, altri loci del complesso genoma virale possono influire sulla patofisiologia della malattia. In uno studio esplorativo, dove sono stati interamente sequenziati i genomi di EBV derivati da linee cellulari linfoblastoidi spontanee (spLCL) ottenute da persone con SM e da donatori sani (HD), sono state individuate altre varianti virali che potrebbero essere correlate con l'insorgenza della malattia.

Sulla base di queste informazioni, ci si propone di confermare i dati sull'associazione degli alleli di EBNA2 con la SM, definendone anche il ruolo funzionale, e di accertare la significatività statistica dell'associazione di altre possibili varianti genomiche. Il primo obiettivo è quello di analizzare una coorte di pazienti e sani più ampia ed indipendente rispetto a quella precedentemente analizzata. Ci si propone di arruolare ed analizzare campioni di sangue provenienti da 350 persone con SM recidivante-remittente ed altrettanti soggetti sani di pari età/sexo e provenienza geografica. Si analizzerà il DNA virale tramite il sistema della digital droplet PCR (ddPCR) che è un metodo preciso e accurato, veloce e conveniente per le analisi genotipiche condotte su grandi popolazioni.

Il secondo obiettivo è quello di individuare il possibile ruolo funzionale delle varianti di EBNA2 valutando i livelli di espressione sia dei geni virali che di quelli cellulari, in linee spLCLs infettate dal tipo 1.2 (predisponente alla SM), 1.3B (protettivo) e dal virus di laboratorio B95-8, attraverso un approccio di sequenziamento massivo dell'RNA.

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 (idrossitirosolo 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 ciclodestrine. 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 si è osservato come lo sviluppo della tolleranza antinocicettiva, in seguito alla somministrazione cronica di morfina nei topi, ha portato ad una elevata produzione di superossido responsabile della nitratura dei residui tirosinici e inattivazione enzimatica di MnSOD, GLT1 e GS nel tratto lombare L4-L5 del midollo spinale. La somministrazione di idrossitirosolo, oleuropeina e della frazione polifenolica del bergamotto (BPF) ha ridotto significativamente i livelli di nitratura dei residui tirosinici di tali proteine, ripristinandone, in maniera dose dipendente, l'attività enzimatica e, di conseguenza, la tolleranza indotta dalla somministrazione cronica di morfina.

In aggiunta, i dati hanno rilevato una significativa produzione di malondialdeide (MDA), nel modello di tolleranza antinocicettiva indotta dalla morfina, ridotta in maniera significativa dal trattamento degli antiossidanti.

L'utilizzo degli antiossidanti di origine naturale per il trattamento del dolore di diverse eziologie, potrebbe essere considerato un nuovo valido approccio, utile per il controllo dello sviluppo e della progressione di diverse malattie.

Inoltre, ulteriori studi sono stati condotti utilizzando l'idebenone che è un analogo sintetico del coenzima Q10 (CoQ10), antiossidante essenziale della catena di trasporto degli elettroni a livello mitocondriale; l'idebenone, infatti, è un farmaco attivo a livello del sistema nervoso centrale ed è già in commercio per l'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- β -ciclodestrine (HP- β -CD), data la scarsa solubilità e i problemi di nefrotossicità delle ciclodestrine naturali. I nostri dati hanno rilevato come la formulazione idebenone-HP- β -CD sia in grado di ridurre l'iperalgia termica e l'edema in maniera dose-dipendente rispetto all'idebenone non veicolato. Inoltre, si è constatato come l'idebenone complessato sia in grado di ridurre la formazione della malondialdeide (MDA) a livello spinale. I risultati dimostrano, quindi, che l'inclusione dell'idebenone in HP- β -CD aumenta l'efficacia terapeutica di questo farmaco e che, in questa formulazione, è in grado di ridurre l'infiammazione, l'iperalgia e l'accumulo della formazione dei radicali liberi, cruciali mediatori del dolore.

Fondazione Peretti

I markers bio-psico-sociali nella sindrome fibromialgica

In collaborazione con il Prof. William Raffaelli

Il dolore cronico rappresenta una condizione difficile, poiché, essendo disabilitante e intrattabile, è causa di stress e sofferenza. Ogni anno, i sistemi sanitari nazionali europei spendono risorse economiche su farmaci e terapie, spesso senza alcun risultato chiaro e permanente (Wooden SR. et al 2017; Ruhe AK et al. 2017). Le linee guida terapeutiche standard non sono abbastanza chiare nella definizione di una strategia adeguata da seguire in condizioni di dolore. Analgesici oppiacei come la morfina sono i pilastri della gestione del dolore, in condizioni che vanno dal dolore acuto a quello cronico, con oltre 300 milioni di prescrizioni per oppiacei scritte annualmente in tutto il mondo. Inoltre, la loro utilità clinica è spesso ostacolata dallo sviluppo della tolleranza analgesica e dall'ipersensibilità dolorosa, nota anche come iperalgia indotta dalla morfina (Lauro et al. 2016). Lo sviluppo della tolleranza al trattamento con morfina richiede dosi crescenti per ottenere un equivalente sollievo dal dolore. Con un trattamento prolungato, lo sviluppo dell'ipersensibilità indotta dalla morfina contrasta l'effetto terapeutico di tali aumenti di dose (Mao et al. 1995). Inoltre, pur mantenendo il controllo del dolore cronico, il trattamento con oppioidi porta a effetti collaterali debilitanti come un over-sedazione, ridotta attività fisica, depressione respiratoria, stitichezza e persino dipendenza. Una migliore comprensione dei meccanismi molecolari e cellulari alla base della patogenesi della "malattia da stato del dolore" è cruciale per lo sviluppo di efficaci strategie terapeutiche, per mantenere l'efficacia degli oppiacei durante il dosaggio cronico senza generare tolleranza o effetti collaterali inaccettabili. Si può pensare che il problema risieda anche nella mancanza di dati statistici sulla dose giusta per l'utilizzo del farmaco e l'efficacia a lungo termine. L'assenza di test oggettivi e marker biologici, per monitorare i fattori di rischio e lo sviluppo del dolore, porta a una considerazione ingannevole e negativa del consumo di oppioidi. È stato studiato che un'eccessiva risposta infiammatoria svolge un ruolo chiave nella patofisiologia del dolore cronico e diversi oppioidi o la diversa somministrazione di oppioidi mostra vari effetti sul sistema immunitario come la stimolazione immunitaria o l'immunosoppressione, o entrambi. Questa evidenza permette alla ricerca di studiare un approccio innovativo per controllare lo sviluppo e la progressione della malattia (Morgan et al. 2011). Al giorno d'oggi nessuno ha studiato se l'uso di farmaci analgesici oppioidi generi un fattore protettivo o peggiori le condizioni del paziente in base alla loro azione immunosoppressiva; se per ottenere un'azione protettiva, che si esplicita attraverso l'interazione con il sistema immunitario, sono necessari regimi di dosaggio diversi da quelli che consentono una semplice gestione del dolore; se esiste una tempistica standardizzata per il trattamento da somministrare, al fine di evitare lo sviluppo della cronicizzazione patologica indipendente dall'operazione chirurgica effettuata.

Le profonde interazioni tra sistema nocicettivo-immunitario e oppioide e la presenza di un recettore oppioide periferico, estratto dal sangue, su cui i sistemi esprimono le loro interazioni, apre nuovi scenari sulla possibilità di avere un trattamento guidato da marker biologici, che definiscono uno standard terapeutico.

L'obiettivo di questo studio consiste nell'analizzare i recettori oppioidi espressi sulle membrane dei linfociti di sangue periferico, per valutare se possano essere identificati come marker idonei per lo sviluppo del dolore cronico di diversa eziologia al fine di identificare una terapia standard.

Per lo studio, i pazienti arruolati (idonei e consenzienti che hanno firmato un modulo di consenso informato specifico) sono stati sottoposti a chirurgia dell'anca e divisi in diversi gruppi, in base al tipo di farmaco somministrato. Tutti i pazienti hanno seguito il piano farmacologico specifico prima e dopo l'intervento. Ogni paziente è stato sottoposto a diversi campioni di sangue a diverse tempistiche.

L'espressione dei recettori oppioidi è stata determinata tramite citofluorimetro LSR Fortessa X-20 (BD Science) e western blotting.

Una parte del sangue periferico è stato incubato con specifici anticorpi coniugati con fluorocromo, in combinazione con anticorpi che riconoscono i recettori oppioidi. Dopo l'incubazione, i campioni sono stati lisati utilizzando la BD FACS Lysing Solution per 15 minuti a temperatura ambiente e centrifugati a 1500 RPM per 5 minuti. Il pellet risultante è stato acquisito e analizzato attraverso l'utilizzo del citofluorimetro LSR Fortessa X-20 (BD Science) utilizzando il software CellQuest.

L'espressione dei recettori oppioidi attraverso western blotting, è stata valutata, utilizzando cellule periferiche mononucleari (PBMCs), separate dal sangue attraverso il Ficoll e incubate con anticorpi specifici per i recettori κ e μ .

I dati preliminari hanno evidenziato un aumento significativo della percentuale dei recettori oppioidi μ sulla superficie totale dei linfociti (TBNK) in pazienti a 30 giorni dall'operazione che hanno ricevuto FANS o paracetamolo, rispetto ai pazienti prima dell'operazione. Analizzando l'espressione su CD3 + / CD8 + (cellule T totali); CD3- / CD8 + (cellule T citotossiche); CD3 + / CD8- (cellule T helper) e CD16 + / CD56 + (cellule NK), si è osservato che in tutti i gruppi di pazienti non vi era nessun tipo di alterazione dei recettori μ sulla superficie di questi linfociti; quindi, si è ipotizzato che tale aumento possa riguardare i linfociti B. Saranno necessari studi futuri per confermare le nostre osservazioni preliminari.

Questa ricerca clinica ha lo scopo di documentare se la realizzazione degli obiettivi citati sia concreta e se i recettori oppioidi situati sulle membrane cellulari siano marker biologici idonei per il trattamento farmacologico. E' stato proposto un metodo per analizzare se l'oppiode possa modulare i linfociti suggerendo i recettori oppioidi come marcatori biologici per prevenire il dolore cronico tolleranza o dipendenza da oppiacei dopo chirurgia dell'anca. Lo studio potrebbe aiutare a stabilire la migliore terapia basata sulla dose e sull'economia più basse per paziente, durante il periodo di tempo minimo, al fine di aggirare la tolleranza e la dipendenza da oppiacei.

LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA DELLE PATOLOGIE CRONICO-DEGENERATIVE

Ministero della Salute. Invito a presentare progetti di ricerca connessi all'esercizio delle funzioni di autorità competente in materia di dispositivi medici (Direttiva 93/42/CEE del Consiglio del 14 giugno 1993 concernente i dispositivi medici - recepita con Decreto Legislativo 24 febbraio 1997, n. 46).

Sviluppo di procedure atte al mantenimento della sicurezza microbiologica di erogatori di ossigeno utilizzati in riabilitazione respiratoria

La riabilitazione respiratoria consiste in un breve percorso terapeutico basato sulla esecuzione di regolare esercizio fisico. Viene definita dalla European Respiratory Society (ERS) e dall'American Thoracic Society (ATS) come "un intervento basato sull'evidenza, multidisciplinare e globale, destinato ai pazienti con patologia respiratoria cronica che siano sintomatici e abbiano frequentemente diminuito le loro attività nella vita di tutti i giorni". Ha lo scopo di ridurre i sintomi,

ottimizzare lo stato funzionale, aumentare la partecipazione e ridurre i costi dell'assistenza sanitaria, stabilizzando e facendo regredire le manifestazioni sistemiche della malattia". La riabilitazione respiratoria fa parte del trattamento complessivo della Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO) e delle altre malattie respiratorie croniche. La BPCO comprende tre entità nosologiche (bronchite cronica, enfisema polmonare e asma bronchiale cronico), che possono manifestarsi individualmente o in varia associazione tra loro. È una delle principali cause di morbilità e mortalità in tutto il mondo. L'Organizzazione Mondiale della Sanità e la Harvard School of Public Health di Boston, Massachusetts, stimano che nel 2020 la BPCO sarà la quinta causa di disabilità e la terza causa di morte più comune nel mondo. È una malattia caratterizzata da una limitazione del flusso aereo non completamente reversibile con la distruzione progressiva del parenchima polmonare spesso associata a una risposta infiammatoria anomala delle vie aeree a particelle nocive o a gas. È causata da esposizione di individui geneticamente suscettibili a fattori ambientali, tra cui il fumo di tabacco, l'inquinamento ed il fumo di combustibile da biomassa. La storia naturale della BPCO è caratterizzata da ricorrenti episodi di riacutizzazione clinica che si manifestano con un peggioramento dei sintomi. Le cause più frequenti di riacutizzazione in pazienti portatori di BPCO sono rappresentate da varie infezioni ad eziologia virale batterica oltre che micotica. Durante il percorso di riabilitazione respiratoria i pazienti vengono sottoposti ad ossigenoterapia. Tale terapia rappresenta a volte l'unico presidio terapeutico in grado di incidere positivamente sulla sopravvivenza dei pazienti affetti da insufficienza respiratoria acuta o cronica. I pazienti sottoposti ad ossigenoterapia ricevono l'ossigeno tramite l'utilizzo di specifici dispositivi medici denominati gorgogliatori, che possono essere in plastica quindi monouso o in vetro (questi ultimi vengono riutilizzati dopo un processo di sterilizzazione). La prolungata ospedalizzazione può costituire una condizione favorente lo sviluppo di infezioni causate da microrganismi Gram-negativi derivati sia dalla pressione selettiva dovuta all'uso frequente di antibiotici, sia dalla contaminazione di flora microbica ambientale o di patogeni opportunisti della mucosa respiratoria inferiore. Tale colonizzazione potrebbe causare una risposta infiammatoria cronica e un progressivo deterioramento delle difese immunitarie contribuendo alla severità degli episodi di esacerbazione con il conseguente prolungamento dell'ospedalizzazione. La prevenzione delle contaminazioni dei nebulizzatori ospedalieri costituisce quindi un problema di primaria importanza in sanità pubblica, in quanto aumenta il consumo di antibiotici e antimicotici contribuendo allo sviluppo di ceppi antibiotico resistenti, nonché ad un aggravio importante dei costi per il sistema sanitario nazionale. Sulla base di quanto esposto è emersa l'urgenza di effettuare studi tesi ad una identificazione sistematica dei microrganismi (batteri e funghi) che potrebbero contaminare i gorgogliatori di ossigeno prima e dopo il processo di disinfezione/sterilizzazione, tale studio è attualmente in corso. Sulla base dello studio in corso si propone di effettuare delle ulteriori indagini sugli erogatori di ossigeno utilizzati in ospedale al fine di effettuare una caratterizzazione molecolare dei ceppi patogeni isolati sugli erogatori e delineare delle procedure atte al mantenimento della sicurezza microbiologica di tali dispositivi

L'obiettivo principale dello studio proposto è focalizzato nella caratterizzazione molecolare dei ceppi patogeni isolati sugli erogatori di ossigeno nei diversi reparti ospedalieri.

Tale studio consente di:

- comprendere la variabilità genetica ed i rapporti filogenetici caratterizzanti le comunità microbiche presenti sui dispositivi medici;
- verificare, nell'ambito di ciascuna specie microbica, la diffusione di specifici cloni nella struttura ospedaliera.

Lo studio si è proposto inoltre di delineare delle procedure standardizzabili, al fine di uniformare metodiche e trattamenti di tali dispositivi medici che permettono di rendere il processo di sterilizzazione più sicuro a garanzia della qualità.

Sono coinvolti nello studio i seguenti reparti:

- Riabilitazione Respiratoria
- Riabilitazione Cardiologica

- Riabilitazione Neuromotoria

I pazienti arruolati sono soggetti di ogni età, sottoposti ad ossigeno terapia e non in corso di terapia antibiotica al momento del ricovero (il trattamento con terapia antibiotica prima del ricovero rappresenta uno dei criteri di esclusione dallo studio).

Per ogni paziente arruolato è raccolto e analizzato l'espettorato, al momento del ricovero (T0) e alle dimissioni (T3), mentre il dispositivo medico (gorgogliatore) e tutte le sue componenti sono analizzate al tempo T0, dopo 7 giorni (T1), dopo 14 giorni (T2) e al tempo T3. Tutti i ceppi microbici isolati sono sottoposti ad antibiogramma e ne è eseguita la caratterizzazione genotipica.

Dall'analisi delle colture microbiche degli espettorati prelevati al momento del ricovero (T0) e alle dimissioni (T3) sono isolati e identificati i seguenti microrganismi Gram-positivi: *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus haemolyticus*; *Corynebacterium striatum*; *Enterococcus faecalis*; *Enterococcus faecium*; *Enterococcus malodoratus*; *Staphylococcus epidermidis*. Nell'ambito dei batteri Gram-negativi sono isolati ed identificati prevalentemente ceppi di *Acinetobacter baumannii*; *Enterobacter cloacae*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Moraxella catarrhalis*; *Pseudomonas aeruginosa* e *Stenotrophomonas maltophilia*. Infine, *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans* sono i miceti maggiormente isolati dagli espettorati raccolti ai vari tempi di prelievo. Da tale analisi è emerso che il microrganismo più rappresentativo sia al momento del ricovero che alle dimissioni è *Candida albicans* presente a T0 con una percentuale del 38% e a T3 con una percentuale del 42%. A seguire, *Aspergillus fumigatus* è stato isolato nel 7% dei campioni esaminati. Tra i batteri Gram-positivi, *Staphylococcus aureus* è il batterio maggiormente isolato ed identificato a T0 (14%) e a T3 (6%), mentre tra i Gram-negativi a T0 si ritrova *Pseudomonas aeruginosa* con una percentuale del 9% e *Acinetobacter baumannii* con una percentuale 7%. Alle dimissioni (T3) i microrganismi più riscontrati sono *Klebsiella pneumoniae* (13%), *Acinetobacter baumannii* (8%) ed *Escherichia coli* (8%). Dall'analisi delle colture microbiche delle acque del sistema gorgogliatore non sono isolate specie batteriche, risultando quindi sterili. Questo dato risulta di notevole importanza in quanto sta ad evidenziare come i criteri delineati dal precedente progetto su tali dispositivi siano correttamente eseguiti, mantenendo l'acqua che viene introdotta nel gorgogliatore a +4 °C e cambiandola frequentemente. Di contro, sono isolate diverse specie batteriche a livello delle cannule nasali ed i microrganismi più comuni sono *Staphylococcus epidermidis* (25%) tra gli Stafilococchi coagulasi negativi e *Staphylococcus aureus* (25%). Tutti i ceppi isolati sia dagli espettorati che dalle cannule nasali sono sottoposti ad antibiogramma allo scopo di evidenziare profili di antibiotico-resistenza. Da tale analisi è emerso che il 65% dei ceppi di *Staphylococcus aureus* isolati dagli espettorati e dalle cannule nasali risultano essere ceppi Meticillino Resistenti (MRSA). Il restante 35% comprende ceppi Meticillino Sensibili (MSSA). Dalla analisi di resistenza agli antibiotici β -lattamici è emerso che il 15% dei ceppi Gram-positivi testati risulta essere resistente a tale classe di antibiotici. Inoltre, nell'ambito dei Gram-positivi alcune specie isolate di Enterococchi (*Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*) presentano una resistenza alla vancomicina nel 17% degli isolati. Infine, per quanto riguarda i Gram-negativi, il 60% degli isolati presenta un fenotipo con produzione di β -lattamasi a spettro esteso (ESBL) e di questi il 30% esprime resistenza ai carbapenemici. Infine, è stata eseguita la caratterizzazione genotipica di oltre 300 ceppi isolati ed identificati dagli espettorati e dai gorgogliatori provenienti dai tre reparti coinvolti nello studio.

Dall'analisi genotipica si è evidenziato che gli isolati di *Pseudomonas aeruginosa* risultano appartenere a cloni diversi così come gli isolati di *Staphylococcus capitis* e di *Enterococcus faecalis*. I ceppi isolati di *Klebsiella pneumoniae* appartengono a due cloni diversi mentre gli isolati di *Enterococcus faecium* risultano appartenere a tre cloni tutti vancomicina sensibili. Anche gli isolati di *Staphylococcus warnerii* appartengono a tre differenti cloni, mentre i cloni di *Staphylococcus haemolyticus* risultano essere 8 e presentano una notevole diversità. Infine, gli

isolati di *Staphylococcus hominis* appartengono a 6 diversi cloni. Per quanto riguarda *Staphylococcus aureus*, dall'analisi dei dati si rileva che sono presenti sette cloni diversi e tra questi, 5 sono risultati meticillino-resistenti (MRSA) e 2 meticillino-sensibili (MSSA). Tali cloni sono stati isolati da pazienti ricoverati in diversi tempi durante il ricovero presso la struttura IRCCS San Raffaele Pisana, Roma. Inoltre, come già riportato nel precedente progetto, tale microrganismo è stato isolato a T1, a T2 e a T3 in pazienti diversi sia a livello delle cannule nasali che a livello dell'espettorato, evidenziando una colonizzazione/infezione del paziente da parte dello stesso germe. Per quanto riguarda lo *Staphylococcus epidermidis* sono stati isolati 10 cloni diversi e tra questi, 2 in particolare rappresentano rispettivamente il 47% e il 21% degli isolati analizzati. Tali cloni sono stati isolati da pazienti diversi ricoverati presso i tre reparti coinvolti nello studio, a tempi differenti, evidenziando una possibile cross-contaminazione.

Nel corso dell'indagine microbiologica condotta nell'ambito di tale Progetto, è stato possibile riscontrare la presenza di microrganismi quali *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus spp* e *Pseudomonas aeruginosa* che risultano essere tra i principali microrganismi responsabili delle infezioni correlate all'assistenza, che come è noto, rappresentano un grande problema di salute pubblica, con un elevato impatto sui costi sanitari. I pazienti arruolati nello studio possono rappresentare sorgenti di infezioni e di trasmissione di patogeni in ambiente ospedaliero durante il ricovero. La trasmissione può avvenire tramite molteplici veicoli, ma il principale veicolo è rappresentato dalle mani. I microrganismi possono essere veicolati da un dispositivo infetto al paziente tramite il contatto delle mani degli operatori sanitari o dello stesso paziente. La maggior parte delle infezioni che si verificano in ospedale può essere prevenuta con un'accurata igiene delle mani. Da questo studio, è emerso che ceppi di *Staphylococcus epidermidis* e di *Staphylococcus aureus*, isolati da diversi pazienti e ricoverati all'interno della struttura, appartengono allo stesso clone evidenziando come la manipolazione dei dispositivi da parte degli operatori sanitari possa favorire il trasferimento dei cloni all'interno della struttura. L'accuratezza delle manovre inerenti l'utilizzo di dispositivi per ossigenoterapia è di fondamentale importanza al fine di ridurre la contaminazione e la trasmissione da parte del personale sanitario. Numerosi studi hanno dimostrato che le infezioni ospedaliere prolungano i giorni di degenza ospedaliera, incrementando le spese sanitarie sia ospedaliere che post-dimissioni. Dall'analisi accurata dei risultati ottenuti è stato possibile delineare delle procedure standardizzabili, al fine di uniformare metodiche e trattamenti degli erogatori di ossigeno in modo da ridurre la diffusione dei germi. Da una prima analisi si evince che le cannule nasali dopo sette giorni di utilizzo (al tempo T2) risultano contaminate dagli stessi germi presenti nell'espettorato del paziente a dimostrazione del passaggio dello stesso microrganismo dal paziente al dispositivo e quindi all'ambiente circostante con la conseguente trasmissione ad altri pazienti ricoverati in struttura. Pertanto, si raccomanda la sostituzione periodica delle cannule al fine di prevenire la contaminazione dei dispositivi e ridurre la diffusione dei germi. Si consiglia di sostituire la cannula nasale ogni 24/28 h di utilizzo.

I risultati dello studio hanno contribuito ad offrire la possibilità di stilare delle procedure standardizzabili per l'ottimizzazione del processo di disinfezione e sterilizzazione degli erogatori di ossigeno utilizzati in ospedale. Tali procedure potranno prevenire eventuali contaminazioni a carico degli erogatori di ossigeno, derivanti da non corrette pratiche di disinfezione/sterilizzazione dopo l'utilizzo, contribuendo altresì alla diminuzione del numero delle recidive infettive che, in questi pazienti costituisce la fonte principale di aggravamento della patologia di base. La conseguente diminuzione del consumo di antibiotici e antimicotici potrà inoltre avere un impatto positivo sul contenimento del fenomeno dell'antibiotico-resistenza e, non da ultimo, una importante riduzione dei costi per il sistema sanitario.

COMITATO ETICO E CLINICAL TRIAL CENTER

Il Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana, è istituito in seguito alla Deliberazione Regione Lazio n. 301 del 03/10/2013, alla modifica alla DGR n. 146 del 12/06/2013 e al Decreto Ministero della Salute 08 febbraio 2013.

Il Comitato Etico è composto da 20 membri effettivi e da 3 membri a chiamata la cui competenza e qualifica professionale corrisponde a quanto richiesto dalla normativa vigente (D.M. 18/03/98 e successivi) e alle esigenze dell'IRCCS San Raffaele Pisana, in relazione alle competenze scientifico-metodologiche e bioetiche. Il Presidente ed il Vice Presidente vengono eletti dai membri effettivi nel corso della seduta di insediamento.

Comitato Etico IRCCS San Raffaele Pisana	
Nominativo	Ruolo
Prof. Ugo Luigi Aparo	Direttore Sanitario
Dott. Renato Berardinelli	Pediatra
Dott. Stefano Bonassi	Biostatistico
Dott. Francesco Brancati	Esperto di genetica
Dott. Nicola Barbato	Rappresentante professioni sanitarie infermieristiche, tecniche e della riabilitazione
Prof. Lucio Capurso	Presidente e Clinico Gastroenterologia
Dott. Vittorio Cardaci	Clinico nell'ambito della Pneumologia Riabilitativa
Prof. Massimo Fini	Direttore Scientifico
Dott. Giampiero Forte	Farmacista SSR
Prof. Marco Franceschini	Responsabile Clinico Riabilitazione Neuromotoria e sensoriale
Sig.ra Maria Rosaria Iardino	Rappresentante del volontariato per l'assistenza e associazionismo di tutela dei pazienti
Mons. Andrea Manto	Esperto in Bioetica
Dott.ssa Marcella Marletta	Esperto in dispositivi medici
Dott. Walter Marrocco	Medico di medicina generale
Dott.ssa Marzia Mensurati	Farmacista
Dott.ssa Carolina Muscoli	Farmacologo
Dott. Marcello Russo	Biostatistico
Dott.ssa Rita Salotti	Farmacista
Dott. Carlo Tomino	Farmacologo
Dott. Giovanni Zotta	Vice-Presidente e Esperto in materia giuridica e assicurativa
Componenti a chiamata:	
Ing. Manuela Galli	Ingegnere clinico
Prof. Giuseppe Rotilio	Esperto di Nutrizione
Prof. Natale Santucci	Esperto procedure diagnostiche/terapeutiche invasive e semi-invasive

Le riunioni plenarie si svolgono, di norma, con cadenza mensile. In casi in cui sia provata l'urgenza del parere da parte del Comitato Etico, sono previste riunioni telematiche che possono avvenire con tempistiche differenti da quelle delle riunioni plenarie. Nel corso del 2018 si sono svolte 11 riunioni plenarie. La tabella a seguire presenta la specifica degli studi valutati dal Comitato Etico nel biennio 2017-2018.

Tipologia degli studi	2017	2018
Studi interventistici farmacologici (promotore azienda farmaceutica)	10	11
Studi interventistici farmacologici (promotore IRCCS)	1	2

Studi interventistici non farmacologici (promotore IRCCS)	2	10
Studi con Dispositivi medici (promotore IRCCS)	5	5
Studi con Dispositivi medici (rete)	-	4
Studi osservazionali(promotore azienda farmaceutica)	4	3
Studi osservazionali (promotore IRCCS)	4	3
TOTALE	26	38

Indicatori di Performance

Attività generale	n
Nuovi protocolli	38
Emendamenti sostanziali	36
Emendamenti non sostanziali	8
Notifiche	91
DSUR	11
SUSAR	2
TOTALE	186

Il Comitato etico richiede ai promotori che la documentazione relativa alle varie richieste sia consegnata 15 giorni prima della seduta prevista.

Attività valutazione Studi interventistici (D.Lvo 211/2003)	Tempi medi di espressione del parere	Rispetto tempistiche stabilite dalle norme
Parere unico (centro coordinatore)	27 giorni	100%
Accettazione/rifiuto parere unico	30 giorni	100%
Emendamenti sostanziali	28 giorni	100%
Emendamenti non sostanziali	30 giorni	n.a

Altre Attività	Tempi medi	Rispetto tempistiche stabilite dalle norme
Studi osservazionali	24 giorni	100%

Convenzioni economiche	Tempi medi	Rispetto tempistiche stabilite dalle norme
Studi interventistici	24 giorni	100%
Studi osservazionali	24 giorni	100%

Confronto 2017-2018

Il confronto tra l'attività 2017 e 2018 mostra che l'attività generale del Comitato è aumentata. Osservando la tipologia degli studi valutati, è da evidenziare il sensibile aumento degli studi interni valutati, di cui l'IRCCS è promotore. Tale aumento si configura come il risultato della maggiore presenza all'interno della clinica e nel lavoro di supporto alla stesura e alla sottomissione della documentazione da parte della Segreteria Tecnico-Scientifica.

Studi di cui IRCCS SR è Coordinatore nel 2018	CEC
Studi interventistici farmacologici(promotore azienda farmaceutica)	3
Studi interventistici farmacologici (promotore IRCCS)	2

Studi interventistici non farmacologici (promotore IRCCS)	10
Studi con Dispositivi medici (promotore IRCCS)	3
Studi con Dispositivi medici (rete)	-
Studi osservazionali(promotore azienda farmaceutica)	1
Studi osservazionali (promotore IRCCS)	3
TOTALE	22

Sperimentazioni cliniche a fini diagnostici, terapeutici e/o riabilitativi

Nel 2018 erano in corso le seguenti sperimentazioni spontanee in collaborazione con altri Centri di eccellenza:

- Progetto spontaneo multicentrico “EKSOGAIT - La Riabilitazione del cammino con Esoscheletro indossabile EKSO: correlati clinici e neuromuscolari del riapprendimento assistito” Studio Randomizzato Controllato (RCT) e multicentrico (che coinvolge 8 centri di riabilitazione Italiani) che ha come obiettivo l’osservazione di eventuali modificazioni cliniche e strumentali in pazienti con ictus che eseguono una rieducazione del cammino col robot EKSO rispetto a chi esegue un trattamento tradizionale. Lo studio ha avuto inizio nel 2016 era di tipo biennale poi prolungato di un anno. E’ stato approvato dal Comitato Etico dell’IRCCS San Raffaele il 18/11/2015 (cod: 09/15). Inoltre è stato registrato al sito internazionale “clinicaltrials.com” con n° NCT03395717 - Unique Protocol ID: 10/15.
- Progetto spontaneo multicentrico “TREADSTROKE - Studio RCT (con randomizzazione per ogni centro) sull’efficacia dell’esercizio robotico su treadmill associato a riabilitazione convenzionale per il recupero del cammino negli esiti di stroke”
Gli obiettivi di questo studio Randomizzato Controllato (RCT) e multicentrico (che coinvolge 18 centri di riabilitazione Italiani) sono: verificare l’efficacia del trattamento robotico end effector ed esoscheletro versus il trattamento riabilitativo convenzionale nel recupero del cammino dopo stroke; verificare la eventuale diversa efficacia dei sistemi end effector ed esoscheletro nei diversi quadri di disabilità post ictus. Lo studio ha avuto inizio nel 2017 ed è stato approvato dal Comitato Etico dell’IRCCS San Raffaele il 17/01/2018 (cod: 19/17). Inoltre è stato registrato al sito internazionale “clinicaltrials.com” con n° NCT03688165 - Unique Protocol ID: 01/2018.
- Progetto spontaneo multicentrico “ROBOTAS - Studio multicentrico osservazionale aperto di confronto fra dispositivi robotici (end-effector e esoscheletrici) per il recupero funzionale dell’arto superiore negli esiti di stroke”
Lo studio multicentrico (che coinvolge 18 centri di riabilitazione Italiani) ha come obiettivo la valutazione comparata della terapia robotica utilizzando robot esoscheletrici e robot end-effector, che tipicamente sono impiegati in clinica. Lo studio riguarderà sia pazienti post stroke subacuti che cronici e ha come obiettivo lo studio di come differenti tipologie di interazione tra robot e paziente possano influenzare l’efficacia della terapia robotica dell’arto superiore.
- Studio spontaneo in collaborazione con l’IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi “Efficacia della riabilitazione del cammino mediante robot end-effector in pazienti con ictus subacuti”
Studio Randomizzato Controllato (RCT) e multicentrico che ha come obiettivo l’osservazione di eventuali modificazioni cliniche e strumentali (gait analysis) in pazienti con ictus subacuto che eseguono una rieducazione del cammino col robot GEO System rispetto a chi esegue un trattamento tradizionale. Lo studio è stato registrato al sito internazionale “clinicaltrials.com” con n° NCT03805009 - Unique Protocol ID: 15/13.

CONVENZIONI E COLLABORAZIONI ISTITUZIONALI

Scuole di Specializzazione e Tirocini:

Sono attive le seguenti Scuole di Specializzazione:

Università degli Studi di Roma “La Sapienza”

- Scuola di Specializzazione in Medicina Fisica e Riabilitazione
- Scuola di Specializzazione Medicina e Psicologia
- Tirocinio terapisti occupazionali
- Tirocinio curriculare Facoltà di Ingegneria Civile e Industriale

Università degli Studi di Roma “Tor Vergata”

- Scuola di Specializzazione in Medicina Fisica e Riabilitazione
- Convenzione per il tirocinio pratico per gli studenti che frequentano il Corso di Laurea Magistrale Biotecnologie Industriali della Facoltà di scienze MM FF NN della Scuola Istruzione a Distanza-IaD al fine di completare il percorso formativo accademico dei tirocinanti e di agevolare la scelta professionale
- Tirocini curriculari Corso di Laurea in Biologia Cellulare e Molecolare
- Convenzioni quadro per tirocinio di formazione e orientamento in particolare con il corso di laurea triennale in terapia della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva
- Convenzione per tirocini teorico pratici presso aziende/enti

Università LUMSA

- Master in Neuropsicologia

Libera Università degli Studi di Scienza Umane e Tecnologiche (LUDES)

- Tirocinio di Formazione per i Fisioterapisti

Seconda Università degli Studi di Napoli

- Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare
- Facoltà di Psicologia

Università degli Studi di Urbino “Carlo Bo”

- Centro Interuniversitario IRIDE, per lo svolgimento di Tirocinio in Psicologia Clinica.

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

- Facoltà di Scienze della Formazione

Università di Salerno

- Tirocinio di formazione e orientamento con il Dipartimento di Farmacia

Università di Parma

- Anestesia, Rianimazione e Medicina del Dolore - Dipartimento di Scienze Chirurgiche

Università Telematica San Raffaele Roma

- Convenzioni per tirocinio curriculari e stage

Università degli studi “Roma TRE”

- Convenzioni per tirocinio curriculari e stage
- Convenzione per tirocini teorico pratici presso aziende/enti

Università degli Studi di Roma “Tor Vergata”

- Convenzioni quadro per tirocinio di formazione e orientamento in particolare con il corso di laurea triennale in terapia della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva scaduta

Altri Istituti

- Istituto di Formazione in Analisi Transazionale, Istituto Auximon
- Istituto Walden Associazione Italiana di Psicologia e Terapia Cognitivo Comportamentale
- Scuola Internazionale di Ricerca e Formazione in Psicologia Clinica e Psicoterapia Psicoanalitica S.I.R.P.I.D.I.
- Centro Italiano di Psicologia Analitica - C.I.P.A
- Scuola di Psicoterapia Strategica Integrata Seraphicum - SCUPSIS
- Istituto di Terapia Relazionale Integrata - ITRI
- Centro Studi Martha Harris (Psicoterapia Psicoanalitica, Modello Tavistock)
- Istituto Italiano Psicoterapia Relazionale - I.I.P.R.
- PTS – Psicoterapia Training School Tirocinio per la Specializzazione di Psicologi
- SFPID – Scuola di Formazione di Psicoterapia ad Indirizzo Dinamico Tirocinio per la Specializzazione di Psicologi
- Scuola Italiana di Ipnosi e Psicoterapia Ericksoniana - S.I.I.P.E.
- Scuola di Analisi Transazionale - SIFP
- Lo spazio psicoanalitico
- Scuola Superiore di Specializzazione in Psicologia Clinica _SSSPC Università Pontificia Salesiana
- Engim San Paolo
- IDI – Istituto Dermopatico dell’Immacolata
- IPUS Istituto Privato Universitario Svizzero

Collaborazioni nazionali

Istituto Superiore di Sanità – Collaborazione Scientifica per Progetti di ricerca nell’ambito di:

- riabilitazione
- patologie cardiovascolari
- malattie respiratorie
- neuroscienze
- malattie infettive
- tabagismo
- neoplasie
- medicina di genere.

Università degli Studi di Roma “Sapienza”:

- I Facoltà di Medicina e Chirurgia
- Dipartimento di Neurologia e Psichiatria per una collaborazione scientifica nell’ambito del trattamento del dolore acuto e cronico.

Università Cattolica del Sacro Cuore:

- Istituto di fisiologia umana

Università degli Studi di Roma “Tor Vergata”:

- Dipartimento di Medicina Interna nei settori della:
 - o Cardiologia, con particolare riguardo alla diagnosi e cura dell’ipertensione arteriosa e allo studio del valore predittivo e diagnostico dei marker di funzione cardiovascolare
 - o Diagnosi e terapia delle dislipidemie

- Prevenzione, primaria e secondaria, e cura della malattia aterosclerotica mediante la gestione informatizzata dei pazienti sul territorio
- Diabetologia, endocrinologia, andrologia
- Biochimica clinica
- Medicina interna, oncologia
- Attuazione di strategie innovative in ricerca traslazionale nel campo della broncopneumopatia cronica ostruttiva
- Ricerca specifica sul tema degli effetti metabolici ed autonomici del training fisico in pazienti cardiopatici anziani e con ridotta tolleranza allo sforzo.
- Dipartimento di Biologia, Accordo di collaborazione scientifica sui meccanismi molecolari dell'invecchiamento.
- Dipartimento di Neuroscienze.

Politecnico di Milano (GALLI)

- Dipartimento di Bioingegneria, Collaborazione nel settore della valutazione funzionale e della riabilitazione motoria. Sviluppo dell'attività clinica e di ricerca dei laboratori di analisi della postura e del movimento.

Università Magna Graecia di Catanzaro (CENTRO DEL FARMACO)

- Attivazione progetti di ricerca nei seguenti campi: Area farmacologia di base, molecolare e clinica; area tossicologia; area chimica farmaceutica

Università Telematica San Raffaele Roma

- Attivazione laboratori nell'ambito della Biologia applicata ed in particolare nei settori della fisiologia e della microbiologia e della microbiologia clinica

Università degli Studi di Genova (GR SALE)

- Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili

Università Politecnica delle Marche (GR SALE)

- Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica

Università Campus Biomedico di Roma (GR TOMBINI)

- Unità di Ricerca di Neurologia.
- Unità di Ricerca di Robotica e Microingegneria Bio-Medica

Università di Palermo (TAFANI)

- Dipartimento di Discipline Chirurgiche, Oncologiche e Stomatologiche

Università di Bologna (BONASSI)

- Istituto di Psichiatria

Università Sapienza (GR FERACO)

- Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Patofisiologia Medica, Endocrinologia e Nutrizione

Università Foro Italico (GR FERACO)

- Dipartimento di Scienze Motorie, Umane e della Salute

Policlinico Universitario A. Gemelli (GR VECCHIO)

- Dipartimento di Geriatria, Neuroscienze, ortopedia

COLLABORAZIONI PER PROGETTI DI RICERCA CON FONDAZIONI - ALTRI IRCCS – ENTI PUBBLICI

Fondazione Veronesi Micronucleus frequency in exfoliated buccal cells as a biomarker of DNA aging and risk for age-related diseases BONASSI

Casa di Cura del Policlinico nel settore delle neuroscienze

IRCCS - Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri BONASSI

- Dipartimento di Neuroscienze

IRCCS Centro San Giovanni di Dio, Fatebenefratelli, Brescia VECCHIO

- Sezione di Neuroscienze Cognitive

Ospedale San Filippo Neri, Roma

- Dipartimento di Salute Mentale Roma E, SPDC BONASSI

Azienda Ospedaliera San Giovanni Addolorata per Bio Bim GUADAGNI

Agenzia Spaziale Italiana per l'esecuzione del progetto di preparazione e svolgimento in orbita dell'esperimento Exerc/Orthostatic Tolerance nell'ambito del bando ASI Volo Umano Spaziale (IELLAMO)

Agenzia Italiana del Farmaco per l'esecuzione di progetti di ricerca indipendente sui farmaci (STOCCHI)

Socio del Consorzio Nutramed Scarl per formulazione, sperimentazione e studi registrativi per lo sviluppo di prodotti innovativi nel settore nutraceutico, cosmeceutico e farmaceutico

Socio del Consorzio Italiano per la Ricerca Medica(CIRM)

Accordo di collaborazione con la Federazione italiana medici di medicina generale(FIMMG)

IRCCS Neuromed Contratto per collaborazione Contratto per ASI 20015-025-RO Studio traslazionale sugli effetti dell'ipossia cronica intermittente sul tono e sullo stato d'ansia HYPOX – AIR

Fondazione ISAL (Istituto di Ricerca e Formazione in Scienze Algologiche) nell'ambito del dolore

Collaborazioni internazionali

Diabetes Research Institute, University of MIAMI - Accordo di collaborazione scientifica per la ricerca e cura del diabete

Institute for Molecular and Translational Therapeutic Strategies (IMTTS), Hannover Medical School, Germany

University of Barcellona, Cooperation in collaborative research in the field of home care assistance and services (through tele-assistance and tele-rehabilitation) and systems biology of COPD.

MI&EUR BV Agreement Study on Utilization of Cabergoline for compliance with risk minimization Activities

Merck KGaA Agreement PD-L1 expression in human lung, gastric, and breast cancer tissue

Center for Human Nutrition Washington University School- RF 2011-2012

Laboratory of the Department of Psychiatry and Human Behaviour University of California, Irvine, CA-USA

Centre de recherche des cordeliers in Paris, France and centre for clinical and basic research INSERM

Bayer Pharma AG Research Agreement IN CELLULAR MODELS RELATED TO THE METABOLIC SYNDROME

University of Hawaii Cancer Center Memorandum of Understanding

L'Università Telematica San Raffaele Roma, istituita con decreto del Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca dell'8 maggio 2006, è un Ateneo non statale, legalmente riconosciuto, che rilascia titoli di studio equipollenti e con il medesimo valore legale di quelli rilasciati dalle Università tradizionali.

L'offerta didattica è erogata in modalità e-learning, attraverso l'utilizzo di internet e delle nuove tecnologie digitali. Gli studenti possono pertanto accedere alla piattaforma didattica in qualsiasi momento ed in qualunque luogo, abbattendo ogni vincolo spazio-temporale e offrendo in tal modo la fruizione del materiale didattico anche a coloro che, per ragioni fisiche, geografiche o lavorative, ne sarebbero esclusi.

La lezione ex cathedra viene in sostanza sostituita da lezioni registrate e disponibili online 24 ore su 24 e integrata con specifico materiale didattico: slides, materiale illustrativo, problemi e discussioni in linea. Per garantire inoltre un alto livello qualitativo, le lezioni online sono integrate da attività seminariale e di laboratorio.

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 viene 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.

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.

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'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/ISSN, che si rivolgono ad un pubblico più eterogeneo rispetto a quello accademico.
- Convegni scientifici, organizzati da una comunità scientifica di riferimento o da enti/istituzioni/associazione di professionisti, nonché network universitari e associazioni accademiche che abbiano ad oggetto tematiche scientifiche e la cui discussione avvenga tramite presentazioni di paper (su invito o submission), nonché esposizione di poster, paper o relazioni su invito.
- Partecipazioni a convegni in qualità di relatore e/o di redattore del contributo a convegni nazionali o internazionali organizzati all'interno del proprio ambito scientifico di riferimento, nonché da associazioni di categoria o ordini professionali. Lo scopo di tali convegni è l'aggiornamento continuo e la partecipazione del ricercatore per permettere, attraverso una condivisione del proprio know how, il miglioramento delle conoscenze globali in relazione a determinati ambiti di riferimento.
- Convegni/Seminari/Corsi, quale l'attività a cui il ricercatore partecipa in qualità di partecipante, ai fini di un aggiornamento professionale/scientifico per il miglioramento della propria attività di ricerca/didattica attinente all'Ateneo.
- Partecipazione a varie attività nel campo della ricerca, quali ad esempio partecipazione a: editorial board di riviste nazionali/internazionali; scientific board nell'ambito di book series promosse da editori internazionali e per prodotti editoriali; attività di coordinamento nell'ambito di special issues di riviste o book series; attività di referaggio per riviste accademiche e/o per convegni scientifici.

NOMINE, INCARICHI E RICONOSCIMENTI

Ugo Luigi Aparo

- Componente del Subcommittee “European affairs” dell’EAHM (European Association Hospital Managers)
- Componente del Comitato Scientifico dell’associazione HCRM (Hospital and Clinical Risk Managers) e responsabile di due progetti internazionali dell’HCRM

Piero Barbanti

- Tesoriere della Società Italiana di Neurogeriatria (SINeG)
- Consigliere dell’Associazione Neurologica Italiana per la Ricerca sulle Cefalee (ANIRCEF)
- Membro del Comitato Scientifico dell’Associazione per una Scuola delle Cefalee (ASC)
- Presidente dell’Associazione Italiana per la lotta contro le Cefalee (AIC)

Massimiliano Caprio

- Working Group Leader and Management Committee Member – COST (European Cooperation in Science and Technology) Action BM 1301 “Aldosterone and Mineralocorticoid Receptor”
- Membro della commissione Scientifica Società Italiana di Andrologia e Medicina della Sessualità (SIAMS)

Vittorio Cardaci

- nomina a Delegato area cardio-respiratoria per la Segreteria del Lazio della SIMFER
- Membro del Comitato Tecnico dell’Associazione italiana dei pazienti con BPCO

Claudia Condoluci

- Componente degli “Special Interest Group IASSIDD”: Down Syndrome e Health Issues
- Direzione scientifica di “Il Melograno” Onlus di Civitavecchia

Carlo Damiani

- Segreteria del Lazio della SIMFER

Marco Franceschini

- Chairmen del Comitato permanente per la ricerca della International Society of Physical and Rehabilitation Medicine (ISPRM)

Fiorella Guadagni

- Consultant to Laboratory of Tumor Immunology and Biology – Center for Cancer Research – National Cancer Institute - National Institute of Health (NIH) - U.S. Department of Health and Human Services
- Membro dell’International Evaluation Panel per il progetto “Enabling German Biobank Sites to Connect to BBMRI”, su nomina del German Federal Ministry of Education and Research (BMBF)
- Componente del Collegio dei Docenti, Corso di Dottorato di Ricerca in Medicina e dei Sistemi, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Roma Tor Vergata

Alessandra Musella

- Membro della Scientific Committee del Brain Conference, Genoa – Italy, June 29 - 30 2018
- First Brainstorming Research Assembly for Young Neuroscientists

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" dell'Università Sapienza, Roma
- Presidente della Società Italiana di Microbiologia (SIM)

Eleonora Palma

- Coordinatore nazionale Commissione di Epilettologia sperimentale della LICE (Lega italiana contro l'epilessia)

Carlo Tomino

- Componente Comitato Scientifico della Fondazione The Bridge, finalizzata a supportare interventi e progetti di ricerca in ambito sanitario e socioassistenziale
- Componente UE Expert Working Group su Orphan drug and rare disease

Maurizio Volterrani

- Esperto Scientific Advisory Group (SAG) della European Medicines Agency (EMA).
- Member of the Exercise and Training Committee, Heart Failure Association (HFA).
- Componente della Rete Cardiologica degli IRCCS istituita dal Ministero della Salute Italiano.
- Direttore del Centro studi Società Italiana di Cardiologia Ospedalità Accreditata (SICOA).
- Componente 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.
- Componente 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.
- Componente 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.)

ATTIVITÀ DI FORMAZIONE

CORSI ECM

Nel 2018 l'IRCCS San Raffaele Pisana, in qualità di Provider, ha organizzato 27 corsi ECM, con 2 corsi di formazione a distanza. Il numero complessivo dei partecipanti ai corsi è stato 668 e il numero di crediti ECM assegnato è 414,8

Titolo	Data inizio	Data fine	Totale Partecipanti	Crediti ECM
Terapia Chetogenica nel Nuovo Millennio: Principi Biochimici e Nuove Indicazioni Cliniche	01/01/2018	31/12/2018	166	21
Ricerca Clinica: Nuove Procedure ai Sensi del Regolamento Europeo N. 536/2014 – Corso Base	03/01/2018	30/06/2018	7	4
Diabete, non solo Glicemia	13/01/2018	13/01/2018	38	4
Scompenso Cardiaco Sx-Dx e Scompenso Congestizio in un Reparto di Neuroriabilitazione	04/05/2018	08/06/2018	15	33,9
Il Percorso Decisionale in Riabilitazione: Analisi di Casi Clinici, Pragmatismo Quotidiano e Obiettivi Riabilitativi	10/05/2018	06/06/2018	22	20,8
Scompenso Cardiaco Sx-Dx e Scompenso Congestizio in un Reparto di Neuroriabilitazione	11/05/2018	12/06/2018	18	33,9
Diagnosi Differenziale Parkinsonismi	14/05/2018	15/05/2018	12	10,4
Update sui Disturbi dell'Apprendimento (DSA)	19/05/2018	19/05/2018	12	6,5
Linee Guida in Riabilitazione: dalla Nuova Normativa alle Evidenze Scientifiche	21/05/2018	04/06/2018	15	7,8
Gestione delle Contenzioni e Responsabilità Professionali	31/05/2018	31/05/2018	19	6,5
Responsabilità Professionale: Sicurezza delle Cure, Tutela dei Pazienti e Garanzie per gli Esercenti La Professione Sanitaria	01/06/2018	01/06/2018	58	4
Complessità e Presa in Carico del Paziente nel Post Acuzie, Analisi dei Processi Assistenziali e Riabilitativi	04/06/2018	08/06/2018	10	37
Raccomandazioni, Modalità di Intervento e Protocolli nella Gestione delle Aree Riabilitativo-Assistenziali di Base	07/06/2018	04/07/2018	22	20,8
Corso Advanced Life Support (ALS)	08/06/2018	09/06/2018	12	26,4
Shock	22/06/2018	22/06/2018	14	8,4
Diabete Mellito: Management Medico-Infermieristico	22/06/2018	22/06/2018	19	4
Shock	26/06/2018	26/06/2018	12	8,4
Complessità e Presa in Carico del Paziente nel Post Acuzie, Analisi dei Processi Assistenziali e Riabilitativi	24/09/2018	28/09/2018	17	37
Gestione delle Contenzioni e Responsabilità Professionali	28/09/2018	28/09/2018	6	6,5
Iperensione Arteriosa	02/10/2018	23/10/2018	24	15,6
La Comunicazione Efficace nelle Strutture Sanitarie e Socio-Assistenziali	26/10/2018	26/10/2018	12	8,4
I Disturbi dell'umore nelle Patologie Neurodegenerative	06/11/2018	06/11/2018	63	7
Iperensione Arteriosa	06/11/2018	27/11/2018	11	15,6
La Comunicazione Efficace nelle Strutture Sanitarie e Socio-Assistenziali	20/11/2018	20/11/2018	15	8,4
Anziani e Farmaci: Un Difficile Equilibrio tra Comorbilità e Polifarmacoterapia	22/11/2018	26/11/2018	10	19,5

Update sull'analisi del Movimento della Diagnosi e Riabilitazione dei Disturbi del Controllo Motorio	30/11/2018	30/11/2018	17	7,2
Aspetti Clinico - Assistenziali delle Infezioni In Ospedale	10/12/2018	14/12/2018	22	31,8

Nel 2018 è stato riattivato il corso di Perfezionamento sulla "Dieta chetogenica nel nuovo millennio: principi biochimici e nuove indicazioni cliniche", ideato da Piero Barbanti e Massimiliano Caprio.

Il corso di formazione viene erogato nella modalità di Formazione a Distanza sulla Piattaforma che l'IRCCS ha in collaborazione con l'Università Telematica San Raffaele.

Il programma del corso era articolato in 33 lezioni.

ATTIVITA' ASSISTENZIALE

L'attività assistenziale dell'IRCCS San Raffaele Pisana si espleta su 298 posti letto, con le seguenti Unità Operative (U.O.):

- Riabilitazione Neuromotoria
- Riabilitazione Pediatrica e dell'età evolutiva
- Riabilitazione Cardiologica
- Riabilitazione Respiratoria

Inoltre, vi è una U.O. di Medicina Interna.

All'interno dell'IRCCS sono attivi i seguenti Laboratori e Servizi specialistici che offrono un fondamentale supporto alla clinica e alla ricerca svolgendo un'attività trasversale agli obiettivi delle differenti UU.OO.:

- 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 Diagnostica per Immagini
- Terapia Occupazionale
- Rieducazione Funzionale.

DATI DI ATTIVITA'

Nel corso dell'anno 2018 il numero totale dei dimessi in regime di ricovero ordinario è stato di 3.848, di cui 2.454 pazienti per la Riabilitazione e 1.394 pazienti per l'Unità Operativa di Medicina e il numero totale dei dimessi da Riabilitazione in DH è stato di 578. (Tabella 1).

Tab. n. 1 - Dimessi IRCCS San Raffaele Pisana - anno 2018

Discipline	N° Dimessi regione	N° Dimessi fuori regione	Totale	Degenza Media
Riabilitazione	2.268	186	2.454	33,56
Riabilitazione DH	561	17	578	24,23*
Medicina interna	1.335	59	1.394	7,71
	4.164	262	4.426	24,20

*: numero medio di accessi per paziente.

Ricoveri ordinari

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 (1130 pazienti sul totale dei dimessi pari al 46,05%, di cui il 93,89% residenti nella Regione Lazio) e all'Unità Operativa di Riabilitazione Cardiologica (700 pazienti sul totale dei dimessi pari al 28,52%, di cui il 94,29% 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 21,27% (522 di cui il 96,17% residenti nella Regione Lazio) e del 4,16% (102 di cui il 44,12% residenti nella Regione Lazio).

La degenza media dei pazienti dimessi dalle Unità Operative va da un minimo di 25,87 giorni per la Riabilitazione Respiratoria ad un massimo di 41,30 giorni per la Riabilitazione Neuromotoria, con una media totale di 33,56 giorni.

Tab. n. 2 - Ricoveri U.O. di Riabilitazione Anno 2018 – 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					
R. Pediatrica	57	45	102	3.535	31,47	38,69	34,66
R. Respiratoria	20	502	522	13.506	24,60	25,92	25,87
R. Neuromotoria	69	1.061	1.130	46.668	39,77	41,40	41,30
R. Cardiologica	40	660	700	18.659	26,93	26,64	26,66
Totale	186	2.268	2.454	82.368	32,83	33,62	33,56

Ricoveri in Day Hospital

Per quanto concerne l'attività di Day Hospital, sono stati effettuati 14.006 accessi, per un totale di 578 dimessi (Tabella n. 3). Dei pazienti ricoverati in regime di day hospital il 2,94% proviene da regioni diverse dalla Regione Lazio.

Tab. n. 3 – Attività di DH - anno 2018

	N° Dimessi regione	N° Dimessi fuori regione	Totale	Totale accessi	Numero medio accessi/pz
Riabilitazione DH	561	17	578	14.006	24,23

Esaminando i dati più nel dettaglio (Tabella n. 4), si evidenzia che, su un totale di 578 pazienti, 65 sono stati dimessi dal Day Hospital di Riabilitazione Pediatrica (di cui 2 provenienti da regioni diverse dalla Regione Lazio corrispondente allo 0,35% sul totale), 260 dal DH di Riabilitazione Neuromotoria (di cui 8 provenienti da regioni diverse dalla Regione Lazio corrispondente all'1,38% sul totale) e 253 dal DH di Riabilitazione Cardiologica (di cui 7 provenienti da regioni diverse dalla Regione Lazio corrispondente all'1,21% sul totale).

Il numero medio di accessi per paziente è di circa 24,23 giorni, andando da un minimo di 10,08 accessi per la Riabilitazione Pediatrica ad un massimo di 30,07 accessi per la Riabilitazione Neuromotoria.

Tab. n. 4 – Attività di DH per disciplina – anno 2018

Riabilitazione DH	DIMESSI		Totale dimessi	ACCESSI		Totale accessi	Accessi Medi fuori regione	Accessi Medi residenti	Accessi Medi totale
	Fuori regione	Residenti		Fuori regione	Residenti				
R. Pediatrica	2	63	65	51	604	655	25,50	9,50	10,08
R. Neuromotoria	8	252	260	229	7.590	7.819	28,63	30,12	30,07
R. Cardiologica	7	246	253	154	5.378	5.532	22,00	21,86	21,87
Totale	17	561	578	434	13572	14.006	25,53	24,19	24,23

Dall'analisi dei dati SIO relativi alle categorie diagnostiche principali (MDC) attribuite ai pazienti dimessi per l'anno 2018, sia di riabilitazione che di medicina, (Tabella n. 5bis), emerge che il 36,30% sono attribuibili alla MDC 5, pertanto, diagnosi legate a malattie e disturbi del Sistema Cardiocircolatorio; il 25,19% attribuibili alla MDC 1, ovvero diagnosi legate a Malattie e disturbi del Sistema Nervoso ed il 18,78% attribuibili alla MDC 4, ovvero diagnosi legate a Malattie dell'apparato Respiratorio.

Tab. 5 Classificazione dei dimessi per MDC (Riabilitazione).

Major Diagnostic Categories	ORD.	D.H.	TOT.	%
MDC 1 Malattie e disturbi del sistema nervoso	523	226	749	24,70
MDC 4 Malattie e disturbi dell' apparato respiratorio	365		365	12,04
MDC 5 Malattie e disturbi dell'app. cardiocircolatorio	857	253	1.110	36,61
MDC 8 Malattie e disturbi del sistema muscolo-scheletrico e del tessuto connettivo	700	65	765	25,23
MDC 19 Malattie e disturbi mentali	9	34	43	1,42
ALTRI	0			0
TOTALE	2.454	578	3.032	100,00

Tab. 5 bis Classificazione dei dimessi per MDC (Riabilitazione e Medicina).

Major Diagnostic Categories	ORD.	D.H.	TOT.	%
MDC 1 Malattie e disturbi del sistema nervoso	741	226	967	21,85
MDC 4 Malattie e disturbi dell' apparato respiratorio	925		925	20,90
MDC 5 Malattie e disturbi dell'app. cardiocircolatorio	1.278	253	1.531	34,59
MDC 8 Malattie e disturbi del sistema muscolo-scheletrico e del tessuto connettivo	707	65	772	17,44
MDC 19 Malattie e disturbi mentali	16	34	50	1,13
ALTRI	181		181	4,09
TOTALE	3.848	578	4.426	100,00

Indice di attrazione da altre Regioni

Nel 2018 l'IRCCS San Raffaele Pisana conferma la propria capacità attrattiva con il 5,92% dei pazienti provengono da Regioni diverse dalla Regione Lazio (262 su un totale di 4426 pazienti).L'attrazione di pazienti provenienti da fuori Regione avviene maggiormente nell'ambito del Centro per le Disabilità dello Sviluppo, dove rappresenta il 56% dei ricoveri in regime ordinario.

Attività Ambulatoriale

Nell'anno 2018 sono state erogate 65.327 prestazioni (SSR, comprese quelle di Laboratorio analisi) di carattere ambulatoriale presso l'IRCCS San Raffaele Pisana.

- Centro di Riabilitazione Pediatrica e Disabilità dello Sviluppo

Si riporta a seguire il dettaglio delle attività assistenziali del Centro di Riabilitazione: nNel 2018 hanno avuto accesso 1768 diversi pazienti che hanno usufruito di almeno una delle varie attività svolte, per un totale complessivo di 9.679 prestazioni ambulatoriali.

visite fisiatriche:	729	Area psicologica	2014
visite neurologiche	658	Area logopedica	1860
EEG	589	Area neuropsicologica	2331
visite cardiologiche pediatriche	320	Area neuropsicomotoria	508
ECG	290	Area FKT	191
Ecocardiogrammi	141	Gait analysis	48

ECCELLENZA ASSISTENZIALE

L'IRCCS San Raffaele Pisana adotta un approccio clinico patient centered, focalizzato sulla multimorbilità rivolto ad un paziente complesso che viene considerato nella sua globalità, compresi gli aspetti bio-psico-sociali e genetici.

Innovazione assistenziale

Riabilitazione Neuromotoria

Tecnologie robotiche applicate alla riabilitazione neuromotoria in regime di Day Hospital

Il Day Hospital si avvale dell'utilizzo di tecnologie all'avanguardia presenti nella Palestra Robotica inserendole nel progetto riabilitativo individuale.

Tra le apparecchiature tecnologiche complesse per terapia nelle persone con disabilità neurologica, vengono utilizzati:

- Robot per trattamento arto superiore (InMotion2 – MIT Boston)
- Robot per trattamento della mano (Amadeo – Tyromotion Graz)
- Robot per trattamento arto inferiore (rieducazione del cammino) (GEO – Reha Technology, Svizzera)
- Robot per trattamento arto inferiore (rieducazione del cammino overground) (Ekso – Ekso Bionics - US)
- Balance System per la valutazione oggettiva strumentale dell'equilibrio statico e dinamico
- Treadmil per il ricondizionamento fisico neuromotorio, cardiovascolare e respiratorio

Tra le apparecchiature tecnologiche complesse per terapia nelle persone con disabilità neurologica ed ortopedica, si utilizza:

- Realtà Virtuale Immersiva (Nirvana),
- Realtà Virtuale (VRRS EVO - Khymeia),

Per la valutazione funzionale, tra le apparecchiature tecnologiche complesse si utilizza il sistema BTS per l'analisi cinematica del cammino con sistema optoelettronico.

Nella tabella sottostante è indicata la percentuale dei pazienti trattati con ogni singola macchina.

Terapia Robotica	Pazienti trattati
Balance System	40%
Treadmil	30%
GEO	10%
MIT MANUS (InMotion2)	5%
Amadeo	5%
Ekso	5%
VRRS e NIRVANA	5%
TOTALE	100%



Centro Malattia di Parkinson e Disturbi del Movimento

Per i pazienti affetti da Malattia di Parkinson l'équipe di ricerca, seguendo le direttive dell'EPDA (European Parkinson's Disease Association), offre un approccio multidisciplinare alla patologia, che

si avvale della collaborazione di Neurologi (con particolare attenzione alla neuro-farmacologia), Geriatri, Fisioterapisti, Psicologi e Infermieri.

L'assistenza ambulatoriale è garantita con continuità e con riguardo al rapporto individuale tra medico e paziente (oltre 1400 visite annue). La possibilità di ricovero (sia in degenza che in regime di Day Hospital) per riabilitazione motoria dei pazienti con aggravamento acuto delle condizioni cliniche, offre una opportunità aggiuntiva di sostegno e miglioramento della qualità della vita di questi pazienti. I pazienti afferenti al Centro hanno inoltre l'opportunità di partecipare ai numerosi protocolli clinici-sperimentali, sia di natura farmacologica/interventistica che osservazionale, atti a validare l'efficacia di trattamenti innovativi non ancora in commercio e ad approfondire gli aspetti eziopatogenetici della MdP. Tutti i trial di sperimentazione clinica vengono condotti in accordo con le Good Clinical Practices

Unità per la Cura e la Ricerca su Cefalee e Dolore

Nel 2018 il Centro è stato il primo in Europa per numero di pazienti reclutati in trial clinici sugli anticorpi monoclonali anti-CGRP del quale è in corso per alcuni, ed in attesa per altri, la commercializzazione in Italia. Ciò ha comportato un considerevole incremento del numero e della complessità dei pazienti afferenti, in alcuni casi anche da altre nazioni europee. Gli anticorpi contro CGRP o il suo recettore sono farmaci altamente specifici per il loro target, iniettati sottocute una volta al mese per alcuni mesi consecutivi, hanno una lunga emivita e le loro caratteristiche farmacocinetiche li rendono ideali per il trattamento cronico dell'emicrania e per minimizzare gli eventi avversi.

Centro di Riabilitazione Pediatrica e delle Disabilità dello Sviluppo

L'attività del Centro è dedicata alla riabilitazione intensiva di bambini e giovani con Disabilità dello Sviluppo che necessitano di trattamenti intensivi, dopo interventi di chirurgia ortopedica funzionale (es. paralisi cerebrali infantili), dopo intervento di neurochirurgia, per riacutizzazione o peggioramenti della condizione clinica di base.

Nel corso del 2018, è stata attivata, in pazienti selezionati e con personale dedicato, l'attività di riabilitazione robotica dell'arto superiore con primi risultati clinicamente soddisfacenti e ottima partecipazione dei bambini.

Riabilitazione Pneumologica

Nel 2018 sono state realizzate e applicate alcune innovazioni assistenziali in Reparto e nella Palestra di Riabilitazione Pneumologica.

- L'ecografia toracica trova diverse applicazioni nella gestione del paziente pneumologico, sia nell'ambito delle emergenze/urgenze, sia nell'inquadramento clinico quotidiano, e si costituisce come un elemento integrativo dell'esame obiettivo al letto del paziente, con un rapporto rischio/beneficio totalmente favorevole: minimizza l'esposizione dei pazienti a radiazioni ionizzanti, può essere eseguito routinariamente con costi relativamente ridotti ed è praticabile direttamente nei reparti di degenza senza necessità di spostamento del paziente.

Nell'ambito dell'urgenza rende possibile una valutazione tempestiva di diverse patologie (esclusione di pneumotorace, identificazione di versamento pleurico e sua caratterizzazione, diagnosi di edema polmonare, identificazione di addensamenti, etc.), mentre nella valutazione quotidiana del paziente consente una accurata valutazione dell'evoluzione di problematiche note. In ambito interventistico l'ecografia può essere impiegata agevolmente per la gestione di drenaggi pleurici e per l'esecuzione di toracentesi eco guidate laddove l'evacuazione del cavo pleurico richiede una guida di imaging (ad es. versamento pleurico saccato, presenza di sinechie, lesioni pleuriche, etc.).

L'ecografo può essere altresì impiegato, pur in assenza di sonda specifica, per una valutazione sommaria della funzione cardiaca e della vena cava, soprattutto in urgenza (sempre con l'indicazione ad integrare successivamente con ecocardiografia specialistica), e per valutazioni internistiche orientative.

Inoltre, lo studio ecografico, soprattutto per quanto concerne lo studio del diaframma, sembrerebbe suggerire anche possibili implicazioni prognostiche, eventualmente da applicare come strumenti valutativi aggiuntivi per il paziente sottoposto a ventilazione meccanica non invasiva ed in riabilitazione respiratoria.

Lo strumento è arrivato nella seconda parte del 2018 e sono stati eseguiti gli esami su 20 pazienti.

- Utilizzo del Tpep Advanced I/E in Ambito Riabilitativo Respiratorio

Il TPEP ADVANCED I/E è un apparecchio per la mobilizzazione delle secrezioni tracheobronchiali. La possibilità di usare singolarmente o in associazione diverse tecniche consente di personalizzare il trattamento in base alle necessità e alle condizioni del paziente migliorandone la compliance allo stesso. Il dispositivo può essere utilizzato come:

- TPEP (Temporary Positive Expiratory Pressure) e cioè durante la fase espiratoria il sistema eroga una pressione di 1 cmH₂O che si interrompe poco prima della fine dell'espirazione
- PEP (Positive Expiratory Pressure)
- PEP VIBRATA
- RESISTENZA INSPIRATORIA
- AEROSOL TERAPIA

La possibilità di offrire più opzioni terapeutiche in uno stesso apparecchio rende tale dispositivo un alleato prezioso nella gestione del paziente respiratorio complesso.

Nel 2018 sono stati trattati 50 pazienti con diminuzione della componente ipersecretiva e miglioramento degli scambi gassosi. L'IRCCS San Raffaele Pisana è il centro di riferimento nella regione Lazio per la gestione di questa nuova metodica riabilitativa.

- Ossigenoterapia ad Alti Flussi in Ambito Riabilitativo Respiratorio

L'ossigenoterapia ad alti flussi con cannule nasali è un sistema a circuito aperto di erogazione dell'ossigeno umidificato e riscaldato, nel quale viene impostata una FiO₂ da somministrare e un flusso di gas (45-50 l/min).

Questo consente la riduzione dello spazio morto anatomico grazie all'impiego di nasocannule, l'effettiva somministrazione di FiO₂ impostata, la generazione di una pressione positiva, ovvero una PEEP variabile dai 3 ai 5 cm H₂O considerata sufficiente a reclutare alveoli collassati e a limitare il rischio di atelettasie.

La fluidificazione delle secrezioni e il miglioramento della clearance muco-cigliare grazie alla somministrazione di ossigeno riscaldato e umidificato.

Tali caratteristiche permettono di prevenire la secchezza delle prime vie aeree, rendendo la metodica più confortevole per il paziente assicurandone l'aderenza alla terapia.

In definitiva, gli effetti dell'HFNC permettono di ridurre il lavoro respiratorio e modificare la dinamica respiratoria del paziente, ovvero: riduzione della frequenza respiratoria e dei segni di fatica.

Le indicazioni più appropriate per l'applicazione di tale metodica sono i casi di ipossiemia con distress respiratorio e lieve ipercapnia (polmoniti, riacutizzazioni di BCPO, bronchioliti).

L'IRCCS San Raffaele Pisana rappresenta uno dei primi utilizzatori di questa nuova metodica su tutto il territorio nazionale. Nel 2018 sono stati trattati 10 pazienti che hanno avuto un netto miglioramento dell'insufficienza respiratoria scompensata.

Direttore Scientifico**Massimo Fini**

Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 0652253406 Fax +39 06 52255668
Email: massimo.fini@sanraffaele.it

Direttore Sanitario**Ugo Luigi Aparo**

Via della Pisana, 235
Tel. +39 06 52252337
Email: direzione.sanitaria@sanraffaele.it

Direttore Operativo**Maria Fattori**

Via della Pisana, 235
Tel. +39 06 52252380
Email: maria.fattori@sanraffaele.it

**Presidente Comitato
Tecnico Scientifico****Enrico Garaci**

Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 0652252132 Fax +39 06 52252079
Email: enrico.garaci@sanraffaele.it

**Segreteria Scientifica
Grant office****Astrid van Rijn**

Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52253405 Fax +39 06 52255668
Email: astrid.vanrijn@sanraffaele.it

**Segreteria Direttore
Scientifico/Statistica****Stefania Proietti**

Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52253406 Fax +39 06 52255668
Email: segreteriascientifica@sanraffaele.it

**Servizi Amministrativi
Ricerca****Guido Poli/Elena Biagini**

Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52252471
Email: guido.poli@sanraffaele.it
elena.biagini@sanraffaele.it

Segreteria Comitato Etico**Lucia Gatta**

Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 66130406 Fax 06/66130407
Email: lucia.gatta@sanraffaele.it

Biblioteca**Lamonaca Palma**

Via di Val Cannuta, 247
Tel/Fax +39 06 52252466
Email: 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