

A N N U A L R E P O R T 2 0 1 1



IRCCS San Raffaele
Pisana

ANNUAL REPORT
2011

I progetti di ricerca corrente contenuti in questo volume si sono svolti grazie al finanziamento del Ministero della Salute.

Redazione: Daniela Pernice

La responsabilità dei dati tecnico-scientifici è dei singoli autori.

INDICE

Messaggio del Presidente

Report del Direttore Scientifico

Attività Scientifica

Comitato Scientifico

Pubblicazioni

Linee di Ricerca

- Linea 1. Riabilitazione motoria e sensoriale
- Linea 2. Meccanismi di recupero funzionale della patologia cronica disabilitante: analisi dei determinanti di outcome
- Linea 3. Sistemi innovativi di prevenzione/controllo e promozione di salute
- Linea 4. Le disabilità dello sviluppo e neuroriabilitazione pediatrica
- Linea 5. Modelli organizzativi e gestionali delle disabilità in riabilitazione

Ricerca Finalizzata

Altra tipologia di ricerca

Clinical Trial Center

Convenzioni

Collaborazioni istituzionali nazionali ed internazionali

Servizi Bibliotecari

Scuole Universitarie

Attività di formazione

Corsi ECM

Attività assistenziale

Indirizzi utili



IRCCS San Raffaele
Pisana



MESSAGGIO
DEL PRESIDENTE

Il 2011 è stato, come gli anni precedenti, un anno di forte slancio verso traguardi sempre più impegnativi, sia per ciò che concerne la produzione scientifica, che mostra un costante e significativo incremento, sia per l'impegno della San Raffaele S.p.A. a sostegno delle attività scientifiche e assistenziali.

Il San Raffaele Pisana, che dal 2005 ha ottenuto il riconoscimento come Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico divenendo IRCCS, è impegnato a coniugare in una prospettiva unica l'eccellenza nell'assistenza con l'impegno nella ricerca per la promozione della salute dei pazienti.

Integrare l'assistenza, la ricerca e la formazione in un continuum che veda convergere l'impegno clinico quotidiano e la ricerca scientifica costituisce il compito di un Istituto che fa della ricerca traslazionale - i cui risultati siano cioè direttamente applicabili alla pratica clinica per una rapida fruizione da parte del malato - il suo obiettivo principale.

Questo report costituisce una testimonianza del raggiungimento degli obiettivi scientifici prefissati, la conquista di un importante traguardo; l'impegno dell'attività di ricerca nell'operare trasversalmente ai diversi ambiti delle attività cliniche a conferma dell'integrazione tra componente clinica e componente scientifica sia in termini di risorse umane, che in termini di attività. Un impegno che riflette la capacità di coniugare in un'unica prospettiva l'eccellenza nell'assistenza con l'impegno nella ricerca per la promozione della salute dei nostri pazienti. La tendenza dell'Istituto a potenziare le attività di laboratorio a supporto dell'attività clinica, ad attivare momenti di confronto tra l'attività clinica e quella scientifica è testimoniata anche dalla realizzazione del nuovo Centro Ricerche che ottimizza le attività di ricerca attualmente esistenti, accoglie gruppi di ricerca impegnati anche in nuove aree strategiche, quali ad esempio, la medicina rigenerativa e la robotica.

Le persone coinvolte nelle attività di ricerca sono attualmente più di cento, tra ricercatori medici, biologi, psicologi, statistici, epidemiologici, data manager e ingegneri, numero destinato ad aumentare significativamente con l'implementazione del Centro e con l'incremento dei progetti e delle collaborazioni.

L'apertura del nostro Istituto alla dimensione nazionale ed internazionale, con l'attrazione di ricercatori provenienti dall'estero, è frutto della consapevolezza che la produzione scientifica da sola non è sufficiente a garantire il raggiungimento degli obiettivi traslazionali, ma necessita di una connessione in rete con altri enti regionali, nazionali ed internazionali per condividere le conoscenze cliniche e scientifiche con il fine ultimo di offrire ai nostri pazienti un servizio di qualità.

E proprio per ottemperare a tale missione, verranno sempre più approfonditi,

con particolare attenzione, gli studi che prendono in considerazione non solo un'unica patologia, ma le condizioni cliniche multiple dei nostri pazienti, con un approccio alla medicina della complessità che si propone di superare i limiti insiti nel concetto di malattia ponendo al centro della cura la persona malata, al fine di migliorarne lo stato di salute e promuoverne la presa in carico nella sua globalità.

È questa una visione moderna e multidisciplinare che vuole proporre un modello innovativo di eccellenza utilizzando strettamente lo scambio di nozioni tra ricercatori e clinici.

Nell'insieme si tratta quindi di un disegno ambizioso e di un impegno costante che vede coinvolti tutti i professionisti (clinici e ricercatori) del nostro Istituto con un investimento di oltre 20 milioni di Euro da parte della proprietà, San Raffaele S.p.A.- Gruppo Tosinvest, e sicuramente in controtendenza rispetto alle difficoltà di altri Centri che contano quasi esclusivamente su finanziamenti pubblici.

Crederne nel futuro di eccellenza in sanità è sempre stato il *motore di ricerca* della nostra realtà umana e professionale.

Dottor Carlo Trivelli
Presidente IRCCS San Raffaele Pisana



IRCCS San Raffaele
Pisana

REPORT
DEL DIRETTORE SCIENTIFICO

Nel corso del 2011 l'attività di ricerca dell'IRCCS San Raffaele Pisana è proseguita assumendo una connotazione quantitativamente e qualitativamente rilevante, a testimonianza di un impegno scientifico sempre maggiore sia a livello di ricerca di base, che di ricerca clinica e traslazionale di una grande capacità di acquisire finanziamenti a livello regionale, nazionale e internazionale.

La tendenza dell'Istituto a potenziare l'attività di laboratorio a supporto dell'attività clinica, ad attivare momenti di confronto relativi all'attività clinica e scientifica, a mantenere ed espandere i rapporti internazionali è la prova dell'impegno intrapreso nel consolidare e migliorare l'eccellenza della produzione scientifica autoctone dei gruppi di ricercatori e le competitività in ambito nazionale ed internazionale.

L'impegno verso un costante miglioramento della produttività scientifica è testimoniato anche dalla realizzazione dei nuovi laboratori di ricerca.

La nuova sfida risiede nel consolidamento e perfezionamento di linee di ricerca più promettenti, integrando sempre più ricerca e diagnostica precoce (nella direzione della prevenzione), mettendo a punto nuove tecniche di analisi per avere la possibilità di identificare e studiare nuove patologie e nuovi fenomeni, volgendo sempre più verso la medicina traslazionale, coniugando l'attività di diagnostica di laboratorio e clinica e quella sperimentale.

L'attenzione rimane sempre rivolta alle pubblicazioni e ai protocolli scientifici che costituiscono i prodotti della ricerca che hanno maggior impatto sociale. Per ciò che concerne la componente assistenziale, si lavora costantemente alla rete di collaborazioni e di collegamento di piattaforme per fornire nuovi servizi.

Ciò comporta il potenziamento delle professionalità in merito alla espansione dei settori biomedico, biotecnologico e industriale. E' in quest'ottica che si intende rafforzare ulteriormente le collaborazioni nazionali ed internazionali preesistenti e crearne delle nuove; la produzione scientifica autoctona da sola non è sufficiente a garantire il raggiungimento di obiettivi traslazionali cruciali. Il collegamento in rete con altre istituzioni regionali, nazionali ed internazionali consente sia di comunicare più facilmente le proprie conoscenze clinico-scientifiche, sia di ottimizzare le risorse umane ed economiche, sia di offrire ai pazienti un servizio che consenta di accedere più facilmente alla diagnosi e alle cure di cui hanno bisogno.

L'attività di messa in rete consiste anche nella integrazione tra varie strutture competenti su patologie definite, o reti specifiche sulla base delle metodologie e tecniche sia per la ricerca di base che per la diagnostica per immagini.

La promozione delle conoscenze scientifiche acquisite ha comportato un maggiore coinvolgimento in progetti cooperativi europei ed extraeuropei e l'aumento nel volume della produzione scientifica: il numero delle pubblicazioni è aumentato così come l'impact factor globale e normalizzato.

I prodotti di ricerca portano, attraverso il processo traslazionale, a un miglioramento nella diagnosi e nelle cure e provengono da una ricerca di qualità nella espansione biotecnologica.

L'applicazione di sistemi robotici per la terapia motoria assistita rappresenta una delle principali innovazioni nello scenario recente della medicina fisica e riabilitativa verso la quale il nostro Istituto ha rivolto l'attenzione. La disponibilità di macchine robotiche per la terapia motoria può consentire anche a soggetti con abilità residue minime di essere assistiti per iniziare e completare un compito motorio.

L'Annual Report 2011 mette a disposizione l'attività scientifica accessibile sia a coloro che cercano informazioni generali sulle linee di ricerca istituzionali concordate con il Ministero della Salute, sia a coloro che ricercano informazioni più dettagliate su argomenti specifici e sugli interessi di ricerca istituzionali più generali.

Quanto viene descritto in questo report testimonia l'impegno che da anni viene profuso dai nostri clinici e ricercatori, che ringrazio sentitamente per la professionalità che dimostrano di possedere e per l'entusiasmo che mostrano nel perseguire le loro attività con perseveranza e competenza.

Professor Massimo Fini
Direttore Scientifico



IRCCS San Raffaele
Pisana

ATTIVITÀ SCIENTIFICA

COMITATO SCIENTIFICO

Nel corso del 2011, su delibera del Consiglio di Amministrazione dell'IRCCS San Raffaele Pisana, si è insediato un nuovo Comitato Scientifico dell'IRCCS San Raffaele Pisana con funzioni e competenze ulteriormente caratterizzate. In particolare:

- 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 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.

Il Comitato Scientifico ha visionato i progetti presentati al Bando di Ricerca Finalizzata del Ministero della Salute e lavora ad una revisione critica delle Linee di Ricerca Corrente dell'IRCCS San Raffaele Pisana.

COMITATO SCIENTIFICO IRCCS SAN RAFFAELE

Presidente: Giuseppe Rotilio

Lucio Annunziato

Massimo Fini

Renato Lauro

Giovanni Muto

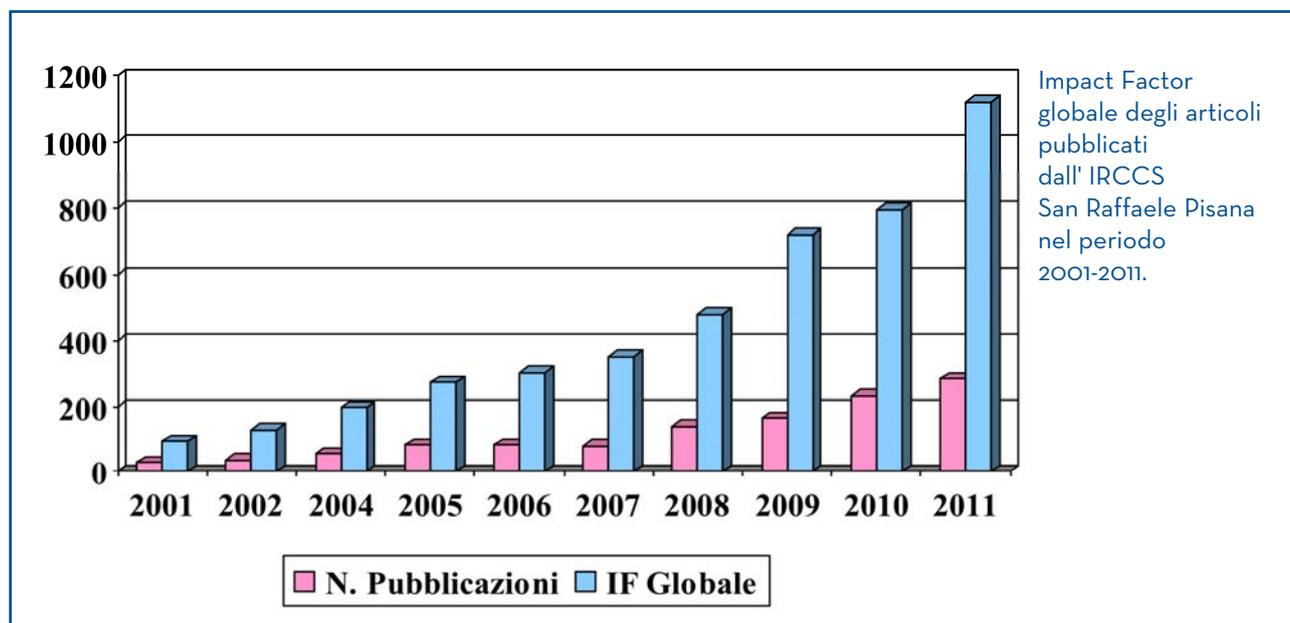
Giuseppe Nicoletti

Matteo Antonio Russo

Nel 2011 l'attività scientifica dell'IRCCS San Raffaele è documentata da 293 pubblicazioni, che comprendono:

- 282 articoli originali su riviste recensite dal JCR
- 4 capitoli di libri
- 7 articoli originali su riviste non recensite dal JCR

L'impact factor globale per gli articoli pubblicati nel 2011 è 1.121 a conferma del trend positivo osservato dal 2001.



PUBBLICAZIONI su riviste impattate

LINEA 1- RIABILITAZIONE MOTORIA E SENSORIALE

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Formica V, Del Monte G, Giacchetti I, Grenga I, Giaquinto S, Fini M, Roselli M.

Rehabilitation in Neuro-Oncology: A meta-analysis of published data and a mono-institutional experience.

Integr Cancer Ther. 2011; Jun 10(2):119-126

Boussier MG, Amarenco P, Chamorro A, Fisher M, Ford I, Fox KM, Hennerici MG, Mattle HP, Rothwell PM, de Cordoue A, Fratacci MD; PERFORM Study Investigators.

Terutroban versus aspirin in patients with cerebral ischaemic events (PERFORM): a randomised, double-blind, parallel-group trial.

Lancet. 2011; Jun 11;377(9782):2013-22

Giaquinto S, Bruti L, Dall'armi V, Palma E, Spiridigliozzi C.

Religious and spiritual beliefs in outpatients suffering from Parkinson Disease.

Int J Geriatr Psychiatry. 2011; Sep 26(9):916-22

Bovolenta F, Sale P, Dall'armi V, Clerici P, Franceschini M.

Robot-aided therapy for upper limbs in patients with stroke-related lesions. Brief report of a clinical experience.

J Neuroeng Rehabil. 2011 Apr 9;8:18

Franceschini M, Cerrel Bazo H, Lauretani F, Agosti M, Pagliacci MC.

Age influences rehabilitative outcomes in patients with spinal cord injury (SCI).

Aging Clin Exp Research. 2011 Jun;23(3):202-208

Franceschini M, Pagliacci MC, Russo T, Felzani G, Aito S, Marini C.

Occurrence and predictors of employment after traumatic spinal cord injury: the GISEM Study.

Spinal Cord. 2011 Nov 29 [Epub ahead of print]

La Porta F, Franceschini M, Caselli S, Cavallini P,

Susassi S, Tennant A.

Unified balance scale: an activity-based, bed to community, and aetiology-independent measure of balanced calibrated with Rasch analysis.

J Rehabil Med. 2011;43:435-444

La Porta F, Franceschini M, Caselli S, Susassi S, Cavallini P, Tennant A.

Unified balance scale: classic psychometric and clinical properties.

J Rehabil Med. 2011;43:445-453

Sale P, Zampolini M, Juocevicius A, Lains JM, Giustini A, Negrini S, Franceschini M.

The role of the European Psychiatrist in traumatic brain injury.

Invited commentary Am J Phys Med Rehabil. 2011 Jan;90(1):83-86

Valeriani M, Pazzaglia C, Ferraro D, Viridis D, Rotellini S, Le Pera D, Testani E, Minciotti I, Balestri M, Vigevano F, Vollono C.

Evidence of different spinal pathways for the warmth evoked potentials.

Clin Neurophysiol. 2011 Dec;122(12):2469-2474

Zampolini M, Franceschini M.

Rehabilitation of traumatic brain injury in Italy.

Am J Phys Med Rehabil. 2011 Jan;90(1):79-82

Zollo L, Rossini L, Bravi M, Magrone G, Sterzi S, Guglielmelli E.

Quantitative evaluation of upper-limb motor control in robot-aided rehabilitation.

Med Biol Eng Comput. 2011 Oct;49(10):1131-1144

AREA DI RICERCA PARKINSON E DISTURBI DEL MOVIMENTO

Antonini A, Martinez-Martin P, Chaudhuri RK, Merello M, Hauser R, Katzenschlager R, Odin P, Stacy M, Stocchi F, Poewe W, Rascol O, Sampaio C, Schrag A, Stebbins GT, Goetz CG.

Wearing-off scales in Parkinson's disease: Critique and recommendations.

Mov Disord. 2011 Oct;26(12):2169-2175

Bloem BR, Stocchi F.

Move for Change Part I: a European survey evaluating the impact of the EPDA Charter for People with Parkinson's disease.

Eur J Neurol. 2011 Oct 4 [Epub ahead of print]

Goetz CG, Stebbins GT, Theeuwes A, Stocchi F, Ferreira JJ, van de Witte S, Bronzova J.

Temporal stability of the Unified Dyskinesia Rating Scale.

Mov Disord. 2011 Dec;26(14):2556-2559

Marconi R, Antonini A, Barone P, Colosimo C, Avarello TP, Bottacchi E, Cannas A, Ceravolo MG, Ceravolo R, Cicarelli G, Gaglio RM, Giglia L, Iemolo F, Manfredi M, Meco G, Nicoletti A, Pederzoli M, Petrone A, Pisani A, Pontieri FE, Quatrone R, Ramat S, Scala R, Volpe G, Zappulla S, Bentivoglio AR, Stocchi F, Trianni G, Del Dotto P, De Gaspari D, Grasso L, Morgante F, Santangelo G, Fabbrini G, Morgante L.

Frontal assessment battery scores and non-motor symptoms in parkinsonian disorders.

Neurol Sci. 2011 Nov 3 [Epub ahead of print]

Matrisciano F, Busceti CL, Bucci D, Orlando R, Caruso A, Molinaro G, Cappuccio I, Rizzo B, Gradini R, Motolese M, Caraci F, Copani A, Scaccianoce S, Melchiorri D, Bruno V, Battaglia G, Nicoletti F.

Induction of the Wnt antagonist Dickkopf-1 is involved in stress-induced hippocampal damage.

PLoS One. 2011 Jan 27;6(1):e16447

Pellecchia MT, Antonini A, Bonuccelli U, Fabbrini G, Ferini Strambi L, Stocchi F, Battaglia A, Barone P.

Observational study of sleep-related disorders in Italian patients with Parkinson's disease: usefulness of the Italian version of Parkinson's disease sleep scale.

Neurol Sci. 2011 Nov 3 [Epub ahead of print]

Rascol O, Fitzer-Attas CJ, Hauser R, Jankovic J, Lang A, Langston JW, Melamed E, Poewe W, Stocchi F, Tolosa E, Eyal E, Weiss YM, Olanow CW.

A double-blind, delayed-start trial of rasagiline in Parkinson's disease (the ADAGIO study): prespecified and post-hoc analyses of the need for additional therapies, changes in UPDRS scores, and non-motor outcomes.

Lancet Neurol. 2011;10(5):415-423

Stocchi F, Giorgi L, Hunter B, Schapira AH.

PREPARED: Comparison of prolonged and immediate release ropinirole in advanced Parkinson's disease.

Mov Disord. 2011; Jun;26(7):1259-1265

Stocchi F.

Continuous dopaminergic stimulation and novel formulations of dopamine agonists.

J Neurol. 2011; May 258(Suppl 2):S316-S322

Stocchi F, Borgohain R, Onofri M, Schapira AH, Bhatt M, Lucini V, Giuliani R, Anand R; for the Study 015 Investigators.

A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of safinamide as add-on therapy in early Parkinson's disease patients.

Mov Disord. 2011; Sep 12. [Epub ahead of print]

Stocchi F, Rabey JM.

Effect of rasagiline as adjunct therapy to levodopa on severity of OFF in Parkinson's disease.

Eur J Neurol. 2011; Dec 18(12):1373-1378

AREA DI RICERCA CEFALEA E DOLORE NEUROPATICO

D'Onofrio F, Cologno D, Petretta V, Finocchi C, Autunno M, Marsala G, Usai S, Grazi L, Omboni S, Fofi L, Barbanti P, Bussone G.

Restless legs syndrome is not associated with migraine with aura: a clinical study.

Neurol Sci. 2011 May;32 Suppl 1:S153-S156

Diener HC, Barbanti P, Dahlöf C, Reuter U, Habeck J, Podhorna J.

BI 44370 TA, an oral CGRP antagonist for the treatment of acute migraine attacks: Results from a phase II study.

Cephalalgia. 2011 Apr;31(5):573-584

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

Migraine prophylaxis: what is new and what we need?

Neurol Sci (2011); 32 (Suppl 1):S111-S115

Di Bonaventura C, Operto FF, Busolin G, Egeo G,

D'Aniello A, Vitello L, Smaniotta G, Furlan S, Diani E, Michelucci R, Giallonardo AT, Coppola G, Nobile C.
Low penetrance and effect on protein secretion of LGI1 mutations causing autosomal dominant lateral temporal epilepsy.
Epilepsia. 2011 Jul;52(7):1258-1264

Paciaroni M, Balucani C, Agnelli G, Caso V, Silvestrelli G, Grotta JC, Demchuk AM, Sohn SI, Orlandi G, Leys D, Pezzini A, Alexandrov AV, Silvestrini M, Fofi L, Barlinn K, Inzitari D, Ferrarese C, Tassi R, Tsigoulis G, Consoli D, Baldi A, Bovi P, Luda E, Galletti G, Invernizzi P, Delodovici ML, Corea F, Del Sette M, Monaco S, Marcheselli S, Alberti A, Venti M, Acciarresi M, D'Amore C, Macellari F, Lanari A, Previdi P, Gonzales NR, Pandurengan RK, Vahidy FS, Sline M, Bal SS, Chiti A, Gialdini G, Dumont F, Cordonnier C, Debette S, Padovani A, Cerqua R, Bodechtel U, Kepplinger J, Nesi M, Nencini P, Beretta S, Trentini C, Martini G, Piperidou C, Heliopoulos I, D'Anna S, Cappellari M, Donati E, Bono G, Traverso E, Toni D.

Systemic Thrombolysis in Patients With Acute Ischemic Stroke and Internal Carotid ARtery Occlusion: The ICARO Study.

Stroke. 2011; Oct 27 [Epub ahead of print]

d'Onofrio F, Cologno D, Petretta V, Finocchi C, Autunno M, Marsala G, Usai S, Grazi L, Omboni S, Fofi L, Barbanti P, Bussone G.

Restless legs syndrome is not associated with migraine with aura: a clinical study.

Neurol Sci. 2011 May;32 Suppl 1:S153-S156

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

Hypertension as a risk factor for migraine chronicification.

Neurol Sci. 2010 Jun;31 Suppl 1:S41-S43. Review

LABORATORIO DI BIOCHIMICA DELL'INVECCHIAMENTO

Aquilano K, Baldelli S, Cardaci S, Rotilio G, Ciriolo MR.

Nitric oxide is the primary mediator of cytotoxicity induced by GSH depletion in neuronal cells.

J Cell Sci 2011, 124: 1043-1054

Aquilano K, Baldelli S, Ciriolo MR.

Glutathione is a crucial guardian of protein integrity in the brain upon nitric oxide imbalance.

Commun Integr Biol. 2011 Jul;4(4):477-479

Baldelli S, Aquilano K, Rotilio G, Ciriolo MR.

Neuronal nitric oxide synthase interacts with Sp1 through the PDZ domain inhibiting Sp1-mediated copper-zinc superoxide dismutase expression.

Int J Biochem Cell Biol. 2011 Jan;43(1):163-169

Filomeni G, Cardaci S, Da Costa Ferreira AM, Rotilio G, Ciriolo MR.

Metabolic oxidative stress elicited by the copper(II) complex [Cu(isaepy)2] triggers apoptosis in SH-SY5Y cells through the induction of the AMP-activated protein kinase/p38MAPK/p53 signalling axis.

Biochem J. 2011, 437: 443-453

Venè R, Castellani P, Delfino L, Lucibello M, Ciriolo MR, Rubartelli A.

The Cystine/Cysteine Cycle and GSH Are Independent and Crucial Antioxidant Systems in Malignant Melanoma Cells and Represent Druggable Targets.

Antiox Redox Signal. 2011 Nov 1;15(9):2439-2453

Cardaci S, Filomeni G, Ciriolo MR.

Redox implications of AMPK-mediated signal transduction beyond energetic clues.

J Cell Sci in press

Lewis MG, DaFonseca S, Chomont N, Palamara AT, Tardugno M, Mai A, Collins M, Wagner WL, Yalley-Ogunro J, Greenhouse J, Chirullo B, Norelli S, Garaci E, Savarino A.

Gold drug auranofin restricts the viral reservoir in the monkey AIDS model and induces containment of viral load following ART suspension.

AIDS 2011; 25(11):1347-1356

Matarrese P, Nencioni L, Checconi P, Ciarlo L, Gambardella L, Ascione B, Sgarbanti R, Garaci E, Malorni W, Palamara AT.

Pepstatin A alters host cell autophagic machinery and leads to the decrease of influenza A virus production.

J Cell Physiol 2011; 226(12):3368-3377

Nencioni L, Sgarbanti R, Amatore D, Checconi P, Celestino I, Limongi D, Anticoli S, Palamara AT, Garaci E.

Intracellular Redox Signaling as Therapeutic Target for Novel Antiviral Strategy.

Curr Pharm Des 2011; 17(35):3898-3904

Passariello C, Nencioni L, Sgarbanti R, Ranieri D, Torrisi MR, Ripa S, Garaci E, Palamara AT. **Viral hemagglutinin is involved in promoting the internalisation of Staphylococcus aureus into human pneumocytes during influenza A H1N1 virus infection.**

Int J Med Microbiol 2011; 301(2):97-104

Piacentini R, Civitelli L, Ripoli C, Marcocci ME, De Chiara G, Garaci E, Azzena GB, Palamara AT, Grassi C.

HSV-1 promotes Ca(2+)-mediated APP phosphorylation and Abeta accumulation in rat cortical neurons.

Neurobiol Aging 2011; 32(12):2323.e13-26

Sgarbanti R, Nencioni L, Amatore D, Coluccio P, Fraternali A, Sale P, Mammola CL, Carpino G, Gaudio E, Magnani M, Ciriolo MR, Garaci E, Palamara AT.

Redox-regulation of the influenza hemagglutinin maturation process: a new cell-mediated strategy for anti-influenza therapy.

Antioxid Redox Signal 2011; 15(3):593-606

Vigilanza P, Aquilano K, Baldelli S, Rotilio G, Ciriolo MR.

Modulation of intracellular glutathione affects adipogenesis in 3T3-L1 cells.

J Cell Physiol 2011; 226: 2016-2024

Aquilano K, Baldelli S, Pagliei B, Ciriolo MR.

Extracellular localization of SIRT1 and PGC-1alpha: an insight into possible roles in diseases associated with mitochondrial dysfunction.

Curr Mol Med in press

Fraternali A, Paoletti MF, Dominici S, Buondelmonte C, Caputo A, Castaldello A, Tripiciano A, Cafaro A, Palamara AT, Sgarbanti R, Garaci E, Ensoli B, Magnani M.

Modulation of Th1/Th2 immune responses to HIV-1 Tat by new pro-GSH molecules.

Vaccine 2011; 29(40):6823-6829

LABORATORIO DI ELETTROFISIOLOGIA

Conti L, Palma E, Roseti C, Lauro C, Cipriani R, de Groot M, Aronica E, Limatola C.

Anomalous levels of Cl (-) transporters cause a decrease of GABAergic inhibition in human peritumoral epileptic cortex.

Epilepsia. 2011 Sep;52(9):1635-1644

Palma E, Inghilleri M, Conti L, Deflorio C, Frasca V, Manteca A, Pichiorri F, Roseti C, Torchia G, Limatola C, Grassi F, Miledi R.

Physiological characterization of human muscle acetylcholine receptors from ALS patients.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2011; Dec 13;108(50):20184-20188

Laboratorio di Neurobiologia Molecolare e Cellulare

Cardinale A, Racaniello M, Saladini S, De Chiara G, Mollinari C, de Stefano MC, Pocchiari M, Garaci E, Merlo D.

Sublethal doses of beta-amyloid peptide abrogate DNA-dependent protein kinase activity.

J Biol Chem. 2011 Dec 2. [Epub ahead of print]

D'Arcangelo G, Grossi D, De Chiara G, de Stefano MC, Cortese G, Citro G, Rufini S, Tancredi V, Merlo D, Frank C.

Glutamatergic neurotransmission in a mouse model of Niemann-Pick Type C Disease.

Brain Res. 2011 Jun 17;1396:11-19

LABORATORIO DI NEUROFISIOLOGIA

Babiloni C, Marzano N, Lizio R, Valenzano A, Triggiani AI, Petito A, Bellomo A, Lecce B, Mundi C, Soricelli A, Limatola C, Cibelli G, Del Percio C.

Resting state cortical electroencephalographic rhythms in subjects with normal and abnormal body weight.

Neuroimage. 2011 Sep 15;58(2):698-707

Babiloni C, Lizio R, Carducci F, Vecchio F, Redolfi A, Marino S, Tedeschi G, Montella P, Guizzaro A, Esposito F, Bozzao A, Giubilei F, Orzi F, Quattrocchi C, Soricelli A, Salvatore E, Baglieri A, Bramanti P, Boccardi M, Ferri R, Cosentino F, Mundi C, Grilli G, Pugliese S, Gerardi G, Parisi L, Vernieri F, Rossini PM, and Frisoni GB.

Resting state cortical electroencephalographic rhythms and white matter vascular lesions in subjects with Alzheimer's disease: An Italian multi-centre study.

J Alzheimers Dis. 2011 Jan 1;26(2):331-346

Babiloni C, Del Percio C, Triggiani IA, Marzano N, Valenzano A, De Rosas M, Petito A, Bellomo A, Lecce B, Mundi C, Limatola C, Cibelli G.

Frontal-parietal responses to "oddball" stimuli depicting "fattened" faces are increased in successful dieters: An electroencephalographic study.

Int J Psychophysiol. 2011 Nov;82(2):153-66

Babiloni C, Frisoni GB, Vecchio F, Lizio R, Pievani M, Geroldi C, Fracassi, Vernieri F, Rodriguez G, Nobili F, Ferri R, and Rossini PM.

Stability of clinical condition in mild cognitive impairment is related to cortical sources of alpha rhythms: An electroencephalographic study.

Hum Brain Mapp. 2011 Nov;32(11):1916-1931

Lizio R, Vecchio F, Frisoni GB, Ferri R, Rodriguez G, Babiloni C.

Electroencephalographic rhythms in Alzheimer's disease.

Int J Alzheimers Dis. 2011;2011:927573

Babiloni C, Vecchio F, Lizio R, Ferri R, Rodriguez G, Marzano N, Frisoni GB, Rossini PM.

Resting state cortical rhythms in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: electroencephalographic evidence.

J Alzheimers Dis. 2011;26 Suppl 3:201-214

Vecchio F, Babiloni C, Lizio R, De Vico Fallani F, Blinowska K, Frisoni GB, and Rossini PM.

Resting State Cortical EEG Rhythms in Alzheimer's Disease: towards EEG markers for clinical applications.

Clinical Neurophysiology Review in press

Babiloni C, Del Percio C, Triggiani AI, Marzano N, Valenzano A, Petito A, Bellomo A, Soricelli A, Lecce B, Mundi C, Limatola C, Cibelli G.

Attention cortical responses to enlarged faces are reduced in underweight subjects: An electroencephalographic study.

Clin Neurophysiol. 2011 Jul;122(7):1348-1359

Babiloni C, Vecchio F, Infarinato F, Buffo P, Marzano N, Spada D, Rossi S, Bruni I, Rossini PM, Perani D.

Simultaneous recording of electroencephalographic data in musicians playing in ensemble.

Cortex. 2011 Oct;47(9):1082-1090

Babiloni C, Del Percio C, Triggiani IA, Marzano N, Valenzano A, De Rosas M, Petito A, Bellomo A, Lecce B, Mundi C, Limatola C, Cibelli G.

Frontal-parietal responses to "oddball" stimuli depicting "fattened" faces are increased in successful dieters: An electroencephalographic study.

Int J Psychophysiol. 2011 Nov;82(2):153-166

Babiloni C, Infarinato F, Marzano N, Iacoboni M, Dassù F, Soricelli A, Rossini PM, Limatola C, Del Percio C.

Intra-hemispheric functional coupling of alpha rhythms is related to golfer's performance: A coherence EEG study.

Int J Psychophysiol. 2011 Dec;82(3):260-268

Del Percio C, Iacoboni M, Lizio R, Marzano N, Infarinato F, Vecchio F, Bertollo M, Robazza C, Comani S, Limatola C, Babiloni C.

Functional coupling of parietal alpha rhythms is enhanced in athletes before visuomotor performance: a coherence electroencephalographic study.

Neuroscience. 2011 Feb 23;175:198-211

Del Percio C, Infarinato F, Marzano N, Iacoboni M, Aschieri P, Lizio R, Soricelli A, Limatola C, Rossini PM, Babiloni C.

Reactivity of alpha rhythms to eyes opening is lower in athletes than non-athletes: A high-resolution EEG study.

Int J Psychophysiol. 2011 Dec;82(3):240-247

LINEA 2 - MECCANISMI DI RECUPERO FUNZIONALE DELLA PATOLOGIA CRONICA E DISABILITANTE: ANALISI DEI DETERMINANTI DI OUTCOME

AREA DI RICERCA BIOTECNOLOGIE AVANZATE

Di Girolamo F, Boschetti E, Chung MC, Guadagni F, Righetti PG.

Proteomineering" or not? The debate on biomarker discovery in sera continues.

J. Proteomics. 2011; 74:589-94

Nanni U, Spila A, Valente MG, Somma P, Iacoboni M, Alessandrini J, Ferroni P, Roselli M, Guadagni F.

RFID as a new ICT tool to monitor specimen life cycle and quality control in a biobank.

Int J Biol Markers 2011, 26:129-35

Riondino S, La Farina F, Martini F, Guadagni F, Ferroni P.

Functional impairment in video terminal operators is related to low-grade inflammation.

Int Arch Occup Environ Health. 2011 Oct;84(7):745-751

Ferroni P, Martini F, Portarena I, Grenga I, Riondino S, La Farina F, Laudisi A, Roselli M, Guadagni F.

An activated protein C-dependent thrombin generation assay predicts chemotherapy-associated venous thromboembolism in cancer patients.

Thromb Haemost. 2011;105(5):931-932

Ferroni P, Della-Morte D, Palmirotta R, McClendon M, Testa G, Abete P, Rengo F, Rundek T, Guadagni F, Roselli M.

Platinum-based compounds and risk for cardiovascular toxicity in the elderly: role of the antioxidants in chemoprevention.

Rejuvenation Res. 2011;14(3):293-308

Ferroni P, Spila A, D'Alessandro R, Martini F, Iacovone F, Ettorre GM, Vennarecci G, Santoro R, Puoti C, Guadagni F.

Platelet activation and vascular endothelial growth factor 165 release in hepatocellular cancer.

Clin Chim Acta. 2011;412(5-6):450-454

Formica V, Palmirotta R, Del Monte G, Savonarola A,

Ludovici G, De Marchis ML, Grenga I, Schirru M, Guadagni F, Roselli M.

Predictive value of VEGF gene polymorphisms for metastatic colorectal cancer patients receiving first-line treatment including fluorouracil, irinotecan, and bevacizumab.

Int J Colorectal Dis. 2011 Feb;26(2):143-151

Formica V, Martano L, Palmirotta R, Ferroni P, Del Monte G, Guadagni F, Roselli M.

VEGF gene polymorphisms may be associated with an increased risk of fluorouracil-induced diarrhea.

Ann Oncol. 2011;22(8):1928-1929

Palmirotta R, Guadagni F, Savonarola A, Ludovici G, Nesi G, Palli D, Falchetti M, Ottini L.

PAI-1 4G/5G repeat is a target in gastric carcinomas with microsatellite instability.

Digest Liver Dis 2011, 43: 454-458

Palmirotta R, Guadagni F, Savonarola A, Ludovici G, De Marchis ML, Palli D, Falchetti M, Ottini L.

PRKCSH GAG trinucleotide repeat is a mutational target in gastric carcinomas with high-level microsatellite instability.

Clin Genet 2011, 79:397-398

Palmirotta R, Savonarola A, Ludovici G, De Marchis ML, Covello R, Ettorre GM, Ialongo C, Guadagni F.

Concurrent Mutation in Exons 1 and 2 of K-ras Oncogene in Colorectal Cancer.

Folia Histochem Cytobiol 2011, in press

Palmirotta R, Ludovici G, De Marchis ML, Savonarola A, Leone B, Spila A, De Angelis F, Della-Morte D, Ferroni P, Guadagni F.

Pre-Analytical Procedures for DNA Studies: The Experience of the Interinstitutional Multidisciplinary Biobank (BioBIM) and review of the literature.

Biopreservation & Biobanking 2011, 9:35-45

Cavaliere F, De Simone M, Virzì S, Deraco M, Rossi CR, Garofalo A, Di Filippo F, Giannarelli D, Vaira M, Valle M, Pilati P, Perri P, La Pinta M, Monsellato I, Guadagni F.

Prognostic factors and oncologic outcome in 146 patients with colorectal peritoneal carcinomato-

sis treated with cytoreductive surgery combined with hyperthermic intraperitoneal chemotherapy: Italian multicenter study S.I.T.I.L.O.

Eur J Surg Oncol. 2011 Feb;37(2):148-154

Della Morte D, Beecham A, Rundek T, Wang L, McClendon MS, Slifer S, Blanton SH, Di Tullio MR, Sacco RL.

A follow-up study for left ventricular mass on chromosome 12p11 identifies potential candidate genes.

BMC Med Genet. 2011 Jul 26;12:100

Della Morte D, Raval AP, Lin HW, Perez-Pinzon MA. **Post-ischemic activation of protein kinase C epsilon protects the hippocampus from cerebral ischemic injury via alterations in cerebral blood flow.**

Neurosc Lett 2011 Jan 7;487(2):158-162

Della Morte D, Moussa I, Elkind MS, Sacco RL, Rundek T.

The short-term effect of atorvastatin on carotid plaque morphology assessed by computer-assisted gray-scale densitometry: a pilot study.

Neurol Res. 2011 Nov;33(9):991-994

Dong C, Della-Morte D, Wang L, Cabral D, Beecham A, McClendon MS, Luca CC, Blanton SH, Sacco RL, Rundek T.

Association of the sirtuin and mitochondrial uncoupling protein genes with carotid plaque.

PLoS One. 2011;6(11):e27157

Garbayo E, Raval AP, Curtis KM, Della-Morte D, Gomez LA, D'Ippolito G, Reiner T, Perez-Stable C, Howard GA, Perez-Pinzon MA, Montero-Menei CN, Schiller PC.

Neuroprotective properties of marrow-isolated adult multilineage-inducible cells in rat hippocampus following global cerebral ischemia are enhanced when complexed to biomimetic micro-carriers.

J Neurochem. 2011 Dec;119(5):972-988

Palmirotta R, Ferroni P, Basili S, Guadagni F.

Importance of haplotype analysis in association studies considering VEGF promoter polymorphisms. Reply.

Clin Biochem. 2011;44(8-9):748

Basili S, Pignatelli P, Tanzilli G, Mangeri E, Carnevale R, Di Santo S, Pastori D, Ferroni P, Violi F.

Anoxia-reoxygenation enhances platelet TxA2 production via ROS-generated NOX2. Effect in patients undergoing elective PCI.

Arterioscl Thromb Vasc Biol. 2011 Aug;31(8):1766-1771

Basili S, Raparelli V, Riggio O, Merli M, Carnevale R, Angelico F, Tellan G, Pignatelli P, Violi F. and CALC Group (Albanese F, Bartimoccia S, Burgio V.L, Calabrese C, Cangemi R, De Felice O, Del Ben M, Di Santo S, Ferro D, Ferroni P, Giannelli V, Guadagni F, Lucidi C, Mancini I, Napoleone L, Nigro C, Nocella C, Pastori D, Perri L, Pignataro F.S, Proietti M, Russo R, Saliola M, Schillizzi M, Vestri AR

NADPH oxidase-mediated platelet isoprostane over-production in cirrhotic patients: implication for platelet activation.

Liver Int. 2011 Nov;31(10):1533-1540

AREA DI RICERCA CARDIOVASCOLARE E SCIENZE INTERNISTICHE

Gambacciani M, Rosano G, Cappagli B, Pepe A, Vitale C, Genazzani AR.

Clinical and metabolic effects of drospirenone-estradiol in menopausal women: a prospective study.

Climacteric. 2011 Feb;14(1):18-24

Mammi C, Sala A, Volterrani M, Gatta L, Antelmi A, Feraco A, Caminiti G, Marazzi G, Vitale C, Caprio M, Rosano GM.

Exercise training reduces serum capacity to induce endothelial cell death in patients with chronic heart failure.

Eur J Heart Fail. 2011 Jun;13(6):642-650

Schwartz JB, Volterrani M, Caminiti G, Marazzi G, Fini M, Rosano GM, Iellamo F.

Effects of testosterone on the Q-T Interval in older men and older women with chronic heart failure.

Int J Androl. 2011 Oct;34(5 Pt 2):e415-21. doi: 10.1111/j.1365-2605.2011.01163.x

Marazzi G, Cacciotti L, Pelliccia F, Iaia L, Volterrani M, Caminiti G, Sposato B, Massaro R, Grieco F, Rosano G.

Long-term effects of nutraceuticals (berberine, red yeast rice, policosanol) in elderly hypercholesterolemic patients.

Adv Ther. 2011 Dec;28(12):1105-1113

Marazzi G, Volterrani M, Caminiti G, Iaia L, Massaro R, Vitale C, Sposato B, Mercurio G, Rosano G.

Comparative long term effects of nebivolol and carvedilol in hypertensive heart failure patients.

J Card Fail. 2011 Sep;17(9):703-709

Vitale C, Marazzi G, Pelliccia F, Volterrani M, Cerquetani E, Spoletini I, Mercurio G, Bonassi S, Dall'Armi V, Fini M, Rosano GM

Trimetazidine improves exercise performance in patients with peripheral arterial disease.

Pharmacol Res. 2011 Apr;63(4):278-283

Armani A, Marzolla V, Rosano GM, Fabbri A, Caprio M.

Phosphodiesterase type 5 (PDE5) in the adipocyte: a novel player in fat metabolism?

Trends Endocrinol Metab. 2011 Oct;22(10):404-411

European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, Agewall S, Alegria E, Chapman MJ, Durrington P, Erdine S, Halcox J, Hobbs R, Kjekshus J, Filardi PP, Riccardi G, Storey RF, Wood D; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) 2008-2010 and 2010-2012 Committees, Bax J, Vahanian A, Auricchio A, Baumgartner H, Ceconi C, Dean V, Deaton C, Fagard R, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hasdai D, Hobbs R, Hoes A, Kearney P, Knuuti J, Kolh P, McDonagh T, Moulin C, Poldermans D, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Sirnes PA, Tendera M, Torbicki A, Vardas P, Widimsky P, Windecker S, Funck-Brentano C, Poldermans D, Berkenboom G, De Graaf J, Descamps O, Gotcheva N, Griffith K, Guida GF, Gulec S, Henkin Y, Huber K, Kesaniemi YA, Lekakis J, Manolis AJ, Marques-Vidal P, Masana L, McMurray J, Mendes M, Pagava Z, Pedersen T, Prescott E, Rato Q, Rosano G, Sans S, Stalenoef A, Tokgozoglu L, Viigimaa M, Wittekoek ME, Zamorano JL.

ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS).

Eur Heart J. 2011 Jul;32(14):1769-1818

Carson Iii CC, Rosano G.

Exogenous testosterone, cardiovascular events, and cardiovascular risk factors in elderly men: a review of trial data.

J Sex Med. 2011 Jun 15. doi: 10.1111/j.1743-6109

Yoshida H, Rosano G, Shimizu M, Mochizuki S, Yoshimura M.

Gender differences in the effects of angiotensin receptor blockers on cardiovascular disease.

Curr Pharm Des. 2011;17(11):1090-1094

Mercurio G, Deidda M, Bina A, Manconi E, Rosano GM.

Gender-specific aspects in primary and secondary prevention of cardiovascular disease.

Curr Pharm Des. 2011;17(11):1082-1089

Rosano GM, Barbaro G.

Gender differences in cardiovascular diseases. A need for action.

Curr Pharm Des. 2011;17(11):1045

Nagoshi T, Yoshimura M, Rosano GM, Lopaschuk GD, Mochizuki S.

Optimization of Cardiac Metabolism in Heart Failure.

Curr Pharm Des. 2011 Dec;17(35):3846-3853

Spoletini I, Vitale C, Rosano GM.

Biomarkers for predicting postmenopausal coronary heart disease.

Biomark Med. 2011 Aug;5(4):485-495

Volterrani M, Cice G, Caminiti G, Vitale C, D'Isa S, Perrone Filardi P, Acquistapace F, Marazzi G, Fini M, Rosano GM.

Effect of Carvedilol, Ivabradine or their combination on exercise capacity in patients with Heart Failure (the CARVIVA HF trial).

Int J Cardiol. 2011 Sep 1;151(2):218-224

Vitale C, Spoletini I, Volterrani M, Iellamo F, Fini M.
Pattern of use of β -blockers in older patients with stable coronary artery disease: an observational, cross-sectional, multicentre survey.

Drugs Aging. 2011 Sep 1;28(9):703-711

Adamopoulos C, Meyer P, Desai RV, Karatzidou K, Ovalle F, White M, Aban I, Love TE, Deedwania P, Anker SD, Ahmed A.

Absence of obesity paradox in patients with chronic heart failure and diabetes mellitus: a propensity-matched study.

Eur J Heart Fail. 2011 Feb;13(2):200-206

Anker SD, Koehler F, Abraham WT.

Telemedicine and remote management of patients with heart failure.

Lancet. 2011 Aug 20;378(9792):731-739

Anker SD, von Haehling S.

The obesity paradox in heart failure: accepting reality and making rational decisions.

Clin Pharmacol Ther. 2011 Jul;90(1):188-90

Attanasio P, Anker SD, Doehner W, von Haehling S.
Hormonal consequences and prognosis of chronic heart failure.

Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2011 Jun;18(3):224-230

Trobec K, von Haehling S, Anker SD*, Lainscak M.
Growth hormone, insulin-like growth factor 1, and insulin signaling-a pharmacological target in body wasting and cachexia.

J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2011 Dec;2(4):191-200

Bang C, Thum T.

Cardiovascular importance of the microRNA-RNA -23/27/24 family.

Microcirculation 2011 Dec 3 [Epub ahead of print]

Bátkai S, Thum T.

MicroRNAs in Hypertension: Mechanisms and Therapeutic Targets.

Curr Hypertens Rep. 2011 Nov 4. [Epub ahead of print]

Bowling CB, Feller MA, Mujib M, Pawar PP, Zhang Y,

Ekundayo OJ, Aban IB, Love TE, Sanders PW, Anker SD, Fonarow GC, Ahmed A.

Relationship between Stage of Kidney Disease and Incident Heart Failure in Older Adults.

Am J Nephrol. 2011;34(2):135-141

Dangwal S, Bang C, Thum T.

Novel techniques and targets in cardiovascular microRNA research.

Cardiovasc Res. 2011 Dec 1. [Epub ahead of print]

Doehner W, Todorovic J, Kennecke C, Rauchhaus M, Sandek A, Lainscak M, van Linthout S, Tschöpe C, von Haehling S, Anker SD.

Improved insulin sensitivity by the angiotensin receptor antagonist irbesartan in patients with systolic heart failure: A randomized double-blind placebo-controlled study.

Int J Cardiol. 2011 Aug 17. [Epub ahead of print]

Doehner W, Haeusler KG, Endres M, Anker SD, MacNee W, Lainscak M.

Neurological and endocrinological disorders: orphans in chronic obstructive pulmonary disease.

Respir Med. 2011 Oct;105 Suppl 1:S12-19

Doehner W, Erdmann E, Cairns R, Clark AL, Dormandy JA, Ferrannini E, Anker SD.

Inverse relation of body weight and weight change with mortality and morbidity in patients with type 2 diabetes and cardiovascular co-morbidity: An analysis of the PROactive study population.

Int J Cardiol. 2011 Oct 29. [Epub ahead of print]

Düngen HD, Apostolovic S, Inkrot S, Tahirovic E, Töpper A, Mehrhof F, Prettin C, Putnikovic B, Neskovic AN, Krotin M, Sakac D, Lainscak M, Edelmann F, Wachter R, Rau T, Eschenhagen T, Doehner W, Anker SD, Waagstein F, Herrmann-Lingen C, Gelbrich G, Dietz R; on behalf of the CIBIS-ELD investigators and Project Multicentre Trials in the Competence Network Heart Failure.

Titration to target dose of bisoprolol vs. carvedilol in elderly patients with heart failure: the CIBIS-ELD trial.

Eur J Heart Fail. 2011 Jun;13(6):670-680

Elkina Y, von Haehling S, Anker SD, Springer J.

The role of myostatin in muscle wasting: an overview.

J Cachex Sarcopenia Muscle. 2011 Sep;2(3):143-151

Eschenhagen T, Force T, Ewer MS, de Keulenaer GW, Suter TM, Anker SD, Avkiran M, de Azambuja E, Balligand JL, Brutsaert DL, Condorelli G, Hansen A, Heymans S, Hill JA, Hirsch E, Hilfiker-Kleiner D, Janssens S, de Jong S, Neubauer G, Pieske B, Ponikowski P, Pirmohamed M, Rauchhaus M, Sawyer D, Sugden PH, Wojta J, Zannad F, Shah AM.

Cardiovascular side effects of cancer therapies: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2011 Jan;13(1):1-10

Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, Jatoi A, Loprinzi C, Macdonald N, Mantovani G, Davis M, Muscaritoli M, Ottery F, Radbruch L, Ravasco P, Walsh D, Wilcock A, Kaasa S, Baracos VE.

Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus.

Lancet Oncol. 2011 May;12(5):489-495

Fearon K, Evans WJ, Anker SD.

Myopenia-a new universal term for muscle wasting.

J Cachex Sarcopenia Muscle. 2011 Mar;2(1):1-3

Felzani G, Spoletini I, Convento A, Di Lorenzo B, Rossi P, Miceli M, Rosano G.

Effect of lysine hyaluronate on the healing of decubitus ulcers in rehabilitation patients.

Adv Ther. 2011 May;28(5):439-445

Fiedler J, Jazbutyte V, Kirchmaier BC, Gupta SK, Lorenzen J, Hartmann D, Galuppo P, Kneitz S, Pena JT, Sohn-Lee C, Loyer X, Soutschek J, Brand T, Tuschl T, Heineke J, Martin U, Schulte-Merker S, Ertl G, Engelhardt S, Bauersachs J, Thum T.

MicroRNA-24 regulates vascularity after myocardial infarction.

Circulation 2011 Aug 9;124(6):720-730

Fiedler J, Gupta SK, Thum T.

Identification of cardiovascular microRNA targets.

J Mol Cell Cardiol. 2011 Nov;51(5):674-681

Fiedler J, Thum T.

MicroRNAs looping around angiogenesis.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011 Nov;31(11):2367-2368

Thum T, Kalantar-Zadeh K, Anker SD.

Erythropoietin in kidney disease and type 2 diabetes.

N Engl J Med. 2011 Jan 27;364(4):384-5; author reply 385-386

Filippatos GS, Ahmed MI, Gladden JD, Mujib M, Aban IB, Love TE, Sanders PW, Pitt B, Anker SD, Ahmed A.

Hyperuricaemia, chronic kidney disease, and outcomes in heart failure: potential mechanistic insights from epidemiological data.

Eur Heart J. 2011 Mar;32(6):712-720

Fleissner F, Goerzig Y, Haverich A, Thum T.

Microvesicles as novel biomarkers and therapeutic targets in transplantation medicine.

Am J Transplant. 2011 Nov 14. [Epub ahead of print]

Frank Peacock W, Nowak R, Christenson R, Disomma S, Neath SX, Hartmann O, Mueller C, Ponikowski P, Möckel M, Hogan C, Wu AH, Richards M, Filippatos GS, Anand I, Ng LL, Daniels LB, Morgenthaler N, Anker SD, Maisel AS.

Short-term mortality risk in emergency department acute heart failure.

Acad Emerg Med. 2011 Sep;18(9):947-958

Fraser AG, Daubert JC, Van de Werf F, Estes NA, Smith SC jr, Krucoff MW, Vardas PE, Komajda M on behalf of the participants (Anker S, Rosano G.)

Clinical evaluation of cardiovascular devices - principles, problems, and proposals for European regulatory reform. Report of a policy conference of the European Society of Cardiology.

Eur Heart Journal 2011 Jul;32(13):1673-1686

Giordani L, Quaranta MG, Marchesi A, Straface E, Pietraforte D, Villani A, Malorni W, Del Principe D, Viora M.

Increased frequency of immunoglobulin (Ig)A-secreting cells following Toll-like receptor (TLR)-9

engagement in patients with Kawasaki disease.

Clin Exp Immunol. 2011 Mar;163(3):346-353

Habedank D, Ewert R, Hummel M, Dandel M, Habedank F, Knosalla C, Lehmkuhl HB, Anker SD, Hetzer R.

The effects of bilateral lung transplantation on ventilatory efficiency, oxygen uptake and the right heart: a two-yr follow-up.

Clin Transplant. 2011 Jan;25(1):E38-45

Hartmann D, Thum T.

MicroRNAs and vascular (dys)function.

Vascul Pharmacol. 2011 Oct;55(4):92-105

Jankowska EA, Filippatos GS, von Haehling S, Papassotiriou J, Morgenthaler NG, Ciccoira M, Schefold JC, Rozentryt P, Ponikowska B, Doehner W, Banasiak W, Hartmann O, Struck J, Bergmann A, Anker SD, Ponikowski P.

Identification of chronic heart failure patients with a high 12-month mortality risk using biomarkers including plasma C-terminal pro-endothelin-1.

PLoS One. 2011 Jan 17;6(1):e14506

Jankowska EA, Rozentryt P, Witkowska A, Nowak J, Hartmann O, Ponikowska B, Borodulin-Nadzieja L, von Haehling S, Doehner W, Banasiak W, Polonski L, Filippatos G, Anker SD, Ponikowski P.

Iron deficiency predicts impaired exercise capacity in patients with systolic chronic heart failure.

J Card Fail. 2011 Nov;17(11):899-906

Klip IT, Voors AA, Anker SD, Hillege HL, Struck J, Squire I, van Veldhuisen DJ, Dickstein K; for the OPTIMAAL investigators.

Prognostic value of mid-regional pro-adrenomedullin in patients with heart failure after an acute myocardial infarction.

Heart. 2011 Jun;97(11):892-898

Koehler F, Winkler S, Schieber M, Sechtem U, Stangl K, Böhm M, Boll H, Baumann G, Honold M, Koehler K, Gelbrich G, Kirwan BA, Anker SD; on behalf of the Telemedical Interventional Monitoring in Heart Failure Investigators.

Impact of Remote Telemedical Management on Mortality and Hospitalizations in Ambulatory Patients With Chronic Heart Failure: The**Telemedical Interventional Monitoring in Heart Failure Study.**

Circulation. 2011 May 3;123(17):1873-1880

Koehler F, Winkler S, Schieber M, Sechtem U, Stangl K, Böhm M, de Brouwer S, Perrin E, Baumann G, Gelbrich G, Boll H, Honold M, Koehler K, Kirwan BA, Anker SD.

Telemedicine in heart failure: Pre-specified and exploratory subgroup analyses from the TIM-HF trial.

Int J Cardiol. 2011 Oct 7. [Epub ahead of print]

Kumarswamy R, Volkman I, Jazbutyte V, Dangwal S, Park DH, Thum T.

Transforming growth factor- β -induced endothelial-to-mesenchymal transition is partly mediated by microRNA-21.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011 Nov 17. [Epub ahead of print]

Kung T, Szabó T, Springer J, Doehner W, Anker SD, von Haehling S.

Cachexia in heart disease: highlights from the ESC 2010.

J Cachex Sarcopenia Muscle. 2011 Mar;2(1):63-69

Lainscak M, von Haehling S, Doehner W, Sarc I, Jeric T, Zihel K, Kosnik M, Anker SD, Suskovic S.

Body mass index and prognosis in patients hospitalized with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease.

J Cachex Sarcopenia Muscle. 2011 Jun;2(2):81-86

Lainscak M, Farkas J, Inkrot S, Gelbrich G, Neskovic AN, Rau T, Tahirovic E, Töpper A, Apostolovic S, Haverkamp W, Herrmann-Lingen C, Anker SD, Düngen HD.

Self-rated health predicts adverse events during beta-blocker treatment: The CIBIS-ELD randomised trial analysis.

Int J Cardiol. 2011 Jun 6. [Epub ahead of print]

Levitan EB, Mujib M, Feller MA, Jones LG, Sawyer P, Anker SD, Ahmed A

Self-reported teenage body size and heart failure in adults >65years of age.

Int J Cardiol. 2011 Jun 16;149(3):401-402

Lorenzen JM, Volkmann I, Fiedler J, Schmidt M, Scheffner I, Haller H, Gwinner W, Thum T.

Urinary miR-210 as a mediator of acute T-cell mediated rejection in renal allograft recipients.

Am J Transplant. 2011 Oct;11(10):2221-2227

Maisel A, Mueller C, Nowak RM, Peacock WF, Ponikowski P, Mockel M, Hogan C, Wu AH, Richards M, Clopton P, Filippatos GS, Di Somma S, Anand I, Ng LL, Daniels LB, Neath SX, Christenson R, Potocki M, McCord J, Hartmann O, Morgenthaler NG, Anker SD.

Midregion prohormone adrenomedullin and prognosis in patients presenting with acute dyspnea results from the BACH (Biomarkers in acute Heart Failure) trial.

J Am Coll Cardiol. 2011 Aug 30;58(10):1057-1067

Maisel AS, Katz N, Hillege HL, Shaw A, Zanco P, Bellomo R, Anand I, Anker SD, Aspromonte N, Bagshaw SM, Berl T, Bobek I, Cruz DN, Daliento L, Davenport A, Haapio M, House AA, Mankad S, McCullough P, Mebazaa A, Palazzuoli A, Ponikowski P, Ronco F, Sheinfeld G, Soni S, Vescovo G, Zamperetti N, Ronco C; for the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) consensus group.

Biomarkers in kidney and heart disease.

Nephrol Dial Transplant. 2011 Jan;26(1):62-74

Maisel A, Xue Y, Shah K, Mueller C, Nowak R, Peacock WF, Ponikowski P, Mockel M, Hogan C, Wu AH, Richards M, Clopton P, Filippatos GS, Di Somma S, Anand I, Ng L, Daniels LB, Neath SX, Christenson R, Potocki M, McCord J, Terracciano G, Kremastinos D, Hartmann O, von Haehling S, Bergmann A, Morgenthaler NG, Anker SD.

Increased 90-day mortality in acute heart failure patients with elevated copeptin: secondary results from the Biomarkers in Acute Heart Failure (BACH) Study.

Circ Heart Fail. 2011 Sep 1;4(5):613-620

Manzano L, Babalis D, Roughton M, Shibata M, Anker SD, Ghio S, van Veldhuisen DJ, Cohen-Solal A, Coats AJ, Poole-Wilson PP, Flather MD; on behalf of the SENIORS Investigators.

Predictors of clinical outcomes in elderly patients with heart failure.

Eur J Heart Fail. 2011 May;13(5):528-536

Matarrese P, Colasanti T, Ascione B, Margutti P, Franconi F, Alessandri C, Conti F, Ricciari V, Rosano G, Ortona E, Malorni W.

Gender disparity in susceptibility to oxidative stress and apoptosis induced by autoantibodies specific to RLIP76 in vascular cells.

Antioxid Redox Signal. 2011 Dec 1;15(11):2825-2836

Morley JE, Abbatecola AM, Argiles JM, Baracos V, Bauer J, Bhasin S, Cederholm T, Stewart Coats AJ, Cummings SR, Evans WJ, Fearon K, Ferrucci L, Fielding RA, Guralnik JM, Harris TB, Inui A, Kalantar-Zadeh K, Kirwan BA, Mantovani G, Muscaritoli M, Newman AB, Rossi-Fanelli F, Rosano GM, Roubenoff R, Schambelan M, Sokol GH, Storer TW, Vellas B, von Haehling S, Yeh SS, Anker SD; The Society on Sarcopenia, Cachexia and Wasting Disorders Trialist Workshop.

Sarcopenia with limited mobility: an International Consensus.

J Am Med Dir Assoc. 2011 Jul;12(6):403-409

Newfell BG, Iyer LK, Mohammad NN, McGraw AP, Ehsan A, Rosano G, Huang PL, Mendelsohn ME, Jaffe IZ.

Aldosterone regulates vascular gene transcription via oxidative stress-dependent and -independent pathways.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011 Aug;31(8):1871-1880

O'Connor CM, Starling RC, Hernandez AF, Armstrong PW, Dickstein K, Hasselblad V, Heizer GM, Komajda M, Massie BM, McMurray JJ, Nieminen MS, Reist CJ, Rouleau JL, Swedberg K, Adams KF Jr, Anker SD, Atar D, Battler A, Botero R, Bohidar NR, Butler J, Clausell N, Corbalán R, Costanzo MR, Dahlstrom U, Deckelbaum LI, Diaz R, Dunlap ME, Ezekowitz JA, Feldman D, Felker GM, Fonarow GC, Gennevois D, Gottlieb SS, Hill JA, Hollander JE, Howlett JG, Hudson MP, Kociol RD, Krum H, Laucevicius A, Levy WC, Méndez GF, Metra M, Mittal S, Oh BH, Pereira NL, Ponikowski P, Tang WH, Tanomsup S, Teerlink JR, Triposkiadis F, Troughton RW, Voors AA, Whellan DJ, Zannad F, Califf RM.

Effect of nesiritide in patients with acute decompensated heart failure.

N Engl J Med. 2011 Jul 7;365(1):32-43

Palus S, Schur R, Akashi YJ, Bockmeyer B, Datta R, Halem H, Dong J, Culler MD, Adams V, Anker SD, Springer J.

Ghrelin and its analogues, BIM-28131 and BIM-28125, improve body weight and regulate the expression of MuRF-1 and MAFbx in a rat heart failure model.

PLoS One. 2011;6(11):e26865

Peacock WF, Nowak R, Christenson R, DiSomma S, Neath SX, Hartmann O, Mueller C, Ponikowski P, Möckel M, Hogan C, Wu AH, Richards M, Filippatos GS, Anand I, Ng LL, Daniels LB, Morgenthaler N, Anker SD, Maisel AS.

Short-term mortality risk in emergency department acute heart failure.

Acad Emerg Med. 2011 Sep;18(9):947-58

Pfaff N, Fiedler J, Holzmann A, Schambach A, Moritz T, Cantz T, Thum T.

miRNA screening reveals a new miRNA family stimulating iPS cell generation via regulation of Meox2.

EMBO Rep. 2011 Oct 28;12(11):1153-1159

Pitt B, Anker SD, Bushinsky DA, Kitzman DW, Zannad F, Huang IZ; on behalf of the PEARL-HF Investigators.

Evaluation of the efficacy and safety of RLY5016, a polymeric potassium binder, in a double-blind, placebo-controlled study in patients with chronic heart failure (the PEARL-HF) trial.

Eur Heart J. 2011 Apr;32(7):820-828

Rokutan H, Suckow C, von Haehling S, Strassburg S, Bockmeyer B, Doehner W, Waller C, Bauersachs J, von Websky K, Hocher B, Anker SD, Springer J.

Furosemide induces mortality in a rat model of chronic heart failure.

Int J Cardiol. 2011 Mar 28. [Epub ahead of print]

Sandek A, Valentova M, von Haehling S, Doehner W, Anker SD.

The small intestine: a critical linkage in pathophysiology of cardiac cachexia.

Int J Cardiol. 2011 Jan 21;146(2):277-278

Sarc I, Jeric T, Zihel K, Suskovic S, Kosnik M, Anker SD, Lainscak M.

Adherence to treatment guidelines and long-term survival in hospitalized patients with chronic obstructive pulmonary disease.

J Eval Clin Pract. 2011 Aug;17(4):737-743

Schmidt K, von Haehling S, Doehner W, Palus S, Anker SD, Springer J.

IGF-1 treatment reduces weight loss and improves outcome in a rat model of cancer cachexia.

J Cachex Sarcopenia Muscle. 2011 Jun;2(2):105-109

Sims RV, Mujib M, McGwin G Jr, Zhang Y, Ahmed MI, Desai RV, Aban IB, Sawyer P, Anker SD, Ahmed A.

Heart failure is a risk factor for incident driving cessation among community-dwelling older adults: findings from a prospective population study.

J Card Fail. 2011 Dec;17(12):1035-1040

Thum T.

MicroRNA therapeutics in cardiovascular medicine.

EMBO Mol Med. 2011 Dec 13. [Epub ahead of print]

Thum T, Springer J.

Breakthrough in cachexia treatment through a novel selective androgen receptor modulator?!

J Cachex Sarcopenia Muscle. 2011 Sep;2(3):121-123

von Haehling S, Doehner W, Anker SD.

Revisiting the obesity paradox in heart failure: new insights?

Eur J Heart Fail. 2011 Feb;13(2):130-132

von Haehling S, Anker MS, Jankowska EA, Ponikowski P, Anker SD.

Anemia in chronic heart failure: Can we treat? What to treat?

Heart Fail Rev. 2011 Oct 7. [Epub ahead of print]

von Haehling S, Jankowska EA, Ponikowski P, Anker SD.

Anemia in heart failure: an overview of current concepts.

Future Cardiol. 2011 Jan;7(1):119-129

Widera C, Gupta SK, Lorenzen JM, Bang C, Bauersachs J, Bethmann K, Kempf T, Wollert KC, Thum T.

Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome.

J Mol Cell Cardiol. 2011 Nov;51(5):872-875

Winkler S, Schieber M, Lücke S, Heinze P, Schweizer T, Wegertseder D, Scherf M, Nettleau H, Henke S, Braecklein M, Anker SD, Koehler F.

A new telemonitoring system intended for chronic heart failure patients using mobile telephone technology - Feasibility study.

Int J Cardiol. Nov 17;153(1):55-58

Anker S, Caminiti G, Volterrani M.

Gender related issues in the management of heart failure.

Curr Pharm Des. 2011 17(11):1070-1078

Aversa A, Caprio M, Antelmi A, Armani A, Brama M, Greco EA, Francomano D, Calanchini M, Spera G, Luigi LD, Rosano GM, Lenzi A, Migliaccio S, Fabbri A.

Exposure to phosphodiesterase type 5 inhibitors stimulates aromatase expression in human adipocytes in vitro.

J Sex Med. 2011 Mar;8(3):696-704

Bernabei R, Caputi A, Di Cioccio L, Fini M, Gallo PF, Marchionni N, Marrocco W, Melchiorri D, Mugelli A, Pilotto A, Rasi G, Zuccaro S.

Need for redesigning pharmacologic research in older individuals. A position statement of the Geriatric Working Group of the Agenzia Italia del Farmaco (AIFA).

J Gerontology A Biol Sci Med Sci 2011 Jan;66(1):66-67

Caminiti G, Volterrani M, Marazzi G, Cerrito A, Massaro R, Sposato B, Arisi A, Rosano G.

Hydrotherapy added to endurance training versus endurance training alone in elderly patients with chronic heart failure: A randomized pilot study.

Int J Cardiol. 2011 Apr 14;148(2):199-203

Caminiti G, Volterrani M, Marazzi G, Cerrito A, Massaro R, Arisi A, Franchini A, Sposato B, Rosano G.

Tai Chi enhances the effects of endurance train-

ing in the rehabilitation of elderly patients with chronic heart failure.

Rehabil Res Pract. 2011;2011:761958

Caprio M, Antelmi A, Chetrite G, Muscat A, Mammi C, Marzolla V, Fabbri A, Zennaro MC, Fève B.

Anti-adipogenic effects of the mineralocorticoid receptor antagonist drospirenone: 1 potential implications for the treatment of metabolic syndrome.

Endocrinology 2011;Jan 152(1): 113-125

Collins P, Vitale C, Spoletini I, Barbaro G.

Gender differences in the clinical presentation of heart disease.

Curr Pharm Des. 2011;17(11):1056-1058

Doyle T, Chen Z, Muscoli C, Obeid LM, Salvemini D.

Intraplantar-injected ceramide in rats induces hyperalgesia through an NF- κ B- and p38 kinase-dependent cyclooxygenase 2/prostaglandin E2 pathway.

FASEB J. 2011 Aug;25(8):2782-2791

Dragoni F, Chiarotti F, Rosano G, Simioni P, Tormene D, Mazzucconi MG, Cafolla A, Avvisati G.

Thrombophilic screening in young patients (< 40 years) with idiopathic ischemic stroke: a controlled study.

Thromb Res. 2011 Feb;127(2):85-90

Iellamo F, Manzi V, Caminiti G, Sposato B, Massaro M, Cerrito A, Rosano G, Volterrani M.

Dose-response relationship of baroreflex sensitivity and heart rate variability to individually-tailored exercise training in patients with heart failure.

Int J Cardiol. 2011 Nov 9. [Epub ahead of print]

Jones TH, Arver S, Behre HM, Buvat J, Meuleman E, Moncada I, Morales AM, Volterrani M, Yellowlees A, Howell JD, Channer KS; TIMES2 Investigators.

Testosterone replacement in hypogonadal men with type 2 diabetes and/or metabolic syndrome (the TIMES2 Study).

Diabetes Care. 2011 Apr;34(4):828-837

Mammi C, Pastore D, Lombardo MF, Ferrelli F, Caprio M, Consoli C, Tesauro M, Gatta L, Fini M, Federici M, Sbraccia P, Donadel G, Bellia A, Rosano

GM, Fabbri A, Lauro D.

Sildenafil reduces insulin-resistance in human endothelial cells.

PLoS One. 2011 Jan 28;6(1):e14542

Marazzi G, Iellamo F, Volterrani M, Caminiti G, Madonna M, Arisi G, Massaro R, Righi D, Rosano GM.

Comparison of effectiveness of Carvedilol versus Bisoprolol for prevention of postdischarge atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting in patients with heart failure.

Am J Cardiol. 2011 Jan 15;107(2):215-219

Mariani S, Abruzzese E, Basciani S, Fiore D, Persichetti A, Watanabe M, Spera G, Gnessi L.

Reversible hair depigmentation in a patient treated with imatinib.

Leuk Res. 2011 Jun;35(6):e64-66

Mariani S, Basciani S, Fabbri A, Agati L, Ulisse S, Lubrano C, Spera G, Gnessi L.

Severe oligozoospermia in a young man with chronic myeloid leukemia on long-term treatment with imatinib started before puberty.

Fertil Steril. 2011 Mar 1;95(3):1120.e15-17

Marzolla V, Armani A, Zennaro MC, Cinti F, Mammi C, Fabbri A, Rosano GM, Caprio M.

The role of the mineralocorticoid receptor in adipocyte biology and fat metabolism.

Mol Cell Endocrinol. 2011 Sep 10. [Epub ahead of print]

Pierdominici M, Ortona E, Franconi F, Caprio M, Straface E, Malorni W.

Gender specific aspects of cell death in the cardiovascular system.

Current Pharmaceutical Design 2011;17(11):1046-1055

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

Cardiovascular health in the menopausal woman: Impact of the timing of hormone replacement therapy.

Maturitas 2011 In press

Tutarel O, Dangwal S, Bretthauer J, Westhoff-Bleck M, Roentgen P, Anker SD, Bauersachs J, Thum T.

Circulating miR-423,5p fails as a biomarker for systemic ventricular function in adults after atrial

repair for transposition of the great arteries.

Int J Cardiol. 2011 Dec 20. [Epub ahead of print]

Vacirca D, Barbati C, Scazzocchio B, Masella R, Rosano G, Malorni W, Ortona E.

Anti-ATP synthase autoantibodies from patients with Alzheimer's Disease reduce extracellular HDL level. J.

Alzheimers Dis. 2011 Jan 1;26(3):441-445

Vitale C, Marazzi G, Iellamo F, Spoletini I, Dall'armi V, Fini M, Volterrani M.

Effects of nebivolol or irbesartan in combination with hydrochlorothiazide on vascular functions in newly-diagnosed hypertensive patients: The NINFE (Nebivololo, Irbesartan Nella Funzione Endoteliale) study.

Int J Cardiol. 2011 Nov 9. [Epub ahead of print]

Laboratorio di Patologia molecolare e cellulare

Carpi A, Rossi G, Mechanick JI, Nicolini A, Camici M, Russo MA, Di Coscio G.

Large needle aspiration biopsy histology for pre-operative selection of Hürthle cell thyroid nodules.

Histopathology. 2011 Nov;59(5):892-896

Colafrancesco V, Parisi V, Sposato V, Rossi S, Russo MA, Coassin M, Lambiase A, Aloe L.

Ocular application of nerve growth factor protects degenerative retinal ganglion cells in a rat model of glaucoma.

J Glaucoma. 2011 Feb;20(2):100-108

Colussi C, Rosati J, Straino S, Spallotta F, Berni R, Stilli D, Rossi S, Musso E, Macchi E, Mai A, Sbardella G, Castellano S, Chimenti C, Frustaci A, Nebbioso A, Altucci L, Capogrossi MC, Gaetano C.

Nε-lysine acetylation determines dissociation from GAP junctions and lateralization of connexin 43 in normal and dystrophic heart.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Feb 15;108(7):2795-2800

Di Vito M, De Santis E, Perrone GA, Mari E, Giordano MC, De Antoni E, Coppola L, Fadda G, Tafani M, Carpi A, Russo MA.

Overexpression of estrogen receptor alpha in

human papillary thyroid carcinomas studied by laser-capture microdissection and molecular biology.

Cancer Sci. 2011 Jun 25. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.02017.x

Marfè G, Tafani M, Fiorito F, Pagnini U, Iovane G, De Martino L.

Involvement of FOXO transcription factors, TRAIL-FasL/Fas, and sirtuin proteins family in canine coronavirus type II-induced apoptosis.

PLoS One. 2011;6(11):e27313

Salvatori L, Ravenna L, Caporuscio F, Principessa L, Coroniti G, Frati L, Russo MA, Petrangeli E.

Action of retinoic acid receptor on EGFR gene transactivation and breast cancer cell proliferation: Interplay with the estrogen receptor.

Biomed Pharmacother. 2011 Jul;65(4):307-312

Tafani M, Di Vito M, Frati A, Pellegrini L, De Santis E, Sette G, Eramo A, Sale P, Mari E, Santoro A, Raco A, Salvati M, De Maria R, Russo MA.

Pro-inflammatory gene expression in solid glioblastoma microenvironment and in hypoxic stem cells from human glioblastoma.

J Neuroinflammation. 2011 Apr 13;8(1):32

Tafani M, Schito L, Pellegrini L, Indelicato M, Marfe G, Anwar T, Paradisi V, Rosa R, Pucci B, Russo MA.

Hypoxia-increased RAGE and P2RX7 expression regulates Tumor Cell Invasion through Phosphorylation of Erk1/2 and Akt and Nuclear Translocation of NF-κB.

Carcinogenesis. 2011 Aug;32(8):1167-1175

LINEA 3 - SISTEMI INNOVATIVI DI PREVENZIONE/CONTROLLO E PROMOZIONE DI SALUTE

AREA DI RICERCA APPROCCI DI SISTEMA E MALATTIE NON TRASMISSIBILI

Albino D, Brizzolata A, Moretti S, Falugi C, Mirisola V, Scaruffi P, Di Candia M, Truini M, Coco S, Bonassi S, Tonini GP.

Gene expression profiling identifies eleven DNA repair genes down regulated during mouse neural

crest cell migration.

Int J Dev Biol. 2011;55(1):65-72

Bonassi S, El-Zein R, Bolognesi C, Fenech M.

Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies.

Mutagenesis. 2011 Jan;26(1):93-100

Bousquet J, Anto JM, Sterk PJ, Adcock IM, Chung KF, Roca J, Agusti A, Brightling C, Cambon-Thomsen A, Cesario A, Abdelhak S, Antonarakis SE, Avignon A, Ballabio A, Baraldi E, Baranov A, Bieber T, Bockaert J, Brahmachari S, Brambilla C, Bringer J, Dauzat M, Ernberg I, Fabbri L, Froguel P, Galas D, Gojobori T, Hunter P, Jorgensen C, Kauffmann F, Kourilsky P, Kowalski ML, Lancet D, Pen CL, Mallet J, Mayosi B, Mercier J, Metspalu A, Nadeau JH, Ninot G, Noble D, Oztürk M, Palkonen S, Préfaut C, Rabe K, Renard E, Roberts RG, Samolinski B, Schünemann HJ, Simon HU, Soares MB, Superti-Furga G, Tegner J, Verjovski-Almeida S, Wellstead P, Wolkenhauer O, Wouters E, Balling R, Brookes AJ, Charron D, Pison C, Chen Z, Hood L, Auffray C.

Systems medicine and integrated care to combat chronic noncommunicable diseases.

Genome Med. 2011 Jul 6;3(7):43

Cafarotti S, Cesario A, Porziella V, Margaritora S, Granone P.

Chemoradiotherapy followed by surgery versus surgery alone in esophageal cancer patients: is it time for additional evidence?

World J Surg Oncol. 2011 Apr 19;9(1):41

Cafarotti S, Dall'armi V, Cusumano G, Margaritora S, Meacci E, Lococo F, Vita ML, Porziella V, Bonassi S, Cesario A, Granone P.

Small-bore wire-guided chest drains: Safety, tolerability and effectiveness in pneumothorax, malignant effusions, and pleural empyema.

J Thorac Cardiovasc Surg. 2011 Mar;141(3):683-687

Calzetta L, Spina D, Cazzola M, Page CP, Facciolo F, Rendina EA, Matera MG.

Pharmacological Characterization of Adenosine Receptors on Isolated Human Bronchi.

Am J Respir Cell Mol Biol. 2011 Dec;45(6):1222-1231

Bonassi S, Coskun E, Ceppi M, Lando C, Bolognesi C, Burgaz S, Holland N, Kirsh-Volders M, Knasmueller S, Zeiger E, Carnesoltas D, Cavallo D, da Silva J, de Andrade VM, Demircigil GC, Odio AD, Donmez-Altuntas H, Gattas G, Giri A, Giri S, Gómez-Meda B, Gómez-Arroyo S, Hadjidekova V, Haveric A, Kamboj M, Kurteshi K, Martino-Roth MG, Montoya RM, Nersesyan A, Pastor-Benito S, Salvadori DM, Shaposhnikova A, Stopper H, Thomas P, Torres-Bugarín O, Yadav AS, González GZ, Fenech M.

The HUMAN MicroNucleus project on exfoliated buccal cells (HUMN(XL)): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol.

Mutat Res. 2011 Nov-Dec;728(3):88-97

Ceppi M, Gallo F, Bonassi S.

Study design and statistical analysis of data in human population studies with the micronucleus assay.

Mutagenesis. 2011 Jan;26(1):247-252

Cazzola M, Calzetta L, Bettoncelli G, Novelli L, Cricelli C, Rogliani P.

Asthma and comorbid medical illness.

Eur Respir J. 2011 Jul;38(1):42-49

Cazzola M, Calzetta L, Page C, Rinaldi B, Capuano A, Matera MG.

Protein prenylation contributes to the effects of LPS on EFS-induced responses in human isolated bronchi.

Am J Respir Cell Mol Biol. 2011 Oct;45(4):704-710

Cazzola M, Calzetta L, Matera MG.

$\beta(2)$ -adrenoceptor agonists: current and future direction.

Br J Pharmacol. 2011 May;163(1):4-17

Cazzola M, Pasqua F, Ferri L, Biscione G, Cardaci V, Matera MG.

Rapid onset of bronchodilation with formoterol/beclomethasone Modulite and formoterol/budesonide Turbuhaler as compared to formoterol alone in patients with COPD.

Pulm Pharmacol Ther. 2011 Feb;24(1):118-122

Cazzola M, Puxeddu E, Bettoncelli G, Novelli L,

Segreti A, Cricelli C, Calzetta L.

The prevalence of asthma and COPD in Italy: A practice-based study.

Respir Med. 2011 Mar;105(3):386-391

Cazzola M, Segreti A, Bettoncelli G, Calzetta L, Cricelli C, Pasqua F, Rogliani.

Change in asthma and COPD prescribing by Italian general practitioners between 2006 and 2008.

Primary Care Respiratory Journal 2011 Sep;20(3):291-298

Chen D, Truong T, Brennan P, James D, McKay on behalf of the INHANCE consortium (Boccia S).

A sex specific association between a 15q25 variant and upper-aero-digestive tract cancers.

Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention 2011;20(4):658-664

Cesario A, Rocca B, Rutella S.

The interplay between indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) and cyclooxygenase (COX)-2 in chronic inflammation and cancer.

Curr Med Chem. 2011;18(15):2263-2271

Chiò A, Mora G, La Bella V, Caponnetto C, Mancardi G, Sabatelli M, Siciliano G, Silani V, Corbo M, Moglia C, Calvo A, Mutani R, Rutella S, Gualandi F, Melazzini M, Scimè R, Petrini M, Bondesan P, Garbelli S, Mantovani S, Bendotti C, Tarella C; STEMALS Study Group.

Repeated courses of granulocyte colony-stimulating factor in amyotrophic lateral sclerosis: clinical and biological results from a prospective multi-center study.

Muscle Nerve. 2011 Feb;43(2):189-195

Coco S, Valdora F, Bonassi S, Scaruffi P, Stigliani S, Oberthuer A, Berthold F, Andolfo I, Servidei T, Riccardi R, Basso E, Iolascon A, Tonini GP.

Chromosome 9q and 16q loss identified by genome-wide pooled-analysis are associated with tumor aggressiveness in patients with classic medulloblastoma.

OMICS. 2011 May;15(5):273-280

Dhillon VS, Thomas P, Iarmarcovai G, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Fenech M.

Genetic polymorphisms of genes involved in DNA repair and metabolism influence micronucleus frequencies in human peripheral blood lymphocytes.

Mutagenesis. 2011 Jan;26(1):33-42

Fenech M, Bonassi S.

The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes.

Mutagenesis. 2011 Jan;26(1):43-49

Fenech M, Holland N, Zeiger E, Chang WP, Burgaz S, Thomas P, Bolognesi C, Knasmueller S, Kirsch-Volders M, Bonassi S.

The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells—past, present and future.

Mutagenesis. 2011 Jan;26(1):239-245

Flex A, de Waure C, Boccia S.

Assessment of the genetic effects of polymorphisms in the Osteoprotegerin (OPG) gene, TNFRSF11B, on serum OPG levels and carotid plaque vulnerability.

Stroke 2011 Nov;42(2):3022-3028

Galli F, Pozzi G, Frustaci A, Allena M, Anastasi S, Chirumbolo A, Ghiotto N, Guidetti V, Matarrese A, Nappi G, Pazzi S, Quartesan R, Sances G, Tassorelli C.

Differences in the personality profile of medication-overuse headache sufferers and drug addict patients: a comparative study using MMPI-2.

Headache 2011 Sep;51(8):1212-1227

Horska A, Mislanova C, Bonassi S, Ceppi M, Volkovova K, Dusinska M.

Vitamin C levels in blood are influenced by polymorphisms in glutathione S-transferases.

Eur J Nutr. 2011 Sep;50(6):437-446

Jubb AM, Cesario A, Ferguson M, Congedo MT, Gatter KC, Lococo F, Mulè A, Pezzella F.

Vascular phenotypes in primary non-small cell lung carcinomas and matched brain metastases.

Brit. J Cancer. 2011 Jun 7;104(12):1877-1881

Lancellotti S, De Filippis V, Pozzi N, Oggianu L, Rutella S, Scaglione GL, Maset F, Peyvandi F, Mannucci PM, De Cristofaro R.

Oxidized von Willebrand factor is efficiently cleaved by serine proteases from primary granules of leukocytes: divergence from ADAMTS-13.

J Thromb Haemost. 2011 Aug;9(8):1620-1627

Leuzzi G, Vita ML, Porziella V, Congedo MT, Cesario A.

Single center experience on talc poudrage morbidity: focus on high talc dosage.

J Cardiothorac Surg. 2011 Jun 27;6:87

Lococo F, Cesario A, Meacci E, Vita LM, Porziella V, Margaritora S, Granone P.

Huge primary pericardial liposarcoma.

Thorac Cardiovasc Surg. 2011 Apr;59(3):172-173

Lococo F, Cesario A, Mulè A, Margaritora S.

Malignant solitary fibrous tumor of the esophagus.

Eur J Cardiothorac Surg. 2011 Apr;39(4):595-597

Lococo F, Cesario A, Margaritora S, Granone P.

Chest-tube digital assessment after pulmonary resection: the crucial role of time-trend analysis and a new model to predict a persistent air leak.

Eur J Cardiothorac Surg. 2011 Mar;39(3):436-437

Lococo F, Cesario A, Porziella V, Mulè A, Petrone G, Margaritora S, Granone P.

Idiopathic lipid pneumonia successfully treated with prednisolone.

Heart Lung. 2011 Mar 17. [Epub ahead of print]

Margaritora S, Cesario A, Cusumano G, Lococo F, Porziella V, Meacci E, Evoli A, Granone P.

Single-centre 40-year results of redo operation for recurrent thymomas.

Eur J Cardiothorac Surg. 2011 Oct;40(4):894-900

Masucci L, Graffeo R, Bani S, Bugli F, Boccia S, Nicolotti N, Fiori B, Fadda G, Spanu T.

Intestinal parasites isolated in a large teaching hospital, Italy, 1 May 2006 to 31 December 2008.

Euro Surveill. 2011 Jun 16;16(24)

Matera MG, Calzetta L, Rogliani P, Bardaro F, Page

CP, Cazzola M.

Evaluation of the effects of the R- and S-enantiomers of salbutamol on equine isolated bronchi.

Pulm Pharmacol Ther. 2011 Apr;24(2):221-226

Matera MG, Page CP, Cazzola M.

Novel bronchodilators for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease.

Trends Pharmacol Sci. 2011 Aug;32(8):495-506

Matera MG, Calzetta L, Passeri D, Facciolo F, Rendina EA, Page C, Cazzola M, Orlandi A.
Epithelium integrity is crucial for the relaxant activity of brain natriuretic peptide in human isolated bronchi.

Br J Pharmacol. 2011 Aug;163(8):1740-1754

Meacci E, Cesario A, Cusumano G, Lococo F, D'Angelillo R, Dall'armi V, Margaritora S, Granone P.

Surgery for patients with persistent pathological N2 IIIA stage in non-small-cell lung cancer after induction radio-chemotherapy: the microscopic seed of doubt.

Eur J Cardiothorac Surg. 2011 Sep;40(3):656-663

Nicolotti N, Chuang SC, Cadoni G, Arzani D, Petrelli L, Bosetti C, Brenner H, Hosono S, La Vecchia C, Matsuo K, Müller H, Muscat J, Paludetti G, Ricciardi G, Boffetta P, Hashibe M, Boccia S.

Recreational physical activity and risk of head and neck cancer: a pooled analysis within the international head and neck cancer epidemiology (INHANCE) Consortium.

Eur J Epidemiol. 2011 Aug;26(8):619-628

Peters S, Portengen L, Bonassi S, Sram R, Vermeulen R.

Intra- and interindividual variability in lymphocyte chromosomal aberrations: implications for cancer risk assessment.

Am J Epidemiol. 2011 Aug 15;174(4):490-493

Petrucci G, De Cristofaro R, Rutella S, Ranelletti FO, Pocaterra D, Lancellotti S, Habib A, Patrono C, Rocca B.

Prostaglandin E2 differentially modulates human platelet function through the EP2 and EP3 receptors.

J Pharmacol Exp Ther. 2011 Feb;336(2):391-402

Ramella S, Trodella L, Ippolito E, Fiore M, Cellini F, Stimato G, Gaudino D, Greco C, Ramponi S, Cammilluzzi E, Cesarini C, Piermattei A, Cesario A, D'Angelillo RM.

Whole breast irradiation: a subgroup analysis of criteria to stratify for prone position treatment.

Med. Dos. 2011 Dec 21 [Epub ahead of print]

Rossi A, Centanni S, Cerveri I, Gulotta C, Foresi A, Cazzola M, Brusasco V.

Acute effects of indacaterol on lung hyperinflation in moderate COPD: A comparison with tiotropium.

Respir Med. 2011 Oct 27. [Epub ahead of print]

Russo P, Nastrucci C, Cesario A.

From the Sea to Anticancer Therapy.

Curr Med Chem. 2011;18(23):3551-3562

Russo P, Cesario A, Rutella S, Veronesi G, Spaggiari L, Galetta D, Margaritora S, Granone PL, Greenberg DS.

Impact of genetic variability in nicotinic acetylcholine receptors on nicotine addiction and smoking cessation treatment.

Current Medicinal Chemistry 2011;18(1):91-112

Rutella S, Fiorino G, Vetrano S, Correale C, Spinelli A, Pagano N, Arena V, Maggiano N, Repici A, Malesci A, Danese S.

Infliximab therapy inhibits inflammation-induced angiogenesis in the mucosa of patients with Crohn's disease.

Am J Gastroenterol. 2011 Apr;106(4):762-770

Rutella S, Vetrano S, Correale C, Graziani C, Sturm A, Spinelli A, De Cristofaro R, Repici A, Malesci A, Danese S.

Enhanced platelet adhesion induces angiogenesis in intestinal inflammation and inflammatory bowel disease microvasculature.

J Cell Mol Med. 2011 Mar;15(3):625-634

Rutella S.

IDO1, Cancer and Cancer-Associated Inflammation.

Curr Med Chem. 2011;18(15):2204

Scaruffi P, Morandi F, Gallo F, Stigliani S, Parodi S, Moretti S, Bonassi S, Fardin P, Garaventa A, Zanazzo G, Pistoia V, Tonini GP, Corrias MV.

Bone marrow of neuroblastoma patients shows downregulation of CXCL12 expression and presence of IFN signature.

Pediatr Blood Cancer. 2011 Oct 12. [Epub ahead of print]

Simone B, De Feo E, Nicolotti N, Ricciardi W, Boccia S.

Quality evaluation of guidelines on genetic screening, surveillance and management of hereditary colorectal cancer.

Eur J Public Health. 2011 Dec 2. [Epub ahead of print]

Straface G, Biscetti F, Pitocco D, Bertolotti G, Misuraca M, Vincenzoni C, Snider F, Arena V, Stigliano E, Angelini F, Iuliano L, Boccia S, de Waure C, Giacchi F, Ghirlanda G, Flex A.

Assessment of the genetic effects of polymorphisms in the osteoprotegerin gene, TNFRSF11B, on serum osteoprotegerin levels and carotid plaque vulnerability.

Stroke. 2011 Nov;42(11):3022-3028

Ugolini D, Neri M, Cesario A, Bonassi S, Milazzo D, Bennati L, Lapenna LM, Pasqualetti P.

Scientific production in cancer rehabilitation grows higher: a bibliometric analysis.

Support Care Cancer. 2011 Sep 1. [Epub ahead of print]

van Leeuwen DM, Pedersen M, Knudsen LE, Bonassi S, Fenech M, Kleinjans JC, Jennen DG.

Transcriptomic network analysis of micronuclei-related genes: a case study.

Mutagenesis. 2011 Jan;26(1):27-32

LINEA 4 - LE DISABILITÀ DELLO SVILUPPO E NEURORIABILITAZIONE PEDIATRICA

AREA DI RICERCA DISABILITÀ DELLO SVILUPPO

Camerota F, Galli M, Celletti C, Vimercati S, Cimolin V, Tenore N, Filippi GM, Albertini G.

Quantitative effects of repeated muscle vibra-

tions on gait pattern in a 5-year-old child with cerebral palsy.

Case Report Med. 2011; 2011:359126

Capodaglio P, Cimolin V, Vismara L, Grugni G, Parisio C, Sibilio O, Galli M.

Postural adaptations to long-term training in Prader-Willi patients.

J Neuroeng Rehabil. 2011; 8: 26

Capodaglio P, Menegoni F, Vismara L, Cimolin V, Grugni G, Galli M.

Characterisation of balance capacity in Prader-Willi patients.

Res Dev Disabil. 2011; 32 (1):81-6

Celletti C, Castori M, Galli M, Rigoldi C, Grammatico P, Albertini G, Camerota F.

Evaluation of balance and improvement of proprioception by repetitive muscle vibration in a 15-year-old girl with joint hypermobility syndrome.

Arthritis Care Res (Hoboken). 2011 May;63(5):775-779

Cimolin V, Beretta E, Piccinini L, Turconi AC, Locatelli F, Galli M, Strazzer S.

Constraint-induced movement therapy for children with hemiplegia after traumatic brain injury: a quantitative study.

J Head Trauma Rehabil. 2011 Apr 25 [Epub ahead of print]

Cimolin V, Galli M, Grugni G, Vismara L, Precilios H, Albertini G, Rigoldi C, Capodaglio P.

Postural strategies in Prader-Willi and Down syndrome patients.

Res Dev Disabil. 2011 Mar-Apr;32(2):669-673

Cimolin, Galli M, Rigoldi C, Grugni G, Vismara L, Mainardi L, Capodaglio P.

Fractal dimension approach in postural control of subjects with Prader-Willi Syndrome.

J Neuroeng Rehabil. 2011; 8 (1): 45

Cimolin V, Galli M, Vimercati SL, Albertini G.

Use of the Gait Deviation Index for the assessment of gastrocnemius fascia lengthening in children with Cerebral Palsy.

Res Dev Disabil. 2011 Jan-Feb;32(1):377-381

Cimolin V, Galli M, Vismara L, Grugni G, Camerota F, Celletti C, Albertini G, Rigoldi C, Capodaglio P.

Gait pattern in two rare genetic conditions characterized by muscular hypotonia: Ehlers-Danlos and Prader-Willi syndrome.

Res Dev Disabil. 2011 Sep-Oct;32(5):1722-1728

Cimolin V, Galli M, Vismara L, Grugni G, Priano L, Capodoglio P.

The effect of vision on postural strategies in Prader-Willi patients.

Res Dev Disabil. 2011 Apr 29

Cimolin V, Piccinini L, Portinaro N, Turconi AC, Albonico S, Crivellini M, Galli M.

The effects of femoral derotation osteotomy in cerebral palsy: a kinematic and kinetic study.

Hip Int. 2011; 21 (6): 657-664

Cimolin V, Vismara L, Galli M, Zaina F, Negrini S, Capodoglio P.

Effects of obesity and chronic low back pain on gait.

J Neuroeng Rehabil. 2011 Sep 26;8:55

Galli M, Cimolin V, Crugnola V, Priano L, Menegoni F, Trotti C, Milano E, Mauro A.

Gait pattern in myotonic dystrophy (Steinert disease): A kinematic, kinetic and EMG evaluation using 3D gait analysis.

J Neurol Sci. 2011 Nov 24. [Epub ahead of print]

Galli M, Cimolin V, Rigoldi C, Castori M, Celletti C, Albertini G, Camerota F.

Gait strategy in patients with Ehlers-Danlos syndrome hypermobility type: A kinematic and kinetic evaluation using 3D gait analysis.

Res Dev Disabil. 2011 Sep-Oct;32(5):1663-1668

Galli M, Cimolin V, Vismara L, Grugni G, Camerota F, Celletti C, Albertini G, Rigoldi C, Capodaglio P.

The effects of muscle hypotonia and weakness on balance: A study on Prader-Willi and Ehlers-Danlos syndrome patients.

Res Dev Disabil. 2011 May-Jun;32(3):1117-11121

Galli M, Rigoldi C, Celletti C, Mainardi L, Tenore N,

Albertini G, Camerota F.

Postural analysis in time and frequency domains in patients with Ehlers-Danlos syndrome.

Res Dev Disabil. 2011 Jan-Feb;32(1):322-325

Galli M, Vimercati SL, Stella G, Chiazzo G, Norveti F, Onnis F, Rigoldi C, Albertini G.

A new approach for the quantitative evaluation of drawings in children with learning disabilities.

Res Dev Disabil. 2011; 32 (3): 1004-1010

Menegoni F, Tacchini E, Vismara L, Priano L, Galli M, Capodoglio P.

Mechanisms underlying centre of pressure displacements in obese subjects during quiet stance.

J Neuroeng Rehabil. 2011 Apr 22;8:20

Piccinini L, Cimolin V, D'Angelo MG, Turconi AC, Crivellini M, Galli M.

3D gait analysis in patients with hereditary spastic paraparesis and spastic diplegia: a kinematic, kinetic and EMG comparison.

Eur J Paediatr Neurol. 2011; 15 (2): 138-145

Rigoldi C, Galli M, Albertini G.

Gait development during lifespan in subjects with Down syndrome.

Res Dev Disabil. 2011 Jan-Feb;32(1):158-163

Rigoldi C, Galli M, Mainardi L, Crivellini M, Albertini G.

Postural control in children, teenagers and adults with Down syndrome.

Res Dev Disabil. 2011 Jan-Feb;32(1):170-175

Brunamonti E, Pani P, Papazachariadis O, Onorati P, Albertini G, Ferraina S,

Cognitive control of movement in Down syndrome.

Res Dev Disabil. 2011 Sep-Oct;32(5):1792-1797

Galli M, Cimolin V, Crivellino M, Romkes J, Albertini G, Brunner R.

Quantification of upper limb motion during gait in children with Cerebral Palsy.

J Dev Phys Disabil 2011; DOI 10.1007/s10882-011-9250-4

Galli M, Ferrario D, Patti P, Freedland R, Cimolin V,

Gavin M, Velinov MT, Heaney G, Brown WT, Albertini G.

The use of 3d motion analysis in a patient with an atypical juvenile neuronal ceroid lipofuscinoses phenotype with CLN1 mutation and deficient PPT activity.

J Dev Phys Disabil 2011 in press

Cimolin C, Galli M, Albertini G, Crivellino M, Romkes J, Brunner R.

Quantitative analysis of upper limbs during gait: a marker set protocol.

Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics 2011 in press

Galli M, Cimolin V, Vimercati S, Albertini G, Brunner R.

Quantification of patellar tendon shortening in a patient with Cerebral Palsy.

Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics 2011 in press

Molteni E, Cimolin V, Preatoni E, Rodano R, Galli M, Bianchi AM.

Towards the establishment of a biomarker of motor adaptation: integration of kinematic and neural factors.

IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering 2011 in press

Vimercati S, Rigoldi C, Albertini G, Crivellini M, Galli M.

Quantitative evaluation of facial movement and morphology

Ann Otol, Rhinol Laryngol 2011 in press

Kida E, Walus M, Jarzbek K, Palmieriello S, Albertini G, Rabe A, Hwang YW, Golabek AA

Form of dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation-regulated kinase 1A nonphosphorylated at tyrosine 145 and 147 is enriched in the nuclei of astroglial cells, adult hippocampal progenitors, and some cholinergic axon terminals.

Neuroscience. 2011 Nov 10;195:112-27

AREA DI RICERCA DIAGNOSTICA PER IMMAGINI

Romano A, Rossi Espagnet MC, Calabria LF, Coppola V, Figà Talamanca L, Cipriani V, Minniti G, Pierallini A, Fantozzi LM, Bozzao A.

Clinical applications of dynamic susceptibility contrast perfusion-weighted MR imaging in brain tumours

Radiol Med. 2011 Sep 2. [Epub ahead of print]

Romano A, D'Andrea G, Calabria LF, Coppola V, Espagnet CR, Pierallini A, Ferrante L, Fantozzi L, Bozzao A.

Pre- and intraoperative tractographic evaluation of corticospinal tract shift.

Neurosurgery. 2011 Sep;69(3):696-704

LINEA 5 - MODELLI ORGANIZZATIVI E GESTIONALI DELLE DISABILITÀ IN RIABILITAZIONE

PUBBLICAZIONI su riviste senza Impact Factor

Aquilano K, Baldelli S, Ciriolo MR.

Glutathione is a crucial guardian of protein integrity in the brain upon nitric oxide imbalance.

Commun & Integr Biol. 2011, 4: 477- 479

Lizio R, Vecchio F, Frisoni GB, Ferri R, Rodriguez G, Babiloni C.

Electroencephalographic rhythms in Alzheimer's disease.

Int J Alzheimers Dis. 2011;2011:927573

von Haehling S, Jankowska EA, Ponikowski P, Anker SD.

Anemia in heart failure: an overview of current concepts.

Future Cardiol. 2011 Jan;7(1):119-129

Raja M, Azzoni A, Frustaci A.

Autism spectrum disorders and suicidality.

Clinical Practice & Epidemiology in Mental Health 2011 Mar 30;7:97-105

Metta V, Logishetty K, Martinez-Martin P, Gage HM, Schartau PE, Kaluarachchi TK, Martin A, Odin P, Barone P, Stocchi F, Antonini A, Chaudhuri KR.

The possible clinical predictors of fatigue in Parkinson's disease: a study of 135 patients as part of international nonmotor scale validation project.

Parkinsons Dis. 2011;2011:125271

Palmirotta R, Ludovici G, De Marchis ML, Savonarola A, Leone B, Spila A, De Angelis F, Della-Morte D, Ferroni P, Guadagni F.

Pre-Analytical Procedures for DNA Studies: The Experience of the Interinstitutional Multidisciplinary Biobank (BioBIM) and review of the literature.

Biopreservation & Biobanking, 2011, 9:35-45

Ferroni P, Martini F, Portarena I, Grenga I, Riondino S, La Farina F, Laudisi A, Roselli M, Guadagni F.

An APC-dependent thrombin generation assay predicts chemotherapy-associated venous thromboembolism in cancer patients.

Thromb Haemost, 2011,105:931-932

LIBRI -CAPITOLI DI LIBRI

Cesario A ed. **Cancer Systems Biology, Bioinformatics and Medicine: Research and Clinical Applications.** Springer Verlag 2011.

Peluso I, Miglio C, Morabito G, Ioannone F, Serafini M. **Flavonoids and immune function.** Accepted for publication Book chapter in Diet, immunity and inflammation Edited by Philip C. Calder, University of Southampton and Parveen Yaqoob, University of Reading.

Russo P, et al. **Drug in nicotine addiction treatment.** In: Pharmacotherapy ISBN 979-953-307-316-2.

Fini M, Giaquinto S. **La riabilitazione neurologica.** In: Enciclopedia Treccani 2010 (in stampa)

PARTECIPAZIONI A CONGRESSI NAZIONALI ED INTERNAZIONALI

Stocchi F. Convegno Sclerosi Laterale Amiotrofica: solidarietà, impegno, credibilità: **“È possibile modificare il corso della malattia?”**, Rieti, Gennaio 2011

Stocchi F. A2a Mechanism Scientific Input Engagement: **“Neuroprotection presentation: Current state of srt of clinical trials”**, Pennsylvania, USA, Febbraio 2011

Stocchi F. Convegno Attualità clinico-terapeutiche nella Malattia di Parkinson: **“Razionale scientifico ed applicabilità clinica della stimolazione dopaminergica continua”**, Azienda S. Maria della Misericordia, Udine, Febbraio 2011

Stocchi F. Corso di aggiornamento Pianeta Parkinson; intervento: **“Terapia farmacologica”**, Presidio di riabilitazione ASL di Brindisi, Fondazione San Raffaele Ceglie Messapica (BR), Febbraio 2011

Barbanti P. Bologna Cefalea 2001: **“Emicrania: aggiornamento sul trattamento acuto e preventivo”**, Bologna, Febbraio 2011

Stocchi F. The 10th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases AD/PD 2011: **“New players in the treatment of Parkinson's Disease”**, Barcellona, Marzo 2011

Stocchi F. La Malattia di Parkinson: prospettive e aspettative: **“La terapia farmacologica”**, Senato della Repubblica, Roma, Marzo 2011

Stocchi F. Aggiornamenti in Neurologia: **“Evoluzione delle strategie terapeutiche nella storia della Malattia di Parkinson”**, S. Maria di Leuca, Marzo 2011

Fini M, Dal laboratorio alla clinica: **“Approccio integrato al paziente complesso: la sfida del futuro”**, Milano, Marzo 2011

Palmirotta R. “La piattaforma tecnologica italiana (PTI) Roma Biotech (RO.BIO.): **“Utilità delle biobanche per lo sviluppo innovativo ed effi-**

ciente delle aree territoriali di riferimento del Sistema Produttivo Locale (SPL) “Chimico - Farmaceutico”, Roma, Marzo 2011

Cardinale A, Racaniello M, Saladini S, De Chiara G, de Stefano M. C., Mollinari C, Merlo D. the 10th International conference on Alzheimer's and Parkinson's diseases AD/PD 2011: **“Sublethal doses of ?-amyloid peptide abrogate DNA-PK activity”**, Barcellona, Spagna, Marzo, 2011

Rosano G. Congresso EuroPREvent: Relatore dell'intervento **“Management of heart rate in coronary artery disease”** Ginevra, Svizzera, 14-16 Aprile 2011.

Fini M, Geriatria: la faccia nascosta della luna. Controversie in temi ed approcci metodologici al paziente geriatrico: **“L'anziano tra EBM e linee guida”**, Potenza, Aprile 2011

Stocchi F. Global Parkinson's disease - Export Meeting, membro Comitato organizzatore, Presentazione e benvenuto, Città del Vaticano, Aprile 2011

Stocchi F. International Consensus Conference on Neuroprotection in Parkinson's Disease, membro Comitato organizzatore, Presentazione, Casina Pio IV, Città del Vaticano, Aprile 2011

Stocchi F. XI Congresso Nazionale Parkinson Italia, Giornata Mondiale del Parkinson - Parkinson: La forza dell'alleanza tra scienza e società: **“Quali novità su Levodopa. I-MAO B, COMT inibitori”**, Grosseto, Aprile 2011

Stocchi F. 11° Congresso Nazionale - Paziente psicogeriatrico e medicina della complessità: **“La malattia di Parkinson: quale specificità nell'anziano. La terapia.”**, Gardone Riviera (BS), Aprile 2011

Stocchi F. L'Evoluzione delle cure nella Malattia di Parkinson: **“Open discussion sulla terapia di combinazione con levodopa”**, Roma, Aprile 2011

Stocchi F. Taiwan Parkinson's Disease Summit -

The Treatment for Parkinson's Disease: Conventional and Future: **"A Way toward ideal PD treatment: Prolonged release Dopamine Agonist"**, Maggio 2011

Stocchi F. Hong Kong Movement Disorder Society: **"Management of Motor Fluctuation and Dyskinesia in Parkinson's Disease"**, Hong Kong, Maggio 2011

Stocchi F. Temporal and Temporal plus Epilepsies. Challenges in movement disorders treatment - First International School of Epilepsy and Movement Disorders: **"Overview of current treatment options for movement disorders"**, Dubrovnik, Maggio 2011

Stocchi F. Venticinque anni di geriatria ospedaliera al servizio degli anziani - Società Italiana Geriatri Ospedalieri (S.I.G.Os): **"Gestione del paziente demente con Parkinson"**, Città del Vaticano, Roma, Maggio 2011

Stocchi F. Inquadramento e gestione degli aspetti non motori della Malattia di Parkinson: **"Rilevanza dei sintomi non motori della Malattia di Parkinson"**, Policlinico Vittorio Emanuele, Catania, Maggio 2011

Stocchi F. Malattia di Parkinson: attualità, progetti, speranze - Associazione Italiana Parkinson: **"Il futuro della terapia farmacologica"**, Roma, Maggio 2011

Sale P. XI Congresso Nazionale Società Italiana di Riabilitazione Neurologica - SIRN: **"Tecnologie innovative nella riabilitazione funzionale dell'arto superiore"**, Verona, Maggio 2011

Sale P. XI Congresso Nazionale Società Italiana di Riabilitazione Neurologica - SIRN: **"Riabilitazione robotica dell'arto superiore con sistemi InMotion in pazienti cerebrolesi"**, Verona, Maggio 2011

Franceschini M. XI Congresso Nazionale Società Italiana di Riabilitazione Neurologica - SIRN: **"REo Therapy: apprendimento temporaneo o a lungo termine? Esperienza clinica"**,

Verona, Maggio 2011

Sale P, Palma E, Rossini L, Del Percio C, Lizio R, Infarinato F, Pucello A, Babiloni C, Foti C., Franceschini M. XI Congresso Nazionale Società Italiana di Riabilitazione Neurologica - SIRN: **"Analisi dei fenomeni di plasticità neuronale e dell'accoppiamento funzionale cortico-muscolare associato ad un protocollo terapeutico robot-assistito per gli arti superiori: uno studio EEG in pazienti colpiti da stroke prima e dopo la terapia riabilitativa robotica"**, Verona, Maggio 2011

Sale P, Le Pera D, Semprini R, Palma E, Pucello A, Mazzoleni S, Carrozza M, Stocchi F, Franceschini M. XI Congresso Nazionale Società Italiana di Riabilitazione Neurologica - SIRN: **"Robot per l'arto superiore e malattia di Parkinson. Possibile utilizzo come trattamento riabilitativo e/o sistema valutativo"**, Verona, Maggio 2011

Rosano G. ESC Congress Heart Failure: **"CAR-VIVA-HF"**, Goteborg, Svezia, maggio 2011

Rossini L. XI Congresso Nazionale Società Italiana di Riabilitazione Neurologica - SIRN: **"Tecnologie robotiche per il re-learning neuromotorio"**, Verona, Maggio 2011

Barbanti P. LI Congresso Nazionale SNO (Scienze Neurologiche Ospedaliere): **"Epilessia ed Eemicrania: diagnosi differenziale e condizioni di confine"**, Cagliari, Maggio 2011

Barbanti P. 7th International Headache Seminar, Focus on Headaches: Update and upcoming developments: **"Migraine prophylaxis: what we need and what is new"**, Stresa, Maggio 2011

Palma E, Barbanti P. LI Congresso Nazionale SNO (Scienze Neurologiche Ospedaliere): **"Epilessia ed Eemicrania: diagnosi differenziale e condizioni di confine"**, Cagliari, Maggio 2011

Barbanti P. 7th International Headache Seminar, Focus on Headaches: Update and upcoming developments: **"Migraine prophylaxis: what we need and what is new"**, Stresa, Maggio 2011

Aurilia C., Vanacore N., Egeo G., Fofi L., Barbanti P. 7th International Headache Seminary. Focus on Headaches: Update and upcoming developments. Poster: **“A case-control study on excessive daytime sleepiness in chronic migraine”** Stresa, Maggio, 2011

Fini M, Il dolore in geriatria: la gestione a domicilio, in residenza e in hospice: **“IMPACT, la gestione del dolore”**, Verona, Maggio 2011

Guadagni F, Palmirotta R, Ludovici G, De Marchis M L, Savonarola A, Leone B, Spila A, Somma P, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Barbanti P. 7th International Headache Seminary. Focus on Headaches: Update and upcoming developments. Poster: **“Establishment of a biorepository for migraine research: the experience of Interinstitutional Multidisciplinary BioBank (BioBIM)”**, Stresa, Maggio, 2011

Nanni U, Spila A, Valente MG, Somma P, Iacoboni M, Alessandrini J, Ferroni P, Roselli M, Guadagni F. International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER) Poster: **“RFID as a new ICT tool to monitor specimen life cycle and quality control in a biobank”**. 2011 Annual Meeting, Arlington, VA, USA, Maggio, 2011

Guadagni F, Betsou F, Nanni U. International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER) 2011 Annual Meeting. Poster: **“A software tool for labeling with the Standard PREanalytical Code (SPREC): effective exchanging and searching specimens”**, Arlington, VA, USA, Maggio, 2011

Guadagni F, Palmirotta R, Ludovici G, De Marchis ML, Savonarola A, Leone B, Spila A, Somma P, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Barbanti P. 7th International Headache Seminar - Focus on Headaches: Update and upcoming developments: **“Establishment of a biorepository for migraine research: the experience of Interinstitutional Multidisciplinary BioBank (BioBIM)”**, Stresa (VB), Maggio, 2011. *Neurol Sci* 2011;32(suppl 1): S204.

Guadagni F. Primo Congresso internazionale

Biomatchoral: “L’innovazione Tecnologica nelle bio e nanotecnologie in odontoiatria: il ruolo di un parco scientifico e tecnologico”: **“Ruolo delle Biobanche in un Parco Scientifico”**, Rieti, Maggio 2011

Riondino S. PIASTRINE 2011, Terzo Corso Nazionale di aggiornamento: **“Marcatori di attivazione piastrinica in vivo”**, Milano, Maggio 2011

Sansone L, Reali V, Aventaggiato M, Pellegrini L, Tafani M, Marfe G, Fini M, Russo MA, Pucci B. XI Congresso EFRR: **“Role of IGF-1 and SIRT1 in neuronal differentiation and cell death of NG108-15 cells”**, Riva del Garda, Maggio 2011

Villanova L, Pellegrini L, Pucci B, Marfe G, Banfi G, Polletta L, Fini M, Tafani M, Russo MA, XI Congresso EFRR: **“Increased sirtuins activity in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from trained athletes”**, Riva del Garda, Maggio 2011

Bonassi S. International conference on: Nanomaterials: Risk perception and early warning systems: **“Molecular epidemiology in Human biomonitoring studies”**, Berlino, Maggio 2011

Cardaci V. Hot Topics In Pneumologia: **“BPCO e Disfunzione Erettile”**, Roma, Maggio 2011

Smargiassi A. III Incontro interdisciplinare di medicina respiratoria: **“Semeiotica ecografia e stato dell’arte nella gestione del paziente critico”**, Pescara, Giugno 2011

Guadagni F. Convegno “Il mondo Cartesiano e il mondo Olistico a confronto”: **“Le biobanche: una risorsa per il futuro della ricerca biomedica”**, Roma, Giugno 2011

Osini L, Del Percio C, Assenza G, Lizio R, Infarinato F, Pucello A, Quattrocchi CC, Vernieri F, Zollo L, Guglielmelli E, Bovolenta F, Rossini PM, Babiloni C, Franceschini M, Sale P. 14th European congress on Clinical Neurophysiology - 4th International Conference on Transcranial Magnetic and Direct Current

Stimulation: **“Robot-aided therapy for upper limbs in patient with chronic stroke-related lesions. Brief report of a clinical experience”**, Roma, Giugno 2011

Franceschini M., Sale P. Società Italiana di Riabilitazione Neurologica (SIRN) -Scuola di Formazione “Motor-Learning and re-learning: esercizio, immaginazione e motivazione”: **“Ricerca traslazionale: Efficacia di paradigmi di action observation nel recupero motorio”**, Ancona, Giugno 2011

Benvenuto A, Rossini L, Di Pino G, Raspopovic S, Micera S, Guglielmelli E, Rossini PM. Società Italiana di Riabilitazione Neurologica (SIRN) - Scuola di Formazione “Motor-Learning and re-learning: esercizio, immaginazione e motivazione”: **“Peripheral neural electrodes for natural biofeedback: a comparative analysis”**, Ancona, Giugno 2011

Rossini L, Salerno A, Zollo L, Guglielmelli E. Società Italiana di Riabilitazione Neurologica (SIRN) - Scuola di Formazione “Motor-Learning and re-learning: esercizio, immaginazione e motivazione”: **“Human movement decomposition into submovements for robot control in neuro-rehabilitation”**, Ancona, Giugno 2011

Zollo L, Rossini L, Gallotta E, Sterzi S, Guglielmelli E. Società Italiana di Riabilitazione Neurologica (SIRN) - Scuola di Formazione “Motor-Learning and re-learning: esercizio, immaginazione e motivazione”: **“Robot-based assessment of upper-limb motor control in chronic stroke”**, Ancona, Giugno 2011

Barbanti P. Migraine Management Meeting, **“Il danno tessutale nelle cefalee croniche”**, Roma, Giugno 2011

Stocchi Fini M, La sanità nei prossimi anni SANIT 2011: **“Le risorse da valorizzare”**, Roma, Giugno 2011

Guadagni F, Palmirotta R, Ludovici G, De Marchis M L, Savonarola A, Leone B, Spila A, De Angelis F, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Barbanti P. 15th Congress of the International Headache

Society. Poster: **“The Interinstitutional Multidisciplinary BioBank (BioBIM): The establishment of a biorepository for migraine research”**, Berlino, Giugno 2011

Fofi L, Orlandi V, Vanacore N, Tizzoni M C Rosa A, Aurilia C, Egeo G, Casella P, Barbanti P. 15th Congress of the International Headache Society. Poster: **“Headache frequency and characteristics in chronic cocaine users: a cross sectional study”**, Berlino, Giugno 2011

Barbanti P, Fofi L, Dall’Armi V, Aurilia C, Egeo G, Vanacore N, Bonassi S. 15th Congress of the International Headache Society. Poster: **“Rizatriptan in migraineurs with unilateral cranial autonomic symptoms: a double-blind trial”**, Berlino, Giugno 2011.

Ciriolo M R. Dottorato di Ricerca in Biologia e Patologia dell’Invecchiamento: **“Basic (anti)oxidants mechanisms behind the health benefits of polyphenols”**, Genova, Giugno 2011

Pagliei B, Aquilano K, Balzelli S, Ciriolo M R. 36th FEBS Congress: **“PGC-1 alpha and SIRT1 localization within mitochondria: an adaptive response to energetic demand?”**, Torino, Giugno 2011

Desideri E, Filomeni G, Cardaci S, Ciriolo MR. 36th FEBS Congress **“AMPK/p53 signaling axis mediates autophagy in HeLa cells upon kaempferol-induced energetic failure”**, Torino, Giugno 2011

Rizza S, Montagna C, Cardaci S, Di Giacomo G, Circolo MR, Filomeni G. 36th FEBS Congress: **“Downregulation of S-nitrosoglutathione reductase induces neuroprotection in experimental models of Parkinson’s disease”**, Torino, Giugno 2011

Guadagni F, Palmirotta R, Ludovici G, De Marchis ML, Savonarola A, Leone B, Spila A, De Angelis F, Egeo G, Aurilia C, Fofi L, Barbanti P. 15th Congress of the International Headache Society **“The Interinstitutional Multidisciplinary BioBank (BioBIM): the establishment of a biorepository for migraine**

research", Berlin, Germany, Giugno 2011, Cephalalgia 2011;31(Suppl. 1):24

Piacentini R, Ripoli C, Civitelli L, Marcocci ME, De Chiara G, Palamara AT, Grassi C. 14th European Congress on Clinical Neurophysiology (ECCN): **"Herpes Simplex Virus type 1 (HSV-1) increases the excitability of rat neocortical neurons and triggers amyloid precursor protein (APP) processing"**, Roma, Giugno 2011

Lizio R, Babiloni C, Carducci F, Vecchio F, Baglieri A, Bernardini S, Boccardi M, Bozzao A, Buttinelli C, Esposito F, Giubilei F, Guizzaro A, Marino S, Montella P, Quattrocchi C, Redolfi A, Soricelli A, Tedeschi G, Ferri R, Triggiani AI, Rossi-Fedele G, Parisi L, Verzieri F, Rossini PM, Frisoni GB. 14th European Congress on Clinical Neurophysiology (ECCN) and 4th International Conference on Transcranial Magnetic and Direct Current Stimulation: **"Resting state cortical electroencephalographic rhythms are related to gray matter volume in subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an ADNI project"**, Roma, Giugno 2011

Palma E, Rossini L, Del Percio C, Assenza G, Lizio R, Infarinato F, Pucello A, Quattrocchi CC, Vernieri F, Zollo L, Guglielmelli E, Bovolenta F, Rossini PM, Babiloni C, Franceschini M, Sale P. 14th European Congress on Clinical Neurophysiology (ECCN) and 4th International Conference on Transcranial Magnetic and Direct Current Stimulation: **"Robot-aided therapy for upper limbs in patient with chronic stroke-related lesions. Brief report of a clinical experience"**, Roma, Giugno 2011

Rosano G. the 26th Annual Caribbean Cardiology Conference. The Caribbean Cardiac Society: **"How to implement guidelines in patients with heart failure"** Trinidad, Caraibi, Luglio 2011

Piacentini R, Ripoli C, Civitelli L, Marcocci ME, De Chiara G, Palamara AT, Grassi C. 8th World Congress of Neuroscience (International Brain Research Organization). **"Herpes Simplex Virus type 1 (HSV-1) increases the excitability of rat neocortical neurons and triggers amyloid pre-**

cursor protein (APP) processing", Firenze, Luglio 2011

Fini M, Workshop IMPACT 2011: **"Oppioidi e anziano complesso: un documento del GWG"**, Firenze, Luglio 2011

Palma E, Conti L, Roseti C, Cipriani R, Lauro C, Aronica E and Limatola C. WONOEP: **"Anomalous levels of Cl- transporters cause a decrease of GABAergic inhibition in human peritumoral epileptic cortex"**, Grottaferrata (Rm), Agosto 2011

F. Pasado, presente y futuro en el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas - 1er Stand Alone TEVA - Accademia Mexicana de Neurologia, A. C. **"Rasagilina y efecto modificador del curso de la enfermedad de Parkinson: lecciones del ADAGIO"**, Puerto Vallarta, Agosto 2011

Russo P. Third International Symposium on non-neuronal acetylcholine: **"Nicotinic receptors and tobacco-related cancers"**, Groningen, Agosto, 2011

Palma E, Conti L, Roseti C, Cipriani R, Lauro C, De Groot M, Aronica E, Limatola C. Epilepsy Congress (ILAE) 29^o International: **"Altered expression of Cl- transporters in tumour-related epilepsies"**, Rome, Settembre 2011

Stocchi F. 15th Congress of the European Federation of Neurological Societies: **"Optimising current therapy in the management of PD"**, Budapest, Settembre 2011

Stocchi F. International Meeting - Non Motor Symptoms in PD: a new look. Meeting of the Parkinson's Disease Non Motor Group: **"Gastrointestinal dysfunction in PD"**, Roma - Palazzo Marini, Settembre 2011

Barbanti P. TACs ed altre cefalee primarie: il trattamento farmacologico: **"Le cefalee: dall'impatto sulla popolazione generale al trattamento individualizzato del singolo paziente"**, Roma, Settembre 2011

Ferroni P, La Farina F, Mariotti S, Retrosi C,

Riondino S, Martini F, Massimiani G, Portarena I, Guadagni F, Roselli M. The 2011 European Multidisciplinary Cancer Congress: **“High-sensitive D-dimer determination for the prediction of chemotherapy-associated venous thromboembolism in lung cancer patients”**, Stockholm, Svezia, Settembre, Eur J Cancer 2011;47(S1):S125.

di Bari M, Spila A, Arlen PM, Bristol JA, Roselli M, Guadagni F. Poster: **“Use of two novel antibodies that detect tumor-specific antigens for the detection of colorectal cancer”**. J Clin Oncol 2011; 29 (suppl; abstr e21082).

Formica V, Grenga I, Tesauro M, Cereda V, Di Bari MG, Guadagni F, Roselli M. **“Metabolic Syndrome (MetS) in Metastatic (m)Colorectal Cancer (CRC) Patients Might Delay the Onset of Cachexia”**, Eur J Cancer 2011; 47(S1): S241.

Fini M, I Congresso Progressi in Medicina Fisica e Riabilitativa: **“Il futuro della ricerca in Riabilitazione”**, Abano Terme, Settembre 2011

Guadagni F. Corso teorico-pratico di Chirurgia Oncoplastica della Mammella “Carcinoma in situ”: **“Classificazione Biomolecolare”**, Roma, Settembre 2011

Morabito G, Peluso I, Moscato M, Ioannone F, Ardizzone M, Guadagni F, Serafini M. 1st International Conference on ImmunoMetabolism: Molecular and Cellular Immunology of Metabolism. Poster: **“Effect of olive oils at different antioxidant content on high fat meal-induced postprandial oxidative stress”**, Creta, Grecia, Settembre, 2011

Pellegrini L, Villanova L, Pucci B, Marfe G, Fini M, Russo MA, Tafani M. Mitochondrial Dynamics: from mechanism to disease: **“Mitochondrial sirtuin 3 (SIRT3) regulates resistance to apoptosis and necrosis in different tumor cell lines”**, Chia, Sardegna, Settembre 2011

Morabito G, Peluso I, Mscato M, Ioannone F, Ardizzone M, Guadagni F, Serafini M. 1st International Conference on ImmunoMetabolism: Molecular and Cellular

Immunology of Metabolism. Poster: **“Effect of olive oils at different antioxidant content on High Fat Meal- induced postprandial oxidative stress”**, Creta, Settembre 2011

Petroianni A, Conti V, Lemontzi E, Mininni I, Oriolo F, DALù V, Locorriere L, Terzano C. ERS Annual Congress, Poster: **“Functional effects of long term ICS treatment in controlled asthma”**, Amsterdam, Settembre 2011

Paone G, Rulli M, Leone A, Graziano P, Conti V, Cammarella I, Galluccio G, Sebastiani A, Lucantoni G, Puglisi G. ERS Annual Congress, Poster: **“Human neutrophil peptides as biomarkers for monitoring respiratory functional impairment in sarcoidosis”**, Amsterdam, Settembre 2011

Petroianni A, Conti V, Lemontzi E, Continanza G, Serao M, Halili I, Romani S, Terzano C. ERS Annual Congress, Poster: **“The burden of airway hyperresponsiveness on the control of asthma”**, Amsterdam, Settembre 2011

Paone G, Conti V, Leone A, Rulli M, Vestri A, Puglisi G, Benassi F, Cammarella I, Sebastiani A, Terzano C. ERS Annual Congress, Poster: **“Usefulness of a panel of sputum markers in the evaluation of lung inflammation and functional impairment in symptomatic smokers and COPD patients”**, Amsterdam, Settembre 2011

Petroianni A, Conti V, Giunta V, Lagalla M, Lilli M, Castagnacci A, Bevilacqua A, Kalil SK, Terzano C. ERS Annual Congress , Poster: **“Controlled asthma in atopic and non atopic patients: Is needed a different approach?”**, Amsterdam, Settembre 2011

Smargiassi A. ERS Annual Congress , Poster: **“Ex vivo lung sonography: morphological-ultrasound relationships”**, Amsterdam, Settembre 2011

Smargiassi A. ERS Annual Congress , Poster: **“Endobronchial ultrasound in the diagnosis of peripheral pulmonary lesions”**, Amsterdam, Settembre 2011

Sale P, Lizio R, Del Percio C, Pucello A, Infarinato F, Rossini L, Palma E, Franceschini M. 1st European NeuroRehabilitation Congress: **“Robot-aided therapy for upper limbs in patients with sub-acute stroke-related lesions ENRC”**, Merano, Ottobre 2011

Volterrani M. Corso SICOA (Società Italiana Cardiologia Ospedalità Accreditata) di formazione a distanza FAD: **“Novità in ambito farmacologico, in pazienti con cardiopatia ischemica e disfunzione ventricolare sx, alla luce delle recenti evidenze scientifiche”**, Roma, Ottobre 2011.

Fini M, Nuove linee di indirizzo in tema di riabilitazione: L'obeso grave come paziente ad alta complessità: **“La riabilitazione per il Paziente ad Alta Complessità”**, Milano, Ottobre 2011

Fini M, Convegno The Management of Chronicity: **“CCM e il sistema sanitario: innovazione e integrazione delle risorse sul territorio”**, Roma, Ottobre 2011

Guadagni F. ISOBM 2011 Annual Meeting: **“The relevance of biobanking and standardized pre-analytical procedures for proteomic-based biomarker discovery studies”**, Firenze, Ottobre 2011

Chirullo B, Sgarbanti R, Boe A, Norelli S, Biffoni M, Pelosi E, Garaci E, Palamara AT, Savarino A. 39° Congresso SIM (Società Italiana di Microbiologia): **“L'induzione di stress ossidativo induce apoptosi nei linfociti T CD4+ della memoria a lunga emivita”**, Riccione, Ottobre 2011

Volterrani M. Convegno GICR-IACPR “La sostenibile leggerezza della cardiologia riabilitativa e preventiva. Dalla prevenzione primaria alla riabilitazione intensiva”: **“Documento di indirizzo e Quaderno di riabilitazione del Ministero”**, Venezia, Ottobre 2011

Marazzi G. Partecipazione al Corso SICOA (Società Italiana Cardiologia Ospedalità Accreditata) di formazione a distanza FAD: **“Novità in ambito farmacologico, in pazienti con cardiopatia ischemica e disfunzione ven-**

tricolare sx, alla luce delle recenti evidenze scientifiche”, Roma, Ottobre 2011

Rosano G. Partecipazione al Corso SICOA (Società Italiana Cardiologia Ospedalità Accreditata) di formazione a distanza FAD: **“Novità in ambito farmacologico, in pazienti con cardiopatia ischemica e disfunzione ventricolare sx, alla luce delle recenti evidenze scientifiche”**, Roma, Ottobre 2011

De Chiara G, Marcocci ME, Civitelli L, Piacentini R, Ripoli C, Grassi C, Garaci E, Palamara AT. 39° Congresso SIM (Società Italiana di Microbiologia): **“Ruolo delle infezioni da HSV-1 nella patogenesi della neurodegenerazione”**, Riccione, Ottobre 2011

Franceschini M, Sale P. 39 Congresso Nazionale Società Italiana di Medicina Fisica e Riabilitativa (SIMFER): **“Treadmill ed allevio di carico nella riabilitazione della persona con Ictus Cerebrale”** Reggio Calabria, Ottobre 2011

Bovolenta F, Sale P, Agosti M, Clerici P, Cavazza S, Franceschini M. ENRC 1st European NeuroRehabilitation Congress: **“Upper limb rehabilitation with a robotic system in stroke chronic patients: repetitive use and long term follow-up”**, Merano, Ottobre 2011

Sale P, Lizio R, Del Percio C, Pucello A, Infarinato F, Luca R, Enzo P, Franceschini M. ENRC 1st European NeuroRehabilitation Congress: **“Robot-aided therapy for upper limbs in patients with sub-acute stroke-related lesions”**, Merano, Ottobre 2011

Franceschini M. ENRC 1st European NeuroRehabilitation Congress: **“Robot-assisted therapy for upper limb in sub-acute stroke patients: a randomized control trial”**, Merano, Ottobre 2011

Stocchi F. XXXVIII Congresso LIMPE 2011: **“Il Parkinson come paradigma di malattia neuropsichiatria”**, Venezia Lido, Palazzo del Casinà, Ottobre 2011

Stocchi F. Terapia della Malattia di Parkinson in

fase avanzata con sistemi infusionali: Il ruolo dell'infermiere: **"Malattia di Parkinson in fase avanzata: le opzioni terapeutiche"**, Roma, Ottobre 2011

Stocchi F. XLII Congresso Nazionale Società Italiana di Neurologia: **"L'approccio terapeutico nella Malattia di Parkinson in stadio avanzato"**, Centro Congressi Lingotto, Torino, Ottobre

Stocchi F. Top Ten 2011 - Approccio clinico-terapeutico alle problematiche geriatriche per una longevità di successo: **"Parkinson e Parkinsonismi"**, Federazione Italiana di Medicina Geriatria, Roma, Ottobre 2011

Barbanti P. X Corso ASC di perfezionamento sul dolore cefalico: **"Il dolore emicranico: la terapia. Il dolore cefalico primario"**, Frascati (Rm), Novembre 2011

Fini M, MOR-NRI L'innovazione del trattamento cronico severo: **"Terapia del dolore: a che punto siamo oggi?"**, Firenze, Novembre 2011

Guadagni F. ESBB Inaugural Conference: **"Use of ICT tools to monitor and trace life cycle of a biosample"**, Marseille, Francia, Novembre 2011

Poloni F, Ashton G, Coppola D, De Souza Y, De Wilde AM, Douglas J, Eliason J, Guadagni F, Gunter E, Kofanova O, Lehmann S, Mathay C, Shea K, Sobel M, Tybring G, Zink M, Betsou F. ESBB Inaugural Conference: **"ISBER Proficiency Testing Program for Biorepositories : Pilot Results for DNA and RNA Schemes"**, Marseille, Francia, Novembre, 2011. *Biopreservation & Biobanking* 2011;9(3):309.

Muscoli C, Pucci B, Dagostino C, Lauro F, Ilari S, Tafani M, Palma E, Ventrice D, Fini M, Mollace V, Russo M, Salvemini D. Society for Neuroscience: **"Protective effects of antioxidants during acute inflammatory pain: the role NAD⁺-dependent SIRT1 deacetylase"**, Washington, Novembre 2011

Morabito G, Peluso I, Miglio C, Ioannone F, Serafini M. 10th Indo-Italian Workshop on Chemistry and Biology of Antioxidants:

"Flavonoids and immune function in humans: a systematic review", Roma, Novembre 2011

Morabito G, Peluso I, Moscato M, Ioannone F, Ardizzone M, Guadagni F, Luneia R, Serafini M. XIV Corso Nazionale ADI - Dieta mediterranea dalla prevenzione alla gestione nutrizionale in patologia. Poster: **"Effetto dell'olio d'oliva a differente concentrazione in antiossidanti sullo stress postprandiale indotto da un pasto ricco in grassi"**, Roma, Novembre 2011

Serafini M, Miglio C, Peluso I, Petrosino T, Moscato M, Morabito G. XIV Corso Nazionale ADI - Dieta mediterranea dalla prevenzione alla gestione nutrizionale in patologia. Poster: **"Modulazione nutrizionale dello stato redox nell'uomo: ruolo dei polifenoli"**, Roma, Novembre 2011

De Chiara G, Marcocci ME, Civitelli L, Piacentini R, Ripoli C, Garaci E, Grassi C, Palamara AT. Society for Neuroscience: **"HSV-1-induced APP processing triggers apoptotic cell death in rat cortical neurons"**, Washington, DC, USA, Novembre 2011

Rosano G. 2011 International Conference on Diabetes and Metabolism, Korean Diabetes Association (KDA): **"The treatment of atherogenic dyslipidemia in patients with diabetes mellitus"**, Seoul, Korea, Novembre 2011

Muscoli C, Pucci B, Dagostino C, Lauro F, Ilari S, Tafani M, Palma E, Ventrice D, Fini M, Mollace V, Russo M, Salvemini D. **"Protective effects of antioxidants during acute inflammatory pain: the role NAD⁺-dependent SIRT1 deacetylase"**, Bologna, Novembre 2011

Tolli VS, Mattei F, Leone G, Mereu ML, Bonassi S, Grenga I, Cesario A, Formica V, Roselli M. XIII Congresso Nazionale AIOM. Poster: **"Rehabilitation program for colorectal cancer (CRC) patients with oxaliplatin-induced polineuropathy"**, Bologna, Novembre 2011

Paone G, Conti V, Palermo P, Vestri A, Sebastiani A, Leone A, Puglisi G, Cammarella I, Terzano C. XLI Congresso Nazionale AIPO - XII

Congresso Nazionale UIP. Poster: **“Markers nell’espettorato e valutazione della funzionalità polmonare in soggetti fumatori sintomatici e con BPCO”**, Bologna Novembre 2011.

Cardaci V. XLI Congresso Nazionale AIPO - XII Congresso Nazionale UIP: **“Prevenzione e precoce individuazione della limitazione all’esercizio fisico nel soggetto affetto da malattie respiratorie croniche”**, Bologna, Novembre 2011

Conti V. Scuola Medica Ospedaliera: **“ Corso di Area Critica Respiratoria: Insufficienza Respiratoria acuta e cronica - aspetti teorico-pratici”**, Roma, Novembre 2011

Sale P, Franceschini M. The Society for Neuroscience 2011. Annual Meeting: **“Robot-aided therapy for upper limbs in patients with sub-acute stroke-related lesions”**, Washington DC, Novembre 2011

Fini M, XIV Convegno Nazionale Geriatrico Dottore Angelico: **“La gestione del paziente complesso”**, Frosinone, Dicembre 2011

Guadagni F. Corso di Aggiornamento “Progressi in odontoiatria: si chiude un passato, si apre un futuro”: **“Le Biobanche: il futuro della ricerca biomedica”**, Roma, Dicembre 2011

Palamara AT, Amatore D, Sgarbanti R, Aquilano K, Ciriolo MR, Garaci E, Nencioni L. 4th ESWI Influenza conference: **“Influenza virus and intracellular redox state: characterization of redox-sensitive molecular targets for innovative antiviral strategies”**, Malta, Dicembre 2011

Chirullo B, Sgarbanti R, Lewis MG, Boe A, Norelli S, Shytai IL, Biffoni M, Pelosi E, Garaci E, Palamara AT, Savarino A. 5th International Workshop on HIV Persistence & Eradication Strategies: **“Modulation of Oxidative Stress Induces Apoptosis in Long-Lived Phenotypes Ex Vivo”**, St Martin, West Indies, Dicembre 2011

Volterrani M. 72° Congresso Nazionale Società Italiana di Cardiologia: **“La prescrizione dell’esercizio fisico sul territorio: un obiettivo primario nella prevenzione cardiovascolare”**. Roma, Dicembre 2011

Volterrani M. 72° Congresso Nazionale Società Italiana di Cardiologia: **“Farmaci cardiovascolari: efficacia e tollerabilità”**, Roma, Dicembre 2011

Rosano G. 72° Congresso Nazionale Società Italiana di Cardiologia: **“I pazienti dei trial sono quelli del mondo reale?”**, Roma, Dicembre 2011

Rosano G. Global cardiovascular clinical trialists forum, CVTC: **“Atherosclerosis and lipid lowering trialists workshop”**, Parigi, Francia, Dicembre 2011

Teodori L, Coletti D, Perniconi B, Fini M, Barteri M, Albertini C, Rocchi M, Adamo S, Costa A, Halicka D, Darzynkiewicz Z. XXVI Congress of the International Society for Advancement of Cytometry: **“How to guide cell direction and orientation in skeletal muscle progenitor cells?”**, Baltimora, USA

Conti V. Dipartimento di Scienze Cardiovascolari, Respiratorie, Nefrologiche e Geriatriche, Università di Roma La Sapienza, Seminario TOP TEN 2011: **“Approccio clinico-pratico alle problematiche geriatriche per una longevità di successo: Trattamento dell’Insufficienza Respiratoria Normo e Ipercapnica”**, Roma, Dicembre 2011

Franceschini M. Robotics for rehabilitation: current impact on clinical practice and challenges for improving quality of life: **“A shared evaluation protocol for upper limb robotic rehabilitation”**, Volterra, Dicembre 2011

Sale P. Robotics for rehabilitation: current impact on clinical practice and challenges for improving quality of life: **“Ongoing research activities and future projects”**, Volterra, Dicembre 2011

Russo P. Workshop Multidisciplinare in Medicina Toracica: **“Nuove conoscenze nel mondo della biologia molecolare”**, Sesto Fiorentino, Dicembre 2011

Stocchi F. XIX Congress on Parkinson's Disease and related Disorders, “How much can we influence clinical progression of Parkinson's Disease?”; Forum “What are the pitfalls in clinical trials”: **“Premotor (Disease modifying) treatment”**, Shanghai, Dicembre 2011.

DIPARTIMENTI E AREE
DI RICERCA

Nell'ottica della ottimizzazione delle attività e delle risorse umane e tecnologiche ed in attuazione della normativa regionale per il riassetto organizzativo, nel corso del 2011 è stata implementata una nuova organizzazione dipartimentale. I Dipartimenti hanno la loro sede principale presso l'IRCCS San Raffaele Pisana e vedono una organizzazione trasmurale per garantire l'effettivo trasferimento di approcci e procedure presso le Unità operative nelle altre strutture sanitarie.

Inoltre, la presa in carico precoce del paziente critico ad alta complessità, ha richiesto l'attivazione di un Dipartimento di Cardiologia Riabilitativa e di Pneumologia Riabilitativa.

L'organizzazione dipartimentale cura la gestione dei pazienti nel suo insieme, garantendo l'integrazione multi e interprofessionale, l'innovazione assistenziale, la ricerca, la formazione e la traslazione della ricerca al letto/al domicilio del paziente.

ORGANIZZAZIONE DIPARTIMENTALE IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

DIPARTIMENTO

Dipartimento di Scienze Neurologiche, Motorie e Sensoriali

IRCCS San Raffaele Pisana
San Raffaele Portuense
San Raffaele Montecompatri
San Raffaele Cassino
San Raffaele Sulmona
Fondazione San Raffaele Ceglie Messapica

RESPONSABILE

M. Franceschini

Dipartimento di Cardiologia Riabilitativa

IRCCS San Raffaele Pisana
San Raffaele Montecompatri

M. Volterrani

Dipartimento di Pneumologia Riabilitativa

IRCCS San Raffaele Pisana
San Raffaele Montecompatri
San Raffaele Cassino

F. Pasqua

Dipartimento di Scienze delle Disabilità dello Sviluppo, Motorie e Sensoriali

IRCCS San Raffaele Pisana
San Raffaele Cassino
Villa Buon Respiro
San Raffaele Sulmona
Fondazione San Raffaele Ceglie Messapica

G. Albertini

Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche**A. Lancia**

IRCCS San Raffaele Pisana
San Raffaele Montecompatri
San Raffaele Cassino
San Raffaele Rocca di Papa

Dipartimento di Biotecnologie Avanzate e Bioimmagini**F. Guadagni***• LABORATORI*

IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

- a) Laboratorio di Emostasi e Trombosi;
- b) Laboratorio di Diagnostica e Genetica Molecolare;
- c) Laboratorio di Fisiopatologia dell'invecchiamento

SAN RAFFAELE PORTUENSE

SAN RAFFAELE MONTECOMPATRI

SAN RAFFAELE CASSINO

SAN RAFFAELE SULMONA

SAN RAFFAELE ROCCA DI PAPA

SAN RAFFAELE TERMINI

METAMEDICA

FONDAZIONE SAN RAFFAELE CEGLIE MESSAPICA

• SERVIZI DI DIAGNOSTICA PER IMMAGINI

IRCCS San Raffaele Pisana

San Raffaele Montecompatri

San Raffaele Cassino

San Raffaele Sulmona

Fondazione SR Ceglie Messapica

Per rispondere alle esigenze esistenti sul territorio e per garantire la presa in carico completa di alcuni pazienti, è stato istituito il Dipartimento Coordinamento Area socio-sanitaria che integra i percorsi assistenziali con il territorio per i pazienti ospitati nelle RSA e negli Hospice in regime residenziale e domiciliare.

ORGANIZZAZIONE DIPARTIMENTALE IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

DIPARTIMENTO

RESPONSABILE

Dipartimento Area socio - sanitaria

D. Onorati

San Raffaele Rocca di Papa
San Raffaele Montecompatri
San Raffaele Cassino
RSA Trevignano
RSA Villa Monica
RSA Sabaudia
RSA Consorzio San Raffaele
RSA Rosa del Marganai

AREE DI RICERCA IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

Le attività di ricerca prevedono una organizzazione in Aree di Ricerca supportata dall'Unità di Epidemiologia Clinica e Molecolare che mette anche a disposizione dei ricercatori un servizio di Biostatistica. Responsabile: Stefano Bonassi

AREA DI RICERCA

RESPONSABILE

Riabilitazione Neuromotoria

Marco Franceschini

Parkinson e Disturbi del Movimento

Fabrizio Stocchi

Cefalee e dolore neuropatico

Piero Barbanti

Riabilitazione Cardiovascolare - Scienze Internistiche

Giuseppe Rosano

Approcci di sistema e malattie non trasmissibili

Alfredo Cesario

Disabilità dello Sviluppo

Giorgio Albertini

Biotecnologie Avanzate

Fiorella Guadagni

Organizzazione e gestione dei servizi

Natale Santucci

Diagnostica per Immagini

Alberto Pierallini

Robotica riabilitativa

Luca Rossini

CENTRO RICERCHE IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

RICERCA DI BASE - TRASLAZIONALE

Laboratori	Responsabile	Staff
Immunologia Molecolare e Cellulare	Andrea la Sala	Lucia Gatta, Stefania Gorini, Francesca Molinari, Laura Pontecorvo
Endocrinologia Cardiovascolare	Massimiliano Caprio	Antonella Antelmi, Andrea Armani, Matilde Palanchini, Claudia Consoli, Alessandra Feraco, Caterina Mammi, Vincenzo Marzolla
Farmacogenetica	Raffaele Palmirotta	A. Savonarola, G. Ludovici, B.Leone
Laboratori da Convenzioni con altri Istituti	Responsabile	Staff
Neurobiologia molecolare e cellulare	Daniela Merlo	Alessio Cardinale, Mauro Racaniello, Marco Papale, Serena Saladini
Patologia molecolare e cellulare	Matteo Antonio Russo	Michele Aventaggiato, Bruna Pucci, Valentina Reali, Marco Tafani
Elettrofisiologia	Eleonora Palma	Francesco Infarinato, Roberta Lizio, Cristina Roseti
Biochimica dell'Invecchiamento	Maria Rosa Ciriolo	Katia Aquilano, Sara Baldelli, Enrico Desideri
Nutrizione Umana	Giuseppina Morabito	Mauro Serafini, Daniele Lettieri Barbato, Serena Terrazzi, Chiara Lo Schiavo
Cellule staminali e medicina rigenerativa	Sergio Rutella	Perla Filippini, Candida Nastrucci, Daniela Natale, Patrizia Russo
Patologie cronico-degenerative	Anna Teresa Palamara	Rossella Sgarbanti

AREA DI RICERCA: Neuromotoria

RESPONSABILE: M. Franceschini

STAFF: D. Le Pera, E. Palma, P. Sale, M. Spera, V. Lombardi, L. Rossini

I progetti elaborati dall'Area di ricerca analizzano i fenomeni alla base del recupero funzionale delle disabilità neurologiche ed ortopediche correlati con le comorbilità individuali e come entrambi possono influenzare il percorso riabilitativo.

Gli obiettivi degli studi consistono: 1) nel migliorare la presa in carico, 2) nel migliorare la qualità della vita dei pazienti, 3) nell'evidenziare eventuali modifiche a livello cerebrale nell'organizzazione delle attività motorie dopo somministrazione di esercizi riabilitativi innovativi ed originali nelle persone con disabilità di origine neurologica.

Gli interessi dell'Area sono pertanto focalizzati sulle seguenti tematiche, legate prevalentemente a misure di outcome, qualità di vita, analisi del controllo motorio, neurofisiologia, neuropsicologia:

- Riabilitazione Robotica Arto Superiore per il monitoraggio e lo studio del recupero funzionale dell'arto superiore nelle persone con esiti di Stroke;
- Riabilitazione Robotica del cammino: per il monitoraggio e lo studio del recupero della sicurezza e capacità di cammino nella persona con malattia di Parkinson;
- Studi elettrofisiologici sul recupero funzionale della mano nei pazienti con gravi cerebrolesioni;
- Studi sulla qualità di vita dei pazienti colpiti da stroke dopo un ciclo di riabilitazione;
- Studio dell'attivazione dei neuroni mirror nei pazienti con emiparesi da esiti di stroke e nelle persone con malattia di Parkinson;
- Il ritorno al lavoro dei pazienti con esiti di cerebrolesione dopo riabilitazione in fase acuta.

AREA DI RICERCA: Parkinson e Disturbi del Movimento

RESPONSABILE: F. Stocchi

STAFF: M. Casali, D. Castiglione, P. Grassini, B. Parenzan, M. Peraino, S. Pinnola, F.G. Radicati, M. Torti, , L. Vacca

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

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

1. E' stata analizzata clinicamente una casistica di pazienti affetti da Paralisi Sopranucleare Progressiva (PSP), dedicando particolare attenzione all'analisi dei sintomi "non motori" grazie alla Non Motor Symptoms Scale, al Non Motor Symptoms Questionnaire e alla PSP Scale. Sono stati inclusi nella valutazione tutti i pazienti con diagnosi di probabile di PSP, senza limitazione dell'età di esordio, con fascia età 40-80 anni, ricoverati presso il reparto di riabilitazione neuromotoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana. La PSP è una rara patologia neuro-degenerativa a carattere cronico-progressivo. Si colloca nella famiglia delle malattie "Parkinsoniane", in quanto la maggiore caratterizzazione clinica è quella dei sintomi extrapiramidali comuni alla malattia di Parkinson. I sintomi sono però prevalentemente assiali, e si associano ad instabilità posturale, sintomi bulbari, paralisi dei movimenti di sguardo, disturbo delle funzioni esecutive. L'andamento della malattia è generalmente piuttosto rapido e con progressivo coinvolgimento di più organi e sistemi. Scopi del progetto: analizzare la frequenza e la tipologia dei sintomi non motori (con particolare riguardo all'aspetto cognitivo e della depressione) presenti nella popolazione di paziente affetti da PSP, mediante l'utilizzo di scale di valutazione e questionari; condurre una valutazione clinica dei pazienti, verificando la frequenza dei vari sottotipi nella popolazione osservata. Da un punto di vista clinico, la valutazione è stata effettuata tramite la somministrazione della "Progressive Supranuclear Palsy Rating Scale and Staging System". Da un punto di vista neuropsicologico la valutazione è stata effettuata attraverso la somministrazione del test

cognitivo Montreal Cognitive Assessment (MoCA) e della scala di Hamilton per la depressione. Nel corso dello studio, sono stati complessivamente sottoposti a valutazione 28 pazienti ricoverati nel reparto di riabilitazione neuromotoria negli anni 2010-2011: di questi, in 20 pazienti è stata confermata la diagnosi di possibile PSP e completata la valutazione testistica; per 4 soggetti a causa dell'importante deficit cognitivo presente è stato possibile effettuare solo la PSP-scale; per gli altri 4 è stata invece modificata la diagnosi di accettazione da PSP in degenerazione cortico-basale. Dai risultati emersi attraverso l'esecuzione del MOCA, le aree maggiormente compromesse risultano essere quelle della memoria differita (19/20 pazienti), quella del linguaggio con particolare riguardo alla fluenza verbale (17/20 pazienti) e quella visuo-spaziale/esecutiva (16/20 pazienti). L'estrema lentezza nell'elaborazione delle informazioni e il marcato deficit delle funzioni esecutive e visuospatiali trova conferma in letteratura e si conferma dato distintivo del tipo di deterioramento cognitivo caratteristico della PSP. Dai risultati analizzati nella scala Hamilton per la depressione non si nota differenza nelle sottopopolazioni studiate (PSP P media 13,22; PSP Classica media 12,09). In conclusione si può affermare che tutti i pazienti sono risultati affetti da una depressione di lieve entità. Si può affermare che i pazienti affetti da PSP risultano maggiormente apatici e tristi rispetto ai pazienti parkinsoniani che appaiono più ansiosi e affetti da depressione più grave. La frequenza dei sintomi non motori effettuata mediante il questionario dei NMS non ha mostrato differenze sostanziali tra i due gruppi per la maggior parte dei sintomi presi in considerazione. I pazienti con PSP classica hanno mostrato una prevalenza dei sintomi scialorrea, disfagia, stipsi e tristezza. Tutti i pazienti (11/11) hanno riportato cadute al contrario del gruppo con PSP-P in cui le cadute sono state riportate solo da 5 pazienti. La frequenza dei sintomi non motori osservati differisce invece sostanzialmente da quelli riportati da pazienti con Malattia di Parkinson idiopatica (riportati in letteratura) che lamentano più frequentemente iposmia, sogni vividi e sonnolenza diurna, ansia e depressione, stipsi e disfunzione erettile. La gravità dei sintomi non motori effettuata mediante la scala dei NMS ha mostrato le seguenti differenze: nei domini attenzione/memoria, gastrointestinale e sonno/affaticamento la gravità dei sintomi osservati è risultata di gran lunga maggiore nel gruppo con PSP Classica. Nel dominio cardiovascolare/cadute la gravità dei sintomi osservati è risultata invece più evidente nella PSP-P.

2. Si è concluso uno studio su una nuova molecola per il trattamento della malattia di Parkinson. La safinamide appartiene ad una classe di farmaci noti come inibitori degli enzimi MAO-B. E' stata sviluppata come terapia aggiuntiva e agisce aumentan-

do la disponibilità di dopamina nelle aree cerebrali interessate dalla malattia (nuclei della base). Precedenti studi avevano mostrato una buona efficacia e tollerabilità di questo nuovo farmaco. Scopo di questo studio è stato quello di indagare l'effetto della safinamide controllata verso placebo sulla farmacocinetica della levodopa, misurando le concentrazioni plasmatiche della levodopa stessa, della carbidopa e dei metaboliti. Il disegno di questo studio ha previsto una randomizzazione in doppio cieco, controllato verso placebo, in un rapporto 1:1 con il seguente trattamento sequenziale: A-B or B-A con 100 mg di safinamide aggiunto a dosaggi standard di levodopa, somministrata in due periodi, in due sequenze crossover. Complessivamente, sono stati screenati 27 pazienti: solo 3 pazienti, dopo aver effettuato le procedure di screening previste, non hanno potuto proseguire lo studio per la presenza di degenerazione retinica di vario grado (criterio di esclusione). Sono stati quindi randomizzati 24 pazienti (14 maschi e 10 femmine) affetti da malattia di Parkinson conclamata e già in trattamento con levodopa, di età media di 65 anni. Tutti i partecipanti sono stati randomizzati in accordo alle procedure di studio e divisi in due gruppi: somministrazione di safinamide 100 mg nel periodo 1, seguita da placebo nel periodo 2 e somministrazione di placebo nel periodo 1, seguito da safinamide 100 mg nel periodo 2. In tutto sono state effettuate le 7 visite previste, per una durata complessiva di osservazione di circa tre mesi, comprendenti una visita di screening, due periodi di trattamento di 6 giorni separati da un periodo di wash-out di almeno 14 giorni, ed una visita di fine studio 14-21 giorni dopo l'ultima somministrazione del farmaco del periodo 2. Durante ognuno dei periodi, i pazienti sono stati sottoposti per due giorni consecutivi a prelievi ematici per valutare la farmacocinetica della levodopa: il primo giorno eseguendo campioni prima di ogni dose abituale di levodopa, e il secondo giorno prima e dopo somministrazione singola di safinamide/placebo e levodopa, per una durata di 6 ore (ogni 30 minuti). Risultati di Farmacocinetica: complessivamente, il profilo della concentrazione media plasmatica della levodopa è risultata simile dopo la co-somministrazione di safinamide (Trattamento A) e dopo la co-somministrazione di placebo (Trattamento B), sia dopo singola dose (giorno 1) che dopo terapia stabile (giorno 6). Riguardo i parametri farmacocinetici, la C_{max} e l'area sotto la curva AUC₀₋₆ della levodopa a giorno 1 e giorno 6 è risultata comparabile nei due trattamenti. L'analisi della varianza (ANOVA) per ratio Trattamento A / Trattamento B al giorno 1 e al giorno 6 è vicina al 100% per entrambe i parametri di C_{max} e AUC₀₋₆ della levodopa. La safinamide è risultata ben tollerata quando co-somministrata con levodopa. Non si sono verificati eventi avversi seri ed il profilo di tollerabilità del farmaco è risultato otti-

mo. I quattro eventi avversi non seri segnalati (vomito, malessere, anemia e discinesie), non sono stati considerati farmaco-correlati. I parametri di laboratorio, i segni vitali e gli ECG dei pazienti non hanno mostrato modifiche di rilevanza clinica (ad eccezione di un caso di anemia segnalato come evento avverso). La safinamide non modifica in maniera rilevante la farmacocinetica della levodopa, e la somministrazione di 100 mg una volta al giorno è ben tollerata.

3. Si è concluso uno studio volto a valutare l'intervento psicologico di gruppo nei pazienti Parkinsoniani e i loro Caregiver. L'ambiente che circonda il malato parkinsoniano svolge un ruolo essenziale ma spesso difficile da gestire per le persone che ci si trovano. Domande come: "occorre sistematicamente aiutare e stimolare il paziente o al contrario lasciarlo vivere al ritmo della malattia?" si ripresentano costantemente. È necessaria una presa in carico multidimensionale, che rispecchi quindi il livello di complessità di fronte al quale ci si trova. In quest'ottica il lavoro dello psicologo nei confronti dei malati di Parkinson e dei loro caregiver era mirato a supportare i partecipanti nell'affrontare in modo adeguato e proattivo lo stress, le disabilità e le limitazioni psicologiche e sociali ed ottenere benefici che vanno oltre quelli provenienti dai farmaci. In sociologia e psicologia sociale si definisce gruppo un insieme di persone che interagiscono le une con le altre in modo ordinato sulla base di aspettative condivise riguardanti il rispettivo comportamento. Dato che gli esseri umani sono fondamentalmente animali portati a cooperare, i gruppi sono una parte vitale della struttura sociale. La coesione di gruppo definisce il livello di solidarietà fra i membri, ma anche la condivisione di norme e il relativo senso di appartenenza. Questa coesione è determinata anche da fattori emotivi. Ne consegue che i gruppi possiedono capacità curative che vanno ben oltre il superamento del senso di alienazione, dell'isolamento sociale e della possibilità di condividere il proprio disagio con altre persone. In base all'osservazione dei risultati dei test si è riscontrato un peggioramento, in particolare nelle abilità di performance (funzioni esecutive), condizione tipica della malattia di Parkinson. Nei caregiver non si è notata nessuna sensibile modificazione. I partecipanti, dal punto di vista dello stato depressivo e della qualità della vita, secondo i test effettuati, hanno mostrato un leggero peggioramento, mentre nel resoconto verbale i pazienti riportano un miglioramento sottolineato da una forte coesione di gruppo, e una maggior consapevolezza della malattia. Durante gli incontri i partecipanti si sono mostrati particolarmente interessati e coinvolti, atteggiamento confermato dalla puntualità e continua presenza al gruppo da ognuno di loro. Si può però affermare che il benessere derivi dal trattamento in atto (la condivisione e la possibilità di esprimersi in un contesto adeguato) che non modifica in modo definitivo il proprio

vissuto che deve essere continuamente sostenuto. Il deterioramento cognitivo non aiuta il sostegno, la complessità della malattia, per i suoi aspetti fisici, cognitivi e psicologici prevede la continuità del trattamento per poter realmente contribuire a mantenere delle condizioni di vita dignitose. In conclusione un sostegno di gruppo acquista valore e senso solo se continuato nel tempo in quanto fonte di supporto, confronto e stimolo vista l'inarrestabilità della malattia. Non interviene sulla cronicità della stessa ma incide sulla qualità della convivenza con essa, sia per i pazienti che per i caregiver. E' stato iniziato un nuovo progetto di Statistica comparativa dei test Mini Mental State Examination (MMSE) e Montreal Cognitive Assessment (MOCA) nello screening cognitivo dei pazienti con Malattia di Parkinson. Nella pratica clinica e sperimentale il test maggiormente utilizzato per la valutazione dei disturbi dell'efficienza intellettiva e della presenza di deterioramento cognitivo utilizzato è il l'MMSE. Il test è costituito da trenta item, che fanno riferimento a sette aree cognitive differenti: orientamento nel tempo, orientamento nello spazio, registrazione di parole, attenzione e calcolo, rievocazione, linguaggio, prassia costruttiva. Il punteggio totale è compreso tra un minimo di 0 ed un massimo di 30 punti. Un punteggio uguale o inferiore a 18 è indice di una grave compromissione delle abilità cognitive; un punteggio compreso tra 18 e 24 è indice di una compromissione da moderata a lieve, un punteggio pari a 25 è considerato borderline, da 26 a 30 è indice di normalità cognitiva. Il Montreal Cognitive Assessment (MoCA) è stato progettato come strumento per un rapido screening del deterioramento cognitivo lieve. Valuta diversi domini cognitivi: attenzione e concentrazione, funzioni esecutive, memoria, linguaggio, abilità visuocostruttive, astrazione, calcolo e orientamento. Il tempo di somministrazione del MoCa è di 10 minuti. Il massimo punteggio possibile è 30 punti; un punteggio uguale o superiore a 26 è considerato normale. Le aree valutate sono: il trail making, le abilità visuocostruttive, la memoria di lavoro, l'attenzione sostenuta, il calcolo, la fluenza verbale, l'astrazione, il richiamo differito e l'orientamento. Questo studio aveva come obiettivo l'analisi comparativa dei due test sopra elencati per valutarne la validità, attendibilità nella popolazione parkinsoniana. E' prevista la somministrazione un questionario sulla qualità della vita (PDQ39) per vedere se esistono delle correlazioni tra sintomi cognitivi e livello della qualità della vita. Il Campione ha finora compreso 106 pazienti affetti dalla malattia di Parkinson, 55 di sesso maschile e 51 di sesso femminile. Età compresa tra i 46 e 89 anni, età alla diagnosi compresa tra 21 e 86 anni. A tutti i pazienti è stato somministrato il Moca, MMSE e PDQ 39.

4. L'importanza di programmi di prevenzione e di contenimento della disabilità

costituiscono una parte di grande rilievo dell'assistenza delle persone affette da malattia di Parkinson. Un aspetto fondamentale nella relazione sociale di questi pazienti è la fonazione; si è portato avanti il programma riabilitativo foniatrico Lee Silverman Voice Treatment (LSVT), appositamente studiato e testato per adattarsi ai problemi delle persone con Parkinson ed altre malattie neurologiche (PSP, MSA). Sono stati seguiti sia pazienti affetti da Parkinson che affetti da PSP, tutti sottoposti a 16 sedute, per impostare un miglioramento dell'efficacia respiratoria, con aumento della capacità inspiratoria ed espiratoria, dell'adduzione delle corde vocali, dell'attività e della sinergia dei muscoli laringei, dei movimenti articolatori laringei e sovralaringei. I risultati hanno mostrato in tutti i soggetti parkinsoniani un aumento del volume della voce con miglioramento della raucedine, del tremore della voce, dell'ipernasalità, chiarezza dell'eloquio attraverso un aumento dell'ampiezza della voce e dell'intensità vocale. Quindi i disturbi della voce, scarsamente controllati dalla terapia farmacologica, possono realmente beneficiare di metodiche riabilitative intensive specifiche. L'efficacia sulla PSP si è confermata essere decisamente meno significativa, ma comunque di ausilio psicologico per il sostegno di pazienti così gravemente compromessi.

5. Inoltre, si è proseguito il lavoro di conduzione di numerosi trial clinici (internazionali, multicentrici) inerenti la sperimentazioni di nuovi farmaci per la cura della malattia di Parkinson - safinamide, IMPAX 066B09-06, Rasagilina (studio Adagio per la Malattia di Parkinson e studio MSA-RAS per l'atrofia multisistemica), AFQ056 per i pazienti in fase avanzata con movimenti involontari, SLV187-Duodopa, Preladenant in pazienti sia iniziali che avanzati.

I progetti in corso hanno già prodotto interessanti risultati che sono stati in parte pubblicati su riviste scientifiche ed in parte presentati a congressi nazionali ed internazionali.

AREA DI RICERCA: Cefalee e Dolore Neuropatico

RESPONSABILE: P. Barbanti

STAFF: C. Aurilia, L. Fofi, P. Guglielmi, D. Le Pera, A. Pesenti, C. Rossi, S. Randi, G. Egeo

Le patologie lesionali e disfunzionali del sistema nervoso centrale necessitano di una accurata caratterizzazione clinica e strumentale perché solo la definizione della correlazione fenotipo-biotipo consente di personalizzare il programma riabilitativo e di predire la possibilità di recupero. Le moderne procedure di accertamento neurofisiologico, quali i potenziali evocati sensoriali laser e motori, consentono di aumentare la conoscenza sui circuiti coinvolti nel recupero neurologico e indirettamente, tramite l'inferenza sui sistemi neurotrasmettitoriali e neuromodulatori coinvolti, di orientare la terapia farmacologica per il recupero, consentendo di monitorare i meccanismi di plasticità del sistema nervoso alla base della riabilitazione motoria, sensoriale e cognitiva.

Cardine dell'area di ricerca è la rieducazione funzionale del dolore. Tale tema assume particolare rilievo nella cefalea cronica quotidiana che affligge il 4% della popolazione mondiale, patologia "orfana" gravemente disabilitante e invalidante, caratterizzata da un dolore che perde il suo ruolo finalistico debordando stabilmente oltre la propria funzione di utile risposta agli stimoli ambientali. La ricerca traslazionale mira a integrare le conoscenze genetiche, biologico-molecolari e neuroradiologiche con i paradigmi clinici e strumentali, allo scopo di recuperare alla validità sociale e lavorativa questa non trascurabile porzione di popolazione e si articola su 4 fronti:

1. area clinica: definizione di fenotipi clinici predittivi di risposta ottimale alla terapia preventiva e sintomatica;
2. area neurofisiologica: valutazione funzionale delle afferenze nocicettive e del network endogeno di controllo del dolore (DNIC: diffuse noxious inhibitory control);
3. area genetica: identificazione di marcatori molecolari e genetici correlati alla evoluzione verso la cronicità del dolore neuropatico e neurovascolare;
4. area neuradiologica: determinazione della prevalenza della asimmetria dei seni venosi cerebrali (seno traverso in particolare) nei soggetti con cefalea cronica e correlazioni con il quadro clinico e con l'outcome.

Il Prof. Piero Barbanti è Presidente della Associazione Italiana per la Lotta contro le Cefalee (AIC); Revisore dei Conti della Associazione Neurologica Italiana per la

Ricerca sulle Cefalee (ANIRCEF); Tesoriere della Società Italiana di Neurogeriatria (SINeG); Responsabile Scientifico per l'area medica e membro del Comitato Scientifico della trasmissione televisiva di RAI3 "Geo & Geo"; membro del Comitato d'Onore del Premio "Marcello Sgarlata"; membro del gruppo di lavoro delle Linee Guida nazionali di riferimento per la prevenzione e terapia delle Cefalee nell' adulto dell'Agenzia Nazionale per i Servizi Sanitari Regionali (AGENAS).

AREA DI RICERCA: Cardiovascolare - Scienze Internistiche

RESPONSABILE: G. Rosano

STAFF: A. Antelmi, A. Arisi, A. Armani, S. Basciani, G. Caminiti, M. Caprio, A. Carluccio, L. Gatta, S. Gorini, F. Iellamo, A. La Sala, M. E. Lippi, C. Mammi, G. Marazzi, R. Massaro, M. Mastrantoni, M. Mendelsohn, D. Onorati, N. Punzo, I. Spoletini, B. Sposato, C. Vitale, M. Volterrani

L'Area di ricerca ha focalizzato la ricerca sui meccanismi di recupero funzionale delle malattie cardiovascolari, cerebrovascolari.

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

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

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

AREA DI RICERCA: Approcci di Sistema e Malattie non Trasmissibili

RESPONSABILE: A. Cesario

STAFF: F. Pasqua, L. Ferri, V. Cardaci, A. Zarzana, M. Orlando, S. Di Toro, I. Nardi, D. Chiurchio, K. Geraneo, F. Baldari, M.G. Mastrullo, S. Bonassi, P. Russo, M. Neri, S. Boccia, M. Cazzola, L. Calzetta, P. Filippini, S. Rutella, V. Dall'Armi, F. Mattei, A. Frustaci

L'attività di ricerca di questa area si è tradizionalmente basata su una componente clinica. Negli anni precedenti i principali argomenti sono stati: la valutazione del ruolo della Riabilitazione Respiratoria su parametri di outcome funzionale e Qualità di Vita (QoL) in pazienti sottoposti a chirurgia di resezione polmonare per neoplasia; la valutazione del ruolo della Riabilitazione Respiratoria in pazienti con neoplasia polmonare e funzione respiratoria compromessa che devono essere sottoposti a chirurgia resettiva; la valutazione delle correlazioni tra Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO), funzione respiratoria e Disfunzione Erettile (DE); e la valutazione e misurazione della consistenza di indici di outcome clinico (BODE index, nello specifico) nella valutazione dell'efficacia clinica della Riabilitazione Respiratoria. In quest'ultimo, nell'ambito di un progetto biennale finanziato dal Ministero della Salute, la componente traslazionale ha consentito di integrare valutazioni di ambito prettamente molecolare con l'outcome clinico.

Il consolidamento di collaborazioni esterne con centri di rilevanza internazionale per la Ricerca di Base (biologia molecolare e cellulare) in bronco-pneumologia ha permesso, un significativo incremento dei prodotti di ricerca relativi a questa componente. L'esperienza acquisita nel corso di queste collaborazioni, unitamente alla programmazione di progetti di ricerca prospettici e condivisi renderà possibile, nel prossimo triennio, l'estensione della metodologia finora ottimizzata prettamente nel campo pneumoncologico ad attività di Ricerca Traslazionale sostanzialmente focalizzata su popolazioni di pazienti con BPCO sottoposti a Riabilitazione Respiratoria. Ne è un esempio l'attività di ricerca di marcatori molecolari (pattern di infiammazione e stress ossidativi) di outcome e correlazione tra la BPCO e lo sviluppo di malattia neoplastica (cancro polmonare) e cardiovascolare.

Durante il 2011 l'Area di Ricerca ha ricevuto un sostanziale impulso verso la Medicina della Complessità dotandosi di una Piattaforma di dati clinico-epidemiologici associata ad una repository di materiale biologico improntata ai principi della Systems Biology e Systems Medicine. Tale impronta ha, in primis, determinato anche il cambio di denominazione dell'Area stessa, ora diventata "Approcci di Sistema e Malattie non

Trasmissibili (Systems Approaches and Non-Communicable Diseases).

Le attività sono supportate dalla standardizzazione clinica e dall'attività di laboratorio volta ad ottimizzare la gestione delle risorse a disposizione con una pianificazione che consente lo sviluppo di piani adeguati di trasferimento tecnologico di conoscenze di valore in ambito commerciale (secondo criteri standard di protezione e sfruttamento della Proprietà Intellettuale). In quest'ottica sono in corso di definizione accordi con primarie industrie per l'attivazione di collaborazioni in ambito di proteomica, genomica avanzata ("Next Generation Sequencing") e Bioinformatica.

Prosegue l'attività di Ricerca Clinica Sponsorizzata centrata essenzialmente sulla valutazione della fattibilità, sicurezza ed efficacia di trattamenti farmacologici investigazionali.

La Ricerca Clinica propriamente detta, la Ricerca Traslazionale e quella sponsorizzata sono effettuate secondo i criteri della Good Clinical Practice (GCP) in accordo alla Direttiva 2001/20/EC. Nello specifico della Ricerca c.d. "non commerciale" ci si attiene alla Direttiva 2005/288/EC.

I trials clinici sono registrati e gestiti secondo la normativa vigente, previa approvazione del comitato etico locale. In particolare ci si serve di trials prospettici, di fase I, II ed eventualmente III e di trials osservazionali.

Continueranno ad essere privilegiati gli aspetti di potenziale trasferibilità (tecnologica e gestionale) verso il Sistema Sanitario Nazionale. In questo ambito si è iniziata l'attuazione di un piano di Ricerca che ha consentito l'analisi del potenziale allargamento delle indicazioni relative alla Riabilitazione Respiratoria in pazienti oncologici "acuti" come, ad esempio quelli con neoplasia polmonare che sono sottoposti a trattamenti radio-chemioterapici esclusivi. In termini di allargamento degli interessi di ricerca specifici sono state attivate collaborazioni in ambito Immunologico, Genetico-Genomico ed Epidemiologico (epidemiologia molecolare e clinica). Queste, unitamente a quella già consolidata per la Biologia Molecolare e Cellulare consentono un completamento delle potenzialità traslazionali dell'Area di Ricerca con l'allargamento a campi di grande valore innovativo come la diagnostica nanotecnologica, gli studi di associazione estesi all'intero genoma (Genome Wide Association Studies -GWAs), gli studi epidemiologici per l'analisi dell'interazione gene/ambiente (Gene to Environment Interaction) e la terapia individualizzata ("targeted") di modulazione dell'immunità per le malattie polmonari infiammatorie e neoplastiche.

AREA DI RICERCA: Disabilità dello Sviluppo

RESPONSABILE: G. Albertini

STAFF: G. Brunner, C. Condoluci, A. Corbellini, E. Chiodi, G. Di Girolamo, M. Galli, E. Giulitti, M. Janicki, G. La Malfa, L. Majolini, S. Miano, C. Paniccia, P. Onorati, G. Orsini, C. Thellung, N. Tenore, E.M. Valente

Il Dipartimento di Scienze delle Disabilità Congenite ed Evolutive Motorie e Sensoriali dell'IRCCS San Raffaele Pisana ha svolto nel 2011 la propria attività di ricerca in continuità con gli anni precedenti incentrandola prevalentemente sullo studio in vivo del movimento, con particolare riferimento allo studio dello stesso sia dal punto di vista biomeccanico, sia come funzione cognitiva. Nello specifico, si pone attenzione alle funzioni neuropsicologiche di base, come le funzioni esecutive e le prassie. Di particolare rilevanza sono stati gli studi sui correlati neurofisiologici e neurobiologici delle Disabilità Intellettive e dei Disturbi Specifici dell'Apprendimento.

AREA DI RICERCA: Organizzazione e Gestione dei Servizi

RESPONSABILE: N. Santucci

STAFF: F. Mazzearella, D. Chini, P. Nitride

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

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

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

Gli obiettivi che l'Area di ricerca si prefigge sono:

1. La creazione di una cultura aziendale condivisa sulle tematiche della Clinical Governance e del Risk Management (incident reporting e gestione delle cadute accidentali, infezioni ospedaliere);
2. L'innalzamento della qualità delle prestazioni clinico-assistenziali e di gestione organizzativa (antibiotico-terapia);
3. La proposta di una metodologia valutativa della performance assistenziale (valutazione del dirigente medico);
4. L'implementazione della cartella clinica informatizzata.

AREA DI RICERCA: Biotecnologia Avanzata

RESPONSABILE: F. Guadagni

STAFF: J. Alessandroni, P. Bizzarri, R. D'Alessandro, F. De Angelis, D. Della Morte, M.L. De Marchis, P. Ferroni, L. Guarente, F. Iacovone, F. La Farina, B. Leone, G. Ludovici, P. Mariglia, F. Martini, R. Palmirota, V. Perrone, L. Polce, S. Riondino, A. Spila, G. Tamburrelli, M.G. Valente

La scoperta di nuovi biomarcatori (biomarker discovery) è essenziale per una migliore comprensione dei meccanismi molecolari coinvolti nella patogenesi di numerose malattie croniche disabilitanti e per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici. La disponibilità di nuovi biomarcatori potrebbe, infatti, portare alla definizione di nuovi test diagnostici o contribuire ad aumentare l'efficacia e/o a ridurre la tossicità di un determinato farmaco, grazie ad un'elevata sensibilità e/o specificità. Un valido approccio alla scoperta di un biomarcatore è generalmente rappresentato da tre fasi: (i) identificazione dei possibili marcatori, (ii) definizione della loro rilevanza clinica e (iii) validazione preliminare di quelli selezionati. Questa ultima fase implica lo sviluppo di dosaggi preliminari per confermare la possibilità della misurazione analitica, nonché la validazione del marcatore/i identificato in protocolli di ricerca traslazionale. In tale ottica, la disponibilità di una Banca Biologica (Progetto BioBIM) specificatamente dedicata rappresenta uno strumento prezioso e fondamentale, grazie alla disponibilità di un numero significativo di campioni in tempi estremamente ridotti.

Obiettivo principale del programma di Ricerca Corrente del Dipartimento di Medicina di Laboratorio e Biotecnologie Avanzate (DMLBA) è l'analisi di determinanti di outcome in numerose patologie croniche e disabilitanti, tra i quali alcuni marcatori genetico-molecolari predittivi di invecchiamento vascolare e rischio cardiovascolare. Tale obiettivo può essere perseguito attraverso l'identificazione, mediante tecniche di genomica e proteomica, di nuovi polimorfismi metabolici, pattern di espressione e profili proteici da utilizzare come marcatori di diagnosi, progressione, prognosi e risposta alla terapia in pazienti in trattamento riabilitativo. Inoltre, poiché al momento attuale non vi sono indicazioni cliniche specifiche, il programma del DMLBA si propone l'individuazione di marcatori biomolecolari che permettano di predire per ogni paziente la mancata risposta ad un determinato trattamento farmacologico, o di individuare l'insorgenza di effetti indesiderati. La possibilità fornita dalle moderne tecniche di farmacogenomica (attraverso l'integrazione tra le conoscenze genetiche acquisite e le conoscenze sugli effetti dei farmaci) di predire individualmente tali determinanti, potrebbe permettere

l'applicazione in tempi rapidi di protocolli terapeutici ottimizzati per ogni singolo paziente ed un uso razionalizzato dei farmaci.

Progetto BioBIM: Gestione ed implementazione della BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM) dell'IRCCS San Raffaele Pisana

Al fine di garantire un supporto alla ricerca traslazionale, di cui gli obiettivi del DMLBA sono solo un esempio, la disponibilità di una Banca Biologica (Progetto BioBIM) specificatamente dedicata rappresenta un prezioso e fondamentale strumento atto anche alla valutazione di future metodiche diagnostiche al momento non disponibili, di cui potrebbe essere validata l'applicabilità clinica in tempi estremamente ridotti.

Nel corso del 2011, è proseguita l'implementazione della BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM) aperta a Enti terzi quali Università, centri di ricerca pubblici e/o privati ed altre Istituzioni sanitarie territoriali pubbliche e/o private. Obiettivo primario della BioBIM è quello di fornire un servizio per lo sviluppo di linee di ricerca interdisciplinari e scambi tra diversi gruppi di lavoro, attraverso la raccolta centralizzata di campioni (ematologici, campioni tissutali, urine, espettorato, feci, linee cellulari e campioni di acidi nucleici) appartenenti ad individui con caratteristiche peculiari o specifiche patologie. Tale BioBanca è organizzata in modo da assicurare la conservazione del campione per il maggior tempo possibile, garantendone la qualità ed il corretto utilizzo e la tutela della privacy del soggetto donatore. Ad ogni campione biologico sono associati i dati del donatore che comprendono l'anamnesi clinica e familiare, eventuali patologie ed altri dati ritenuti di rilievo per studi specifici. Tutti i dati ottenuti sono trattati in modo conforme alle normative in vigore, sia per quanto riguarda la sicurezza che la tutela dei dati personali, sia per quanto riguarda requisiti tecnici relativi alle modalità di conservazione. Nel caso in cui i campioni afferiscano ad una sezione della banca biologica per studi di genetica è indispensabile che gli stessi siano anche collegabili a: dati anagrafici, genealogici e clinici relativi ai soggetti da cui deriva il materiale depositato. Tali dati in quanto sensibili e/o genetici devono essere trattati conformemente al D.lgs 196/2003 e successive raccomandazioni del Garante.

La BioBIM dell'IRCCS San Raffaele Pisana è certificata secondo la Norma UNI EN ISO 9001:2008 con esplicitazione nello scopo e campo di certificazione delle attività relative come unità individuale ed autonoma.

Afferiscono attualmente alla BioBIM alcune Strutture Sanitarie Nazionali di ricovero ed ambulatoriali afferenti al Sovrano Ordine Militare dei cavalieri di Malta (ACI-SMOM), l'Azienda Ospedaliera San Camillo Forlanini di Roma, la ASL 2 di Salerno,

l'Azienda Ospedaliera "Complesso Ospedaliero San Giovanni Addolorata" di Roma, le aziende ASL afferenti all'Area Vasta Romagna e I.R.S.T. (Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori) ed il San Raffaele Cassino. La casistica inserita nella BioBIM è costituita al momento attuale da oltre 8500 unità, suddivise in 5 Biobanche includenti pazienti con patologie a) cardiovascolari e respiratorie, b) neurodegenerative, c) oncologiche, e) dello sviluppo motorio e cognitivo e d) patologie rare. Inoltre, è stata reclutata una popolazione di soggetti apparentemente sani che costituirà la popolazione di controllo, costituita da oltre 1000 casi, reclutati anche in follow-up annuale.

Per quanto riguarda le infrastrutture, la BioBIM è completamente integrata con: 1) il settore diagnostico tramite una piattaforma informatica che integra il sistema di gestione del laboratorio ed il sistema preanalitico robotizzato; 2) una piattaforma informatica in grado di gestire non solo la storia clinica ma soprattutto la terapia e l'outcome del paziente. La BioBIM si avvale inoltre delle più moderne tecniche RFID allo scopo di monitorare l'intero ciclo vitale dei campioni biologici conservati e garantirne la qualità. Per quanto riguarda la metodologia scientifica, sono state messe a punto delle metodiche di proteomica completamente automatizzate in grado di garantire l'armonizzazione e la standardizzazione del processo nelle fasi pre-analitica ed analitica da utilizzare nell'identificazione e caratterizzazione di alcune proteine a basso peso molecolare e/o di proteine a bassa prevalenza al fine di ottimizzare l'identificazione e la caratterizzazione di profili proteici. Analogamente a quanto realizzato nel settore della proteomica, sono state standardizzate le condizioni pre-analitiche da attuare per studi di diagnostica molecolare.

AREA DI RICERCA: Diagnostica per Immagini

RESPONSABILE: A. Pierallini

STAFF: V. Bocina, M. Casini, M. De Santis, E. Ferone, F. Garaci, C. Primicerio, G. Romano, G. Simonelli, C. Settecasì, D. Vricella

Al servizio di Radiodiagnostica afferiscono pazienti affetti da molteplici e differenti patologie sia in ambito internistico che, prevalentemente, neurologico e cardiologico. A fronte di un lavoro clinico così vario ed impegnativo lo sforzo nel campo della ricerca si è focalizzato soprattutto nella diagnosi e nell'individuazione di eventuali fattori prognostici dell'outcome riabilitativo neurologico, cardiovascolare e nelle patologie dell'età evolutiva.

A tal fine il principale campo di ricerca è quello sullo studio della morfo-volumetria cerebrale e dello spessore corticale nei pazienti affetti sia da Sindrome di Down che da patologie neurodegenerative dell'adulto quali la malattia di Alzheimer, la paralisi sopranucleare progressiva, il morbo di Parkinson e le malattie demielinizzanti quali la sclerosi multipla. Tali ricerche vengono effettuate in collaborazione sia con strutture interne del nostro istituto, quali il Dipartimento di Pediatria ed il Dipartimento di Riabilitazione Neuromotoria, che esterne quali l'Università degli Studi di Roma la Sapienza, la I e II Facoltà di Medicina e Chirurgia, l'Ospedale Oftalmico di Roma, l'Istituto Nazionale Tumori Regina Elena, IRCCS IFO di Roma.

Dal punto di vista cardiologico, la presenza di una TC 64 slices con tecnica "dual source" consente la valutazione dell'albero coronarico in modo non invasivo in pazienti affetti da coronaropatia, sospetta o accertata nonché la valutazione della volumetria cardiaca in pazienti con disfunzione ventricolare e studi di perfusione. L'insieme dei dati ottenibili viene utilizzata nell'attività di ricerca in ambito cardiologico, principalmente indirizzata all'outcome riabilitativo.

Si intende estendere l'attività di ricerca ad altri settori, quali la terapia neurologica sub-intensiva, con i quali esistono stretti rapporti di collaborazione, impiegando la RM e la TC come strumento di valutazione dei fattori prognostici e di disabilità in pazienti con stroke in fase subacuta in trattamento riabilitativo ed affetti da patologia steno-occlusiva carotidea.

LINEE DI RICERCA

L'attività della ricerca corrente dell'IRCCS San Raffaele Pisana è organizzata, all'interno di ciascun Dipartimento, secondo le seguenti linee di ricerca:

Linea 1 - Riabilitazione motoria e sensoriale.

- Ruolo dell'esercizio fisico da solo od in associazione a presidi terapeutici nel recupero funzionale.
Rieducazione funzionale del dolore cronico.
- Aspetti genetici, cellulari e molecolari nel Parkinson, nell'Alzheimer, nello Stroke, nelle malattie cardiovascolari, cerebrovascolari, respiratorie, nel dolore e nei fenomeni collegati alla fragilità dell'anziano.
- Aspetti clinici e percorsi riabilitativi nelle patologie cardiovascolari, respiratorie e neurologiche geneticamente determinate o acquisite, e nei disturbi di coscienza. Recupero delle patologie neuromuscolari mitocondriali.
- Esercizio fisico, i meccanismi elettro-neurofisiologici ed i processi di apprendimento nell'atleta come modello di base per le patologie congenite e acquisite.

Linea 2 - Meccanismi di recupero funzionale della patologia cronica e disabilitante: analisi dei determinanti di outcome.

- Ruolo del training fisico e della sua associazione con presidi farmacologici e con interventi nutrizionali sulle alterazioni metaboliche e funzionali e nel recupero funzionale nelle patologie croniche, invalidanti, e a prognosi severa.
- Meccanismi fisiopatologici del training fisico nel recupero di organi e apparati sede di malattia cronica, con particolare attenzione all'aspetto molecolare e cellulare nell'evoluzione della patologia potenzialmente disabilitante, attraverso l'utilizzo di modelli cellulari e animali, normali e transgenici, di modelli controllati di danno subletale e, infine, di modelli di patologia umana cronica che necessitano di recupero funzionale.
- Impatto delle disabilità e delle comorbilità cardio-respiratorie e endocrinometaboliche sull'outcome riabilitativo ed in coorti di popolazioni speciali.

Linea 3 - Sistemi innovativi di prevenzione/controllo e promozione di salute.

- Definizione di un framework della complessità per un approccio di systems medicine per la realizzazione di integrated care per le persone in riabilitazione.

- Sviluppo di nuove tecnologie per il miglioramento dei servizi di monitoraggio e dell'ambiente dei pazienti per l'implementazione di ausili ad alti contenuti tecnologici per il ripristino di funzionalità sensoriale o motoria.
- Applicazione di tecniche avanzate di neuroimaging in un approccio multidisciplinare nella diagnosi e nella valutazione dell'outcome delle patologie neurologiche e cardiovascolari, nelle disabilità dello sviluppo e nell'adulto.

Linea 4 - Le disabilità dello sviluppo e neuroriabilitazione pediatrica.

- Difetti neuronali, cellulari e molecolari, per un potenziale approccio terapeutico e volumetria cerebrale.
- Studio qualitativo e quantitativo del cammino e dei movimenti in bambini con disabilità dello sviluppo.
- Aspetti clinici, gestionali e riabilitativi nello sviluppo del linguaggio e dell'apprendimento, e nel recupero funzionale per miglioramento della qualità della vita dei pazienti con disabilità dello sviluppo e della loro famiglia.

Linea 5 - Modelli organizzativi e gestionali delle disabilità in riabilitazione.

- Attuazione del Governo Clinico nella riabilitazione attraverso lo sviluppo di una metodologia di verifica dell'outcome, della qualità della vita e di un sistema di monitoraggio.
- Studi epidemiologici su specifiche popolazioni di pazienti e sugli effetti della riabilitazione sulle patologie a prognosi severa.
- Utilizzazione di sistemi telemedicali per pazienti con patologie croniche ed altamente invalidanti in ambito riabilitativo per garantire la continuità assistenziale anche nel territorio e applicazione delle nuove tecnologie in ICT.
- Formazione del paziente, caregiver, personale medico, del medico di medicina generale nella gestione della presa in carico dalla struttura al territorio al domicilio.
- Indagini radiologiche, morfologiche e funzionali quali strumenti predittivi nell'outcome riabilitativo.

LINEA 1
Riabilitazione motoria e sensoriale

Area di ricerca Neuromotoria

Interfacce cervello macchina non invasive per la neuroriabilitazione dell'arto superiore

La ricerca in neurofisiologia ha dimostrato il ruolo cruciale giocato dal feedback al paziente nell'incrementare gli effetti di plasticità neuronale legati all'apprendimento di nuovi compiti motori. Tali effetti sono ancora più importanti quando diventano il target di specifiche tecniche di riabilitazione motoria in pazienti con deficit sensori motori acquisiti dopo eventi traumatici o legati a patologie. Su questo paradigma si basa gran parte del razionale a sostegno della riabilitazione robotica, per la capacità intrinseca di questa di includere il paziente in un circuito quanto più attivo possibile di esercizi riabilitativi, rispetto alla passività che spesso caratterizza il ruolo del paziente nella riabilitazione standard. La piattaforma robotica per la riabilitazione dell'arto superiore InMotion2 si integra perfettamente in questo paradigma: durante l'interazione con il paziente, il robot definisce i bersagli da raggiungere e lascia che il paziente utilizzi pienamente le sue capacità sensorimotorie residue, aiutandolo solo a colmare il gap che lo separa dalla completa esecuzione del task. Quest'ultimo step è fondamentale e necessario a stimolare quei fenomeni di plasticità cerebrale che, con l'esercizio ripetuto con l'ausilio del robot, possono portare a recuperare parte delle funzioni perdute andando ad attivare vie neurali prima inutilizzate. Nel caso di pazienti con gravi limitazioni nel movimento, l'attuale protocollo di trattamento InMotion2 prevede che in assenza prolungata di moto (qualche secondo) il robot intervenga in ausilio e completi il task. In queste condizioni il robot non ha alcun feedback circa il reale comportamento del paziente, ossia non può discriminare se esso stia effettivamente cercando di muovere l'arto (attivando quindi le aree motorie corticali corrispondenti all'arto superiore) o se fenomeni di stanchezza o frustrazione non siano intervenuti e, quindi, il paziente sta ricevendo in modo del tutto passivo la terapia.

Una possibile soluzione al problema è quella di includere nel protocollo di riabilitazione robotica con InMotion2 un'interfaccia cervello macchina, tramite periferica EEG, dedicata alla valutazione in tempo reale dell'attività motoria corticale del paziente. L'interfaccia cervello macchina (o brain computer interface - BCI) si occupa di riportare al soggetto e alla macchina informazioni in tempo reale circa attività corticali correlate con l'esecuzione di compiti mentali e/o motori. Le informazioni concernenti l'attività motoria corticale sono particolarmente preziose in neuroriabilitazione, in quanto

offrono una misura diretta e non invasiva dell'appropriatezza dell'esecuzione del task motorio già a livello centrale.

Il progetto si propone di sviluppare e validare un'interfaccia cervello-macchina non invasiva senza effetti collaterali, e a costi contenuti, per la riabilitazione neuromotoria dell'arto superiore. L'interfaccia permette di monitorare in tempo reale l'attività motoria corticale del paziente durante l'utilizzo della piattaforma robotica per la riabilitazione dell'arto superiore InMotion2. Il paziente e la macchina sono quindi in grado di valutare in tempo reale l'appropriatezza dell'esecuzione del task di moto dell'arto superiore anche in quelle condizioni in cui, per la gravità dei deficit motori, il paziente non fosse ancora in grado di produrre alcun movimento.

Questa informazione sarà utilizzata nell'implementazione di due innovativi protocolli di riabilitazione. Il primo protocollo permette il training dell'arto superiore tramite movimento solo immaginato, dando al paziente e al terapeuta il feedback necessario a valutare la bontà dell'esecuzione del task. Questo protocollo può essere somministrato ai pazienti in aggiunta agli altri protocolli, poiché non produce stanchezza muscolare. Il secondo è di supporto dell'attuale protocollo riabilitativo dell'arto superiore con InMotion2 e serve a limitare l'intervento attivo del robot in ausilio al movimento del paziente solo nelle condizioni di appropriata attività motoria corticale, in modo da massimizzare gli effetti di plasticità cerebrale, fondamentali nella riabilitazione neuromotoria.

Vengono utilizzati: due amplificatori EEG BrainAmp per amplificare il segnale di 19 elettrodi posizionati sullo scalpo secondo il sistema 10-20; software BrainAmp per l'acquisizione del segnale; piattaforma software open source BCI2000 per l'analisi in tempo reale del segnale EEG e la discriminazione degli stati cognitivi.

Protocollo di calibrazione: durante la sessione di calibrazione sono valutate le variazioni tra compiti motori reali, immaginati e stato di riposo su ciascun canale EEG in termini di r^2 . Solo tali canali e i canali limitrofi (per filtraggio spaziale laplaciano) sono inclusi nei montaggi successivi.

Protocollo di valutazione dell'interfaccia: impiegato per confrontare le performance di classificazione dell'attività corticale con gli esempi presenti nella letteratura. Ai soggetti è richiesto di controllare la posizione di un cursore mostrato su schermo tramite la modulazione della propria attività motoria corticale.

Protocollo riabilitativo robotico arricchito: ai pazienti sono somministrati esercizi di modulazione e mantenimento dell'attività corticale motoria, e nei pazienti con deficit sensorimotorio tale da precludere alcuni movimenti dell'arto superiore necessari all'esecuzione dei task propri del protocollo InMotion 2, l'attività motoria corticale è utiliz-

zata per modulare l'intervento attivo esercitato dal robot in ausilio all'esecuzione delle traiettorie.

E' stata implementata la piattaforma BCI. In particolare gli amplificatori EEG BrainAmp sono stati utilizzati per amplificare i segnali EEG provenienti da 19 elettrodi posizionati sullo scalpo secondo il sistema 10-20. Su di un laptop dedicato, il segnale in ingresso è stato filtrato dal rumore tramite software BrainAmp e in seguito indirizzato verso la piattaforma software open source BCI2000. Questa è stata riprogrammata per provvedere all'analisi in tempo reale dell'attività motoria corticale. Tale attività è stata misurata in termini di desincronizzazione evento correlata (ERD), in particolare valutando la riduzione dell'attività EEG sincronizzata nelle frequenze 8-12Hz (frequenza propria delle onde Mu). E' stato eseguito sperimentalmente un protocollo di calibrazione su di un singolo soggetto. Durante la sessione di calibrazione sono state valutate le variazioni tra compiti motori reali e stato di riposo su ciascun canale EEG in termini di r^2 . E' stato attuato anche il protocollo di valutazione dell'interfaccia, che ha evidenziato come le attuali performance di classificazione dell'attività corticale non siano ancora all'altezza di quanto presente in letteratura. Per questo motivo, le attività di ricerca di questo progetto si stanno focalizzando sugli algoritmi d'identificazione real-time degli stati cognitivi utilizzati dalla piattaforma open source BCI2000.

Ci si attendono due risultati fondamentali dall'utilizzo dell'interfaccia cervello macchina una volta risolti i problemi che ne affliggono le performance di discriminazione real-time degli stati cognitivi.

L'attuazione del protocollo riabilitativo d'immaginazione del moto permette di includere un nuovo protocollo di riabilitazione in aggiunta al trattamento riabilitativo classico data la caratteristica delle interfacce cervello macchina di non produrre stanchezza muscolare. Ci si attende quindi un miglioramento delle performance sensorimotorie del paziente al termine del trattamento dovute alla sua maggiore durata.

L'inclusione della piattaforma di neuro feedback in ausilio al protocollo di riabilitazione dell'arto superiore con InMotion2, invece, permette di limitare l'intervento attivo del robot in ausilio al movimento del paziente solo nelle condizioni di appropriata attività motoria corticale. In pratica, il sistema evita che il paziente assuma passivamente la riabilitazione per quei task nei quali non riesce effettivamente a produrre alcun movimento. Dato che tale approccio è mirato a massimizzare gli effetti di plasticità cerebrale fondamentali nella neuro riabilitazione, il risultato atteso è di un miglioramento delle capacità sensorimotorie del paziente in un minor tempo rispetto al normale termine del trattamento classico basato su specifici task.

I risultati preliminari dello studio sono stati presentati al XI Congresso Nazionale SIRON,

tenutosi a Verona nel mese di Maggio 2011, all'interno della lettura dal titolo "Tecnologie robotiche per il re-learning neuromotorio".

Utilizzo e validazione del Robot In Motion 2 in pazienti affetti da ictus sub acuto. Aspetti riabilitativi e di plasticità cerebrale

Lo scopo della ricerca è comprendere gli effetti della riabilitazione motoria robot-assistita rispetto alla classica riabilitazione motoria con fisioterapista in soggetti con stroke in fase sub-acuta mediante l'utilizzo di metodiche elettrofisiologiche. I marker elettroencefalografici (EEG) ed elettromiografici (EMG) permettono di evidenziare i miglioramenti della plasticità neurale e dell'accoppiamento cortico-muscolare ottenuti tramite riabilitazione motoria robot-assistita.

Sono stati reclutati 12 soggetti con stroke in fase acuta e randomizzati in 2 gruppi: un gruppo formato da pazienti sottoposti a riabilitazione motoria robot-assistita con MIT-Manus InMotion2. Il MIT-manus è un dispositivo robotico a effettore finale per spalla e gomito e un gruppo sottoposto a terapia classica riabilitativa composta da esercizi di mobilizzazione attiva e passiva con feedback verbale da parte del terapeuta di spalla e gomito.

Tattamento robot e fisioterapico: trattamento riabilitativo robot-assistito comprende un totale di 30 sessioni, della durata di 45 minuti ciascuna, per 5 giorni alla settimana e per un periodo di 6 settimane. Il protocollo riabilitativo consiste nell'esecuzione di esercizi task-oriented volti a migliorare sia il tipo di movimento (cinematica), sia la funzionalità articolare con una progressione prossimale-distale con esercizi che prevedono sia mobilizzazioni passive che la possibilità di esecuzione di movimenti attivi.

Il trattamento fisioterapico consiste in un trattamento di 45 minuti di mobilizzazione attiva e passiva dell'arto superiore mediante metodiche di Bobath o Kabat.

Registrazione EEG-EOG-EMG: i dati elettroencefalografici (EEG) sono registrati sui pazienti durante l'esercizio motorio e nelle condizioni di riposo ad occhi chiusi e ad occhi aperti. Il segnale EEG è registrato su 19 elettrodi collocati sullo scalpo secondo il Sistema Internazionale di riferimento 10-20, quattro canali elettromiografici (EMG) hanno permesso la registrazione dell'attività dei muscoli bicipite, tricipite, dorsale anteriore e dorsale posteriore. I pazienti sono stati sottoposti ad una prima valutazione all'inizio del trattamento (T₀) e una alla fine (T₁).

L'attività corticale è stata valutata calcolando la desincronizzazione/sincronizzazione EEG evento correlata (ERD/ERS) nella banda alfa (8-12 Hz). Inoltre, l'accoppiamento cortico-muscolare è stato valutato calcolando la coerenza spettrale EEG-EMG nella

banda alfa.

Risultati preliminari in fase di conferma e di ulteriori analisi dimostrano come dopo la riabilitazione robot-assistita, i soggetti hanno mostrato una riduzione della desincronizzazione evento correlata (ERD) nella banda alfa come indice di una riduzione dell'attività corticale. Tali risultati sono in linea con l'ipotesi di efficienza neurale. Al contrario i soggetti hanno mostrato un incremento della coerenza spettrale EEG EMG nella banda alfa, come indice di una riorganizzazione cortico muscolare.

Sono stati effettuati alcuni studi sui markers elettroencefalografici (EEG) per la diagnosi precoce e la previsione del declino cognitivo nella malattia di Alzheimer:

a) La potenza corticale dei ritmi EEG a riposo in pazienti con decadimento cognitivo lieve (MCI) e malattia di Alzheimer (AD) correla con il grado di atrofia corticale globale della materia grigia.

In questo studio è stata valutata l'ipotesi secondo la quale i meccanismi di sincronizzazione neuronale globale alla base dei ritmi corticali EEG a riposo siano progressivamente anomali durante l'invecchiamento cerebrale che porta all'atrofia corticale (riduzione del volume di materia grigia cerebrale) in pazienti MCI ed AD, i cui dati sono pervenuti da differenti unità di ricerca (Dipartimento di Scienze Biomediche dell'Università di Foggia; AFaR, Dipartimento di Neuroscienze Ospedale Fatebenefratelli di Roma; IRCCS "S. Giovanni di Dio-Fatebenefratelli" di Brescia; IRCCS Centro Neurolesi "Bonino-Pulejo", Messina; Dipartimento di Neuroscienze, Università di Roma "La Sapienza"; Dipartimento di Neuroscienze, Università di Napoli "Federico II"; Dipartimento di Scienze Neurologiche, Seconda Università di Napoli; "Campus Biomedico" di Roma; Fondazione SDN per la Ricerca e l'Alta Formazione in Diagnostica Nucleare, IRCCS Napoli; IRCCS Oasi, Troina -Enna). Lo studio ha previsto inoltre la collaborazione tra diversi istituti (Dipartimento di Diagnostica per Immagini, San Raffaele Cassino, Laboratorio di Neuroimaging, Dipartimento di Fisiologia e Farmacologia, Università di Roma La Sapienza; IRCCS "Ospedale Pediatrico Bambino Gesù", Roma; Istituto di Diagnosi e Cura "Hermitage Capodimonte", Napoli; Section head, Bioinformatics, H. Lundbeck A/S, Valby, Denmark; AstraZeneca R&D, Clinical Neuroscience, Södertälje; Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma).

Lo studio è stato condotto in 57 soggetti sani (Nold), 102 soggetti MCI e 108 AD. I dati EEG (19 canali) sono stati registrati nella condizione di veglia rilassata ad occhi chiusi. Per il calcolo del volume totale normalizzato di materia grigia è stato utilizzato il tool "Statistical Parametric Mapping" versione 2 (SPM2). La computazione del volume di

materia grigia è stata effettuata sulle MRI pesate T1. L'analisi delle sorgenti corticali dei generatori dei ritmi cerebrali è stata effettuata mediante il software LORETA ("low-resolution brain electromagnetic tomography"). Sono state prese in considerazione le bande: delta (2-4 Hz), teta (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). I risultati statistici hanno mostrato che, rispetto ai soggetti Nold, gli MCI sono caratterizzati da una riduzione dell'ampiezza delle sorgenti corticali EEG alfa. Tale riduzione risulta essere ancora più marcata negli AD dove si è osservato anche un aumento dell'ampiezza delle sorgenti delta. Considerando gli MCI e gli AD come un unico gruppo, si è anche osservato che maggiore risultava l'atrofia della materia grigia, peggiori erano i ritmi EEG corticali (ampiezze più alte per il delta patologico e più basse per l'alfa). Inoltre si è visto che migliore era il punteggio ai test cognitivi, minore era il livello di atrofia della materia grigia. Questi risultati suggeriscono che nei soggetti MCI amnesici e AD, le anomalie dei ritmi EEG a riposo non sono epifenomeni ma sono strettamente collegate alla neuro-degenerazione (atrofia della grigia) e allo stato cognitivo. Si può, quindi, ragionevolmente ritenere che le ampiezze dei ritmi alfa e delta a riposo possono rappresentare markers EEG dei processi di neuro-degenerazione in una fase preliminare di screening della popolazione "a rischio" declino cognitivo da Alzheimer.

b) Le sorgenti corticali dei ritmi EEG a riposo in pazienti con decadimento cognitivo lieve (MCI) e malattia di Alzheimer (AD) non subiscono variazioni legate a un diverso grado di lesione della materia bianca.

In uno studio precedente su soggetti MCI si è osservato come i ritmi EEG a riposo non si deteriorino all'aumentare delle lesioni di materia bianca sebbene questa sia un bersaglio durante la malattia di Alzheimer (AD). In questo studio si è valutata l'ipotesi che il risultato ottenuto sugli MCI trova conferma anche sui pazienti AD. Sono stati acquisiti dati EEG (19 elettrodi) su 40 soggetti anziani sani Nold, 96 MCI e 83 AD in veglia rilassata ad occhi chiusi. Il calcolo del volume normalizzato delle lesioni vascolari è stato eseguito utilizzando il tool di analisi "Expectation-Maximization Segmentation" (EMS). La computazione del volume delle lesioni vascolari è stata effettuata sulle immagini di risonanza magnetica (MRI) volumetriche di densità protonica (PD) e pesate T1 e T2. Il gruppo degli MCI è stato suddiviso in due seguenti sottogruppi in base al grado di lesione della materia bianca: MCI+ (maggiore carico lesionale; N=48) ed MCI- (minore carico lesionale; N=48). Lo stesso si è fatto per gli AD (AD+, N=42; AD-, N=41). Sono state prese in considerazione le seguenti bande di interesse: delta (2-4 Hz), teta (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). L'analisi delle sorgenti corticali dei generatori dei ritmi cerebrali è stata effettuata mediante il software LORETA. I risultati statistici hanno mostrato negli MCI e AD rispetto ai soggetti Nold una riduzione dell'ampiezza delle sorgenti corticali EEG alfa ed un aumento dell'ampiezza delle sorgenti delta. Inoltre, si è visto che l'ampiezza delle sorgenti alfa nelle regioni occipitale, temporale e limbica era maggiore negli MCI+ rispetto agli MCI-. Risultati già noti dalla letteratura a cui si aggiunge il risultato sugli AD, per i quali si ha una minore ampiezza del delta nell'area occipitale ed una maggiore ampiezza dell'alfa nell'area centrale, parietale, occipitale, temporale, e limbica negli AD+ rispetto agli AD-. Questi risultati suggeriscono come, sia nei soggetti MCI che negli AD, i ritmi corticali a riposo, specificatamente quelli posteriori, non si deteriorano con l'aumento della lesione vascolare della materia bianca. Si può, quindi, ragionevolmente ritenere che questi ritmi possano essere più sensibili ai processi neurodegenerativi dell'AD ed allo stato cognitivo piuttosto che al grado di lesione vascolare della materia bianca.

c) Una stabilità cognitiva a lungo termine in soggetti con decadimento cognitivo lieve (MCI) è correlata alle ampiezze delle sorgenti EEG a riposo del ritmo alfa.

E' stato condotto uno studio, su soggetti amnesici MCI, allo scopo di valutare se valori alti dell'ampiezza dei ritmi alfa (8-2 Hz) corticali alla baseline siano correlati ad una stabilità a lungo termine dello stato cognitivo (basata sul follow-up clinico del Mini Mental State Evaluation, MMSE). Sono stati registrati dati EEG (19 elettrodi) su 100 soggetti MCI in veglia rilassata ad occhi chiusi. Sono state prese in considerazione le seguenti bande di frequenza: delta (2-4 Hz), teta (4-8 Hz), alfa 1 (8-10.5Hz), alfa 2 (10.5-13 Hz), beta 1 (13-20 Hz), beta 2 (20-30 Hz), e gamma (30-40 Hz). L'analisi delle sorgenti corticali dei generatori dei ritmi cerebrali è stata effettuata mediante il software LORETA. Lo stato cognitivo globale è stato indicizzato tramite il punteggio ottenuto per l'MMSE alla baseline e al follow-up dopo un anno. Sulla base della differenza percentuale tra l'MMSE alla baseline e quello al follow-up (MMSEvar), gli MCI sono stati suddivisi nei seguenti sottogruppi: (i) MCI che riducevano il punteggio dell'MMSE (MMSEvar<-4%; n=43), (ii) MCI che lo mantenevano stabile (MMSEvar=0; n=27), e (iii) MCI che lo incrementavano (MMSEvar>+4%; n=30). I risultati statistici hanno mostrato che le sorgenti corticali alfa mostravano ampiezze più basse negli MCI che presentavano una variazione dell'MMSE nel tempo (un anno) rispetto a quelli che lo mantenevano invariato. Ciò suggerisce che, negli MCI, una preservata sincronizzazione neuronale corticale a riposo è legata ad una stabilità a lungo termine delle funzioni cognitive.

d) Accuratezza dei ritmi EEG come marcatori per la diagnosi della malattia di Alzheimer (AD).

E' stato condotto uno studio allo scopo di valutare l'accuratezza, la sensibilità e la specificità di alcuni parametri EEG. Sono state individuate 4 variabili di interesse sulla base di studi di letteratura: le sorgenti corticali dei generatori dei ritmi cerebrali (densità di potenza delle sorgenti delta ed alfa 1 occipitale) e l'accoppiamento funzionale fronto-parietale (valori di coerenza degli elettrodi Fz-Pz del delta e dell' alfa 1). Sono stati acquisiti dati EEG (19 elettrodi) su 82 soggetti Nold e 96 AD in veglia rilassata ad occhi chiusi. L'analisi delle sorgenti corticali dei generatori dei ritmi cerebrali è stata effettuata mediante il software LORETA. L'analisi dell'accoppiamento dei ritmi è stata effettuata mediante l'analisi della coerenza spettrale. I risultati statistici hanno mostrato il trend noto da letteratura: valori di ampiezze EEG e coerenza fronto-parietale maggiori nella banda alfa 1 (8-10 Hz) negli Nold rispetto agli AD; il contrario si è osservato nella banda delta (2-4 Hz). Le soluzioni di LORETA logaritmo-trasformate e i valori di coerenza tangente-iperbolica trasformati sono state considerate come coordinate di uno spazio a 4 dimensioni caratterizzante ogni soggetto (Nold o AD). Di seguito è stata eseguita una classificazione binaria basata sulla "distanza di Mahalanobis" (Dm) tra la posizione di ogni singolo soggetto nello spazio 4-dimensionale e quella rappresentante la media delle popolazioni di riferimento Nold e AD con cui è stato "allenato" il classificatore. Sono stati ottenuti dei valori incoraggianti, in particolare per l'accuratezza (71.8%) e la sensibilità (80.2%). Se questi valori verranno confermati anche su una popolazione di soggetti MCI che mostrano i primi segni di neuro-degenerazione tipica della malattia di Alzheimer, tali parametri EEG potrebbero essere utilizzati su larga scala in una fase preliminare di screening della popolazione "a rischio" declino cognitivo da Alzheimer.

e) Ritmi EEG a riposo nella malattia di Alzheimer (AD).

L'invecchiamento fisiologico del cervello è caratterizzato da perdita di sinapsi e processi neurodegenerativi che lentamente portano ad un declino cognitivo legato all'età. Una sovrabbondanza di neuroni/sinapsi e la plasticità cerebrale, dovuti anche ad un allenamento fisico e cognitivo, promuovono il mantenimento della attività cerebrale in soggetti anziani sani per la vita quotidiana, un buon comportamento sociale, e delle preservate capacità intellettuali. Tuttavia, l'età è il fattore di rischio maggiore per patologie neurodegenerative più comuni che hanno un impatto sulla cognizione, come la malattia di Alzheimer (AD). Moderne tecniche neurofisiologiche, come l'elettroencefalografia (EEG) e i potenziali evento-correlati (ERP), sono strumenti utili per l'indagine delle funzioni cerebrali cognitive durante l'invecchiamento fisiologico e patologico con

una ottima risoluzione temporale. La discriminazione tra invecchiamento cerebrale fisiologico e patologico emerge con chiarezza a livello di gruppo, con qualche risultato promettente per il valore informativo dei marcatori EEG a livello individuale. La possibilità di combinare l'uso di EEG insieme a marcatori biologici/neuropsicologici e strutturali/funzionali per immagini (come la fMRI) è promettente per una valutazione a basso costo, non invasiva, e largamente disponibile in gruppi di individui a rischio.

f) Ritmi EEG a riposo in soggetti con decadimento cognitivo lieve (MCI) e malattia di Alzheimer (AD).

In questo progetto si è studiato come l'invecchiamento cerebrale fisiologico sia caratterizzato da una combinazione di decadimento sinaptico, perdita di connessioni cortico-corticali e apoptosi neuronale che provocano un declino delle funzioni cognitive legate all'età. Purtroppo, in situazioni patologiche, l'invecchiamento innesca processi neurodegenerativi che hanno un impatto sulla cognizione, come la malattia di Alzheimer (AD). L'attività elettromagnetica del cervello è una caratteristica della funzione della rete neuronale in diverse aree cerebrali. Moderne tecniche neurofisiologiche tra cui l'elettroencefalografia digitale (EEG) permettono una analisi non invasiva della connettività cortico-corticale e la sincronizzazione neuronale. Lo studio specifico nel campo dell'EEG, suggerisce che la discriminazione tra invecchiamento cerebrale fisiologico e patologico emerge con chiarezza a livello di gruppo, con qualche risultato promettente per il valore informativo dei marcatori EEG a livello individuale. Approcci integrati che utilizzano tecniche neurofisiologiche con marcatori biologici e di imaging strutturale e funzionale sono promettenti poiché a basso costo e largamente disponibile sul territorio per uno screening non invasivo delle popolazioni a rischio.

g) Ritmi EEG a riposo nella malattia di Alzheimer (AD): marker EEG per applicazioni cliniche.

Il cervello umano contiene un'intricata e complessa rete di circa 100 miliardi di neuroni. L'invecchiamento cerebrale è caratterizzato da una combinazione di decadimento sinaptico, perdita di connessioni cortico-corticali e apoptosi neuronale che provocano un declino delle funzioni cognitive legato all'età. Una sovrabbondanza di neuroni/sinapsi e la plasticità cerebrale, dovuti anche ad un allenamento fisico e cognitivo, promuovono il mantenimento dell'attività cerebrale in soggetti anziani sani (Nold) per la vita quotidiana, un buon comportamento sociale, e delle preservate capacità intellettuali. Tuttavia, l'età è il fattore di rischio per patologie neurodegenerative più comuni che hanno un impatto sulla cognizione, come il morbo di Alzheimer (AD). Sempre più evi-

denze sperimentali supportano l'idea che l'attività elettromagnetica del cervello rappresenti una caratteristica funzionale della rete neuronale in aree cerebrali specifiche e funzionalmente connesse. Seguendo questa linea, l'EEG permette un'analisi non invasiva dei fenomeni di sincronizzazione neuronale. Questa review fornisce un quadro degli studi sull'EEG a riposo registrato su pazienti con decadimento cognitivo lieve (MCI) e AD nella condizione di veglia rilassata ad occhi chiusi. Diversi studi supportano l'idea che marcatori spettrali dei ritmi EEG come, per esempio, la densità di potenza e la coerenza spettrale, differiscono a livello di gruppo tra soggetti Nold, MCI e AD. Per quanto riguarda la classificazione di soggetti anziani sani (Nold e AD) a livello di singolo individuo, si è osservato un moderato livello di accuratezza (70-80%). Gli indici spettrali dell'EEG a riposo sono marker promettenti per una valutazione a basso costo, non invasiva e facilmente utilizzabile in gruppi di individui a rischio.

Sono stati effettuati alcuni studi sui meccanismi di neuroplasticità negli atleti d'elite-verso una futura applicazione nello studio delle patologie neurodegenerative:

a) Studio dei meccanismi di neuroplasticità negli atleti d'elite: verso una futura applicazione nello studio delle patologie neurodegenerative.

La reattività dei ritmi EEG alfa all'apertura degli occhi è più bassa negli atleti di elite rispetto ai non atleti.

In questo studio è stata valutata l'ipotesi secondo la quale, rispetto ai non atleti, gli atleti di elite sono caratterizzati da una riduzione della reattività dei ritmi elettroencefalografici (EEG) alfa (8-12 Hz) all'apertura degli occhi, come segno di una attività corticale selettiva ("efficienza neurale"). Lo studio è stato condotto in 18 karateka di elite e 28 non atleti. I dati EEG (56 canali) sono stati registrati nella condizione di riposo ad occhi chiusi ed ad occhi aperti. Le bande EEG di interesse sono state: alfa 1 (8-10 Hz) e alfa 2 (10-12 Hz). La reattività all'apertura degli occhi è stata indicizzata mediante la variazione di ampiezza EEG alfa nella condizione di riposo ad occhi aperti rispetto alla condizione di riposo ad occhi chiusi. I risultati statistici hanno mostrato che la reattività dei ritmi EEG nella banda alfa 1 all'apertura degli occhi è minore negli atleti di elite rispetto ai non atleti nelle aree frontali, centrali ed occipitali. Lo stesso risultato si è osservato per la banda alfa 2 nelle aree frontali e centrali. Questi risultati supportano l'ipotesi secondo la quale il cervello degli atleti di elite è caratterizzato da una riduzione dell'attività corticale all'apertura degli occhi nella condizione di riposo, in linea con l'ipotesi di "efficienza neurale". Si può ragionevolmente ipotizzare che la reattività dei ritmi EEG alfa all'apertura degli occhi possa rappresentare un valido marker EEG dei

processi di neuroplasticità nel corso della riabilitazione cognitivo-motoria.

b) L'accoppiamento dei ritmi EEG prima di una prestazione visuomotoria caratterizza gli atleti rispetto ai non atleti .

In uno studio precedente è stato mostrato che l'ampiezza dei ritmi EEG alfa (8-12 Hz) e beta (14-35 Hz) caratterizza la fase preparatoria del tiro con la pistola in atleti di elite rispetto a non atleti (Del Percio et al., 2009). In questo studio si è valutata l'ipotesi secondo la quale la fase preparatoria del tiro con la pistola è anche caratterizzata da un maggiore accoppiamento dei ritmi EEG, come segno di una ottimale integrazione dell'informazione prima del tiro tra regioni corticali parietali e altre regioni corticali. Lo studio è stato condotto in 18 tiratori di elite e 10 non atleti. I dati EEG (56 canali) sono stati registrati mentre gli atleti e i non atleti eseguivano circa 100 tiri di pistola. Le bande EEG di interesse sono state: delta (2-4 Hz), teta (4-6 Hz), alfa 1 (8-10 Hz), alfa 2 (10-12 Hz), beta 1 (14-22 Hz), beta 2 (22-35 Hz) e gamma (36-44 Hz). L'analisi dell'accoppiamento dei ritmi è stata effettuata mediante l'analisi della coerenza spettrale. I risultati statistici hanno mostrato che l'ampiezza della coerenza spettrale intra-emisferica parieto-occipitale e parieto-temporale nelle bande alfa 1, alfa 2, beta 2 e gamma è maggiore negli atleti d'elite rispetto ai non-atleti. Lo stesso risultato si è osservato per la coerenza spettrale inter-emisferica parietale nelle bande nelle bande alfa 1, alfa 2, beta 2 e gamma. Questi risultati supportano l'ipotesi che l'efficienza degli atleti sia correlata all'accoppiamento regionale della sincronizzazione neurale corticale alla base dei ritmi EEG nel corso di intensi processi visuo-attentivi. Si può ragionevolmente ipotizzare che tale marker di "network" possa rappresentare un valido indice dei processi di neuroplasticità visuo-attentiva nel corso della riabilitazione cognitivo-motoria.

c) L'accoppiamento dei ritmi EEG alfa caratterizza la prestazione degli atleti di elite.

In uno studio precedente è stato mostrato che l'ampiezza dei ritmi EEG alfa (8-12 Hz) caratterizza le prestazioni dei golfisti di elite: l'ampiezza alfa risulta essere maggiore nei colpi ("putt") vincenti rispetto a quelli sbagliati (Babiloni et al., 2008). In questo studio è stata valutata l'ipotesi che la prestazione vincente è anche associata ad un maggiore accoppiamento dei ritmi EEG alfa, come segno di una ottimale integrazione dell'informazione prima del colpo tra regioni corticali differenti. Lo studio è stato condotto in 12 golfisti di elite. I dati EEG (56 canali) sono stati registrati mentre gli atleti eseguivano circa 100 colpi ("putt"). Le bande EEG di interesse sono state: alfa 1 (8-10 Hz) e alfa 2 (10-12 Hz). L'analisi dell'accoppiamento dei ritmi è stata effettuata mediante l'analisi

della coerenza spettrale. I risultati statistici hanno mostrato che l'ampiezza della coerenza spettrale intra-emisferica parieto-frontale e parieto-centrale alfa 1 è maggiore nei colpi vincenti rispetto a quelli sbagliati. Lo stesso risultato si è osservato per la coerenza spettrale intra-emisferica parieto-frontale nelle banda alfa 2. Questi risultati supportano l'ipotesi che l'efficienza degli atleti sia correlata all'accoppiamento regionale della sincronizzazione neurale corticale alla base dei ritmi EEG nel corso di intensi processi visuo-attentivi. Si può ragionevolmente ipotizzare che tale marker di "network" possa rappresentare un valido indice dei processi di neuroplasticità visuo-attentiva nel corso della riabilitazione cognitivo-motoria.

d) Pattern temporali su indici psicofisiologici durante il tiro a segno in atleti di elite: un approccio probabilistico.

Studi precedenti sui pattern temporali di indici emozionali, psicofisici e psicofisiologici durante il tiro a segno si sono limitati all'analisi di gruppo dei dati seguendo metodologie tradizionali. L'approccio probabilistico IZOF (Individual Zones of Optimal Functioning) fornisce una metodologia che rende possibile lo studio "within subject" degli stati della performance dei tiratori. Lo scopo principale del presente studio è stato quello di valutare, rispetto al metodo tradizionale, il valore di un approccio probabilistico idiosincratico per stimare il valore della corso temporale degli indici fisiologici di eccitazione/attivazione e vigilanza (GSR e HR rispettivamente) durante il periodo che precede il tiro. I risultati mostrano che l'uso del metodo probabilistico idiosincratico per analizzare parametri fisiologici come la GSR (riflesso psicogalvanico) e HR (frequenza cardiaca) sembra essere più efficace rispetto al metodo tradizionale per spiegare i meccanismi fisiologici associati alle prestazioni dei tiratori perché permette di apprezzare le sottili variazioni che si verificano per gli indici GSR e HR istantanei durante il periodo preparatorio che precede il tiro e non solo nell'istante esatto del tiro. Mediante il metodo probabilistico idiosincratico si può meglio distinguere il contributo di eccitazione/attivazione e prontezza per prestazioni ottimali e non ottimali negli atleti di tiro a segno, fornendo così una rappresentazione più nitida dello schema temporale degli stati dei tiratori prima della performance sportiva. L'analisi combinata di tali variazioni fisiologiche e del tono edonico, ha fornito una chiara discriminazione dei fenomeni di eccitazione/attivazione e prontezza alla base delle prestazioni di tiro. Tale strategia potrebbe essere usata anche negli studi sulla riabilitazione motoria per correlare il miglioramento della performance visuomotoria allo stato globale emozionale, psicofisico e psicofisiologico durante l'atto motorio.

Sono stati effettuati alcuni studi sulle registrazioni EEG in simultanea in musicisti: verso un futuro approccio metodologico per lo studio dell'attività cerebrale in soggetti con deficit neurologici durante interazioni sociali di gruppo:

a) Registrazione simultanea di dati EEG in musicisti coinvolti nell'esecuzione di un brano musicale.

In questo studio è stato descritto un nuovo approccio metodologico per la registrazione simultanea di dati EEG in musicisti coinvolti nell'esecuzione di un brano musicale. Una nuova tecnologia sviluppata da un'azienda italiana nel campo delle strumentazioni biomedicali (EBNEURO s.p.a.) ha consentito di registrare simultaneamente l'attività EEG del cervello da gruppi di quattro musicisti in concerto. I dati EEG (30 canali) sono stati registrati durante l'esecuzione di un brano musicale in concerto (ESECUZIONE) e la condizione di riposo (RIPOSO). La qualità dei dati EEG è stata confermata dalla elevata percentuale di epoche EEG prive di artefatti (80%) e dalle caratteristiche spettrali del segnale EEG. Durante la condizione di riposo, lo spettro di potenza EEG ha presentato il tipico andamento ottenuto da una registrazione di qualità standard: si è infatti osservato il picco di potenza spettrale nella banda alfa (8-12 Hz) nelle aree posteriori. Durante l'esecuzione del brano musicale, si è osservata una riduzione di potenza spettrale nella banda alfa e un incremento di potenza spettrale alle frequenze più alte. Tali risultati suggeriscono che il presente approccio metodologico risulta essere adatto per la registrazione simultanea di dati EEG in musicisti coinvolti nell'esecuzione di un brano musicale. Si può ragionevolmente ipotizzare che quest'approccio metodologico possa essere utilizzato per studiare l'attività cerebrale in soggetti con deficit neurologici durante interazioni sociali di gruppo, al fine di comprendere meglio le basi neurologiche di questi disturbi e di sviluppare e selezionare gli interventi terapeutici e riabilitativi più efficaci.

b) Cervelli "in concerto": relazione tra ampiezza dei ritmi EEG alfa e l'empatia in musicisti professionisti.

L'esecuzione di un brano musicale in concerto rappresenta una condizione umana unica in cui i musicisti devono fare affidamento sulle proprie capacità empatiche. Recenti teorie attribuiscono alle aree di Brodmann (BA) 44/45 e 10/11 una base neurale per l'empatia "emotiva" e l'empatia "cognitiva". In questo studio è stata valutata l'ipotesi secondo la quale l'attività di queste strutture riflette le capacità empatiche nei musicisti professionisti mentre suonano in gruppo. Lo studio è stato condotto in tre quartetti di musicisti professionisti (sassofonisti). L'empatia soggettiva è stata misurata

da un test psicologico standardizzato (empathy quotient test, EQT). I dati EEG (30 canali) sono stati registrati in simultanea sui 3 quartetti durante l'esecuzione di un brano musicale (ESECUZIONE), l'osservazione della videoripresa della performance musicale (OSSERVAZIONE), l'osservazione di una videoripresa in cui i sassofonisti voltavano la pagina dello spartito (CONTROLLO) e la condizione di riposo (RIPOSO). Le bande EEG di interesse sono state: alfa 1 (8-10 Hz) e alfa 2 (10-12 Hz). L'analisi delle sorgenti corticali EEG alfa è stata effettuata mediante la tecnica di LORETA. L'attività corticale è stata indicizzata mediante la variazione dell'ampiezza EEG alfa nelle condizioni ESECUZIONE, OSSERVAZIONE e CONTROLLO rispetto alla condizione di riposo. I risultati statistici hanno mostrato, per la condizione ESECUZIONE, una correlazione tra il livello di empatia e l'ampiezza corticale alfa nella BA 44/45: maggiore è il livello di empatia, maggiore è l'ampiezza corticale alfa nella BA 44/45. Nessuna correlazione statisticamente significativa si è vista nelle condizioni OSSERVAZIONE e CONTROLLO o in altre BA di controllo. Le aree BA 44 e BA 45 sono regioni frontali che fanno parte dei cosiddetti sistemi "specchio" ("mirror systems"), e sono ben note per il loro ruolo nella comprensione dei comportamenti, delle emozioni e delle intenzioni delle altre persone. I presenti risultati suggeriscono che i ritmi alfa nella BA 44/45 riflettono empatia emotiva nei musicisti professionisti. Si può ragionevolmente ipotizzare che quest'approccio metodologico possa essere utilizzato per studiare l'attività cerebrale in soggetti con deficit neurologici durante interazioni sociali di gruppo, al fine di comprendere meglio le basi neurologiche di questi disturbi e di sviluppare e selezionare gli interventi terapeutici e riabilitativi più efficaci.

Area di Ricerca Parkinson e Disturbi del Movimento

Studio di interazione tra safinamide e levodopa in pazienti affetti da malattia di Parkinson

La ricerca di nuove molecole che possano affiancare l'attuale terapia farmacologica per la cura dei pazienti affetti da malattia di Parkinson è sempre in costante sviluppo. La safinamide appartiene ad una classe di farmaci noti come inibitori degli enzimi MAO-B. È stata sviluppata come terapia aggiuntiva e agisce aumentando la disponibilità di dopamina nelle aree cerebrali interessate dalla malattia (nuclei della base). Precedenti studi hanno mostrato una buona efficacia e tollerabilità di questo nuovo farmaco. Scopo di questo studio è stato quello di indagare l'effetto della safinamide controllata verso placebo sulla farmacocinetica della levodopa, misurando le concentrazioni plasmatiche della levodopa stessa, della carbidopa e dei metaboliti.

Il disegno di questo studio ha previsto una randomizzazione in doppio cieco, controllata verso placebo, in a 1:1 ratio con il seguente trattamento sequenziale: A → B o B → A con 100 mg di safinamide aggiunto a dosaggi standard di levodopa, somministrata in due periodi, in due sequenze crossover.

Sono stati screenati 27 pazienti; solo 3 pazienti, dopo aver effettuato le procedure di screening previste, non hanno potuto proseguire lo studio per la presenza di degenerazione retinica di vario grado (criterio di esclusione). Sono stati quindi randomizzati 24 pazienti (14 maschi e 10 femmine) affetti da malattia di Parkinson conclamata e già in trattamento con levodopa, di età media di 65 anni. Tutti i partecipanti sono stati randomizzati in accordo alle procedure di studio e divisi in due gruppi:

1. safinamide 100 mg nel periodo 1, seguita da placebo nel periodo 2;
2. placebo nel periodo 1, seguito da safinamide 100 mg nel periodo 2.

In tutto sono state effettuate le 7 visite previste, per una durata complessiva di osservazione di circa tre mesi, comprendenti la visita di screening, due periodi di trattamento di 6 giorni separati da un periodo di wash-out di almeno 14 giorni, ed una visita di fine studio 14-21 giorni dopo l'ultima somministrazione del farmaco del periodo 2.

Durante ognuno dei periodi, i pazienti sono stati sottoposti per due giorni consecutivi a prelievi ematici per valutare la farmacocinetica della levodopa: il primo giorno eseguendo campioni prima di ogni dose abituale di levodopa, e il secondo giorno prima e dopo somministrazione singola di safinamide/placebo e levodopa, per una durata di 6 ore (ogni 30 minuti).

Risultati di Farmacocinetica: complessivamente, il profilo della concentrazione media

plasmatica della levodopa è risultata simile dopo la co-somministrazione di safinamide (Trattamento A) e dopo la co-somministrazione di placebo (Trattamento B), sia dopo singola dose (giorno 1) che dopo terapia stabile (giorno 6). Riguardo i parametri farmacocinetici, la Cmax e l'area sotto la curva AUC₀₋₆ della levodopa a giorno 1 e giorno 6 è risultata comparabile nei due trattamenti.

L'analisi della varianza (ANOVA) per ratio Trattamento A/Trattamento B al giorno 1 e al giorno 6 (vedasi tabella) è vicina al 100% per entrambe i parametri di Cmax e AUC₀₋₆ della levodopa.

			Ratio Estimate (%) 90% CI
	Trattamento A (levodopa + safinamide)	Trattamento B (levodopa + placebo)	Trattamento A / Trattamento B
Day 1			
Cmax (ng/mL)	974.895	950.327	102.6 (88.6-118.8)
AUC ₀₋₆ (ng.h/mL)	1999.9	1734.8	115.3 (95.3-139.5)
Day 6			
Cmax (ng/mL)	944.322	950.325	99.4 (77.9-126.8)
AUC ₀₋₆ (ng.h/mL)	1792.2	1931.6	92.8 (82.1-104.8)

Risultati di sicurezza: la safinamide è risultata ben tollerata quando co-somministrata con levodopa. Non si sono verificati eventi avversi seri ed il profilo di tollerabilità del farmaco è risultato ottimo. I quattro eventi avversi non seri segnalati (vomito, malessere, anemia e discinesie), non sono stati considerati farmaco-correlati. I parametri di laboratorio, i segni vitali e gli ECG dei pazienti non hanno mostrato modifiche di rilevanza clinica (ad eccezione di un caso di anemia segnalato come evento avverso).

La safinamide non modifica in maniera rilevante la farmacocinetica della levodopa, e la somministrazione di 100 mg una volta al giorno è ben tollerata.

Statistica comparativa dei test Mini Mental State Examination (MMSE) e Montreal Cognitive Assessment (MoCA) nello screening cognitivo della malattia di Parkinson

La malattia di Parkinson è una malattia neurodegenerativa cronica e progressiva che riguarda le strutture nervose che costituiscono il sistema extrapiramidale.

Si manifesta attraverso tre sintomi motori importanti: acinesia, rigidità e tremore.

La malattia di Parkinson colpisce inoltre una costellazione di sintomi non motori, che riguardano anche la sfera cognitiva. Le aree maggiormente colpite sono: l'attenzione, la memoria di lavoro, la fluenza verbale, le funzioni esecutive e visuospatiali.

Nella pratica clinica e sperimentale, il test maggiormente utilizzato per la valutazione dei disturbi dell'efficienza intellettiva e della presenza di deterioramento cognitivo è il Mini Mental State Examination. Il test è costituito da trenta item, che fanno riferimento a sette aree cognitive differenti: orientamento nel tempo, orientamento nello spazio, registrazione di parole, attenzione e calcolo, rievocazione, linguaggio, prassia costruttiva.

Il punteggio totale è compreso tra un minimo di 0 ed un massimo di 30 punti. Un punteggio uguale o inferiore a 18 è indice di una grave compromissione delle abilità cognitive; un punteggio compreso tra 18 e 24 è indice di una compromissione da moderata a lieve, un punteggio pari a 25 è considerato borderline, da 26 a 30 è indice di normalità cognitiva.

Negli ultimi anni è stato introdotto un nuovo strumento cognitivo, il Montreal Cognitive Assessment (MoCA).

Il MoCA è stato progettato come strumento per un rapido screening del deterioramento cognitivo lieve. Valuta diversi domini cognitivi: attenzione e concentrazione, funzioni esecutive, memoria, linguaggio, abilità visuocostruttive, astrazione, calcolo e orientamento. Il tempo di somministrazione del MoCa è di 10 minuti. Il massimo punteggio possibile è 30 punti; un punteggio uguale o superiore a 26 è considerato normale.

Le aree valutate sono: il trail making, le abilità visuocostruttive, la memoria di lavoro, l'attenzione sostenuta, il calcolo, la fluenza verbale, l'astrazione, il richiamo differito e l'orientamento.

Lo studio ha come obiettivo l'analisi comparativa di MMSE e MoCa per valutarne la validità, l'attendibilità nella popolazione parkinsoniana. Viene inoltre somministrato un questionario sulla qualità della vita Parkinson's Disease Questionnaire (PDQ-39) per vedere se esistono delle correlazioni tra sintomi cognitivi e livello della qualità della vita.

Il campione comprende 106 pazienti affetti dalla malattia di Parkinson, 55 di sesso maschile e 51 di sesso femminile. L'età compresa dei partecipanti era tra i 46 e 89 anni e l'età alla diagnosi compresa tra 21 e 86 anni.

A tutti i pazienti sono stati somministrati MoCa, MMSE e PDQ-39.

Nella Tabella 1 sono riassunte complessivamente le caratteristiche cliniche e demografiche del campione finora analizzato, e i punteggi totali e sub-totali dei questionari MoCA, MMSE e PDQ-39.

Nella Tabella 2 sono riportati i risultati parziali dell'analisi di correlazione effettuata applicando l'algoritmo di Spearman. I risultati al momento suggeriscono un'elevata, e sta-

tisticamente significativa, correlazione fra i due questionari relativamente a tutte le aree di valutazione corrispondenti, inclusi i punteggi totali grezzi e corretti.

In Tabella 3 sono riassunte, separatamente per il gruppo di soggetti con e senza deficit cognitivo secondo i valori soglia del MoCA e del MMSE, le caratteristiche cliniche e demografiche del campione in studio, e i punteggi totali e sub-totali dei questionari MoCA, MMSE e PDQ-39.

Per il confronto fra gruppi sulle variabili categoriche è stato applicato il test del Chi-Quadro di Pearson (o il test Esatto di Fisher nel caso di frequenze attese < 5), per il confronto sulle variabili continue è stato usato il test della Somma dei Ranghi di Wilcoxon (test di Mann-Whitney).

I soggetti con e senza deficit cognitivo, definiti secondo i valori soglia del MoCA e del MMSE, non differiscono significativamente per le caratteristiche demografiche e cliniche tranne che per la scolarità (MoCA: $p < 0.001$; MMSE: $p = 0.011$).

Una differenza statisticamente significativa è stata anche identificata per l'età e per l'età alla diagnosi, ma solamente tra i soggetti con e senza deficit cognitivo secondo la classificazione del MMSE (age: $p = 0.002$; age at diagnosis: $p = 0.010$).

In riferimento alla classificazione del deficit secondo il questionario MoCA, i soggetti differiscono significativamente per il punteggio totale e tutti i sub-totali del MMSE (escluso il sub-totale della memoria), e per il punteggio totale e tutti i sub-totali del MoCA.

In riferimento alla classificazione del deficit secondo il questionario MMSE, i soggetti differiscono significativamente per il punteggio totale e tutti i sub-totali sia del questionario MMSE sia del MoCA. Non è stata trovata alcuna differenza statisticamente significativa sui punteggi delle sottoscale del questionario PDQ-39 tra il gruppo dei soggetti con e senza deficit, secondo la classificazione sia del MMSE sia del MoCA.

La Figura 1 mostra le curve ROC (receiver operating characteristic) dei questionari MoCA e MMSE. Il MoCA è stato scelto come gold-standard per la presenza o assenza del deficit cognitivo. Dunque, la sua area ROC è 100%. L'area ROC del MMSE è stata stimata del 79%. La differenza fra le due aree ROC è risultata statisticamente significativa ($p < 0.001$).

Tabella 1

Caratteristiche cliniche e demografiche, punteggi ai questionari MoCA, MMSE e PDQ-39. Valori totali

MMSE: Mini-Mental State Examination; MoCA: Montreal Cognitive Assessment; PDQ-39: Parkinson's Disease Questionnaire

Variabili	n	%	Variabili	n	media	dev. stand.	min	max	mediana
Sesso									
Maschio	55	51.89	Età	106	71.24	9.40	46	89	72
Femmina	51	48.11							
Età alla Diagnosi				106	61.73	12.14	21	86	62.50
Stato Civile									
Nubile/ Celibe	2	1.89	Scolarità	106	8.77	4.95	0	18	8
Sposato/a	87	82.08	Questionario MMSE						
Vedovo/a	8	7.55	Orientamento	106	8.58	1.93	1	10	9
Divorziato/a	9	8.49	Memorizzazione	106	2.92	0.33	1	3	3
Attenzione e Calcolo				106	3.18	1.73	0	5	3
Lavoro				106	2.01	0.89	0	3	2
Impiegato	17	16.04	Linguaggio	106	7.85	1.24	4	9	8
Pensionato	69	65.09	Visuospaziale-Esecutivo	106	2.31	0.83	0	4	3
Casalinga	17	16.04	Totale Grezzo	106	24.55	4.49	12	30	25
Studente	1	0.94	Totale Corretto	106	24.16	4.37	12.70	30	25
Altro	2	1.89	Questionario MoCA						
Visuospaziale-Esecutivo				106	2.49	1.57	0	5	2
Levodopa				106	2.65	0.66	0	3	3
No	19	17.92	Memoria 1	106	3.84	1.31	0	5	4
Si	87	82.08	Memoria 2	106	4.39	0.97	0	5	5
Memoria 1+2				106	8.23	2.08	1	10	9
Questionario MMSE Corretto			Attenzione	106	4.09	1.61	0	6	4
In Deficit	64	60.38	Linguaggio	106	1.78	0.92	0	4	2
Normale	42	39.62	Astrazione	106	1.03	0.80	0	2	1
Richiamo Differito				106	1.36	1.40	0	5	1
Questionario MoCA Corretto			Orientamento	106	5.11	1.33	0	6	6
In Deficit	94	88.68	Totale Grezzo	106	18.52	5.58	4	30	19
Normale	12	11.32	Totale Corretto	106	19.29	5.44	5	30	20
Questionario PDQ-39									
Mobilità				106	55.33	30.86	0	100	55
Attività di Vita Quotidiana				106	39.43	28.53	0	100	37.50
Benessere Emotivo				106	44.46	24.24	0	100	45.83
Stigma				106	28.01	30.56	0	100	18.75
Supporto Sociale				101	50.99	24.25	0	83.33	66.67
Facoltà Cognitive				106	30.01	20.71	0	87.50	25
Comunicazione				106	26.18	25.81	0	100	20.83
Disagi Fisici				106	33.65	25.95	0	100	33.33

Tabella 2**Analisi di correlazione fra punteggi totali e sub-totali dei questionari MoCA e MMSE**MMSE: Mini-Mental State Examination; MoCA: Montreal Cognitive Assessment; significatività statistica: $p < 0.05$

Questionario MoCA	Questionario MMSE	Coefficiente di Correlazione	p-value
Orientamento	Orientamento	0.8250	< 0.0001
Memoria 1+2	Memorizzazione	0.2140	0.0276
Attenzione	Attenzione e Calcolo	0.6937	< 0.0001
Richiamo Differito	Richiamo Differito	0.5746	< 0.0001
Linguaggio	Linguaggio	0.4791	< 0.0001
Denominazione	Linguaggio	0.2446	0.0115
Astrazione	Linguaggio	0.3933	< 0.0001
Visuospaziale-Esecutivo	Visuospaziale-Esecutivo	0.5555	< 0.0001
Totale Grezzo	Totale Grezzo	0.8241	< 0.0001
Totale Corretto	Totale Corretto	0.7791	< 0.0001

Tabella 3**Caratteristiche cliniche e demografiche, punteggi ai questionari MoCA, MMSE e PDQ-39. Confronto fra soggetti con e senza deficit cognitivo**Valori soglia per deficit cognitivo: MoCA<26, MMSE<26; F: Test Esatto di Fisher; M: Test di Man-Whitney (Wilcoxon Rank-Sum); significatività statistica: $p < 0.05$ (evidenziati in grassetto). MMSE: Mini-Mental State Examination; MoCA: Montreal Cognitive Assessment; PDQ-39: Parkinson's Disease Questionnaire

Variabili	Questionario MoCA					Questionario MMSE				
	In Deficit		Normale		Confronto fra Gruppi	In Deficit		Normale		Confronto fra Gruppi
	n	%	n	%	p-value	n	%	n	%	p-value
Sesso										
Maschio	50	53.19	5	41.67	0.452	33	51.56	22	52.38	0.934
Femmina	44	46.81	7	58.33		31	48.44	20	47.62	
Stato Civile										
Nubile/Celibe	2	2.13	0	0.00	0.505 ^F	2	3.13	0	0.00	0.507 ^F
Sposato/a	77	81.91	10	83.33		54	84.38	33	78.57	
Vedovo/a	8	8.51	0	0.00		4	6.25	4	9.52	
Divorziato/a	7	7.45	2	16.67		4	6.25	5	11.90	
Lavoro										
Impiegato	16	17.02	1	8.33	0.675 ^F	10	15.63	7	16.67	1.000 ^F
Pensionato	61	64.89	8	66.67		42	65.63	27	64.29	
Casalinga	14	14.89	3	25.00		10	15.63	7	16.67	
Studente	1	1.06	0	0.00		1	1.56	0	0.00	
Altro	2	2.13	0	0.00		1	1.56	1	2.38	
Levodopa										
No	16	17.02	3	25.00	0.447 ^F	12	18.75	7	16.67	0.784
Si	78	82.98	9	75.00		52	81.25	35	83.33	
Questionario MMSE Corretto										
In Deficit	63	67.02	1	8.33	< 0.001					
Normale	31	32.98	11	91.67						

Questionario MoCA	In Deficit						Normale						Confronto fra Gruppi
	N	mean	sd	min	max	median	N	mean	sd	min	max	median	p-value ^M
Età	94	71.79	9.01	46	89	73	12	66.92	11.60	52	89	67	0.103
Età alla Diagnosi	94	62.09	11.43	35	85	63	12	58.92	17.10	21	86	60.50	0.504
Scolarità	94	8.18	4.81	0	18	5	12	13.42	3.48	8	18	13	< 0.001
Questionario MMSE													
Orientamento	94	8.40	1.98	1	10	9	12	10	0	10	10	10	0.001
Memorizzazione	94	2.91	0.35	1	3	3	12	3	0	3	3	3	0.370
Attenzione e Calcolo	94	2.97	1.71	0	5	3	12	4.83	0.58	3	5	5	< 0.001
Richiamo Differito	94	1.91	0.88	0	3	2	12	2.75	0.62	1	3	3	0.001
Linguaggio	94	7.72	1.25	4	9	8	12	8.83	0.58	7	9	9	0.001
Visuospaziale-Esecutivo	94	2.22	0.84	0	4	2	12	3	0	3	3	3	0.001
Totale Grezzo	94	23.93	4.37	12	30	25	12	29.42	1.38	26	30	30	< 0.001
Totale Corretto	94	23.62	4.30	12.70	30	24.70	12	28.38	1.97	23.20	30	28.35	< 0.001
Questionario MoCA													
Visuospaziale-Esecutivo	94	2.20	1.42	0	5	2	12	4.75	0.45	4	5	5	< 0.001
Denominazione	94	2.61	0.69	0	3	3	12	3.00	0.00	3	3	3	0.030
Memoria 1	94	3.76	1.33	0	5	4	12	4.50	1.00	2	5	5	0.037
Memoria 2	94	4.32	1.01	0	5	5	12	4.92	0.29	4	5	5	0.019
Memoria 1 + 2	94	8.07	2.13	1	10	9	12	9.42	1.00	7	10	10	0.016
Attenzione	94	3.85	1.55	0	6	4	12	6.00	0.00	6	6	6	< 0.001
Linguaggio	94	1.67	0.88	0	4	2	12	2.67	0.65	1	3	3	< 0.001
Astrazione	94	0.94	0.79	0	2	1	12	1.75	0.45	1	2	2	0.001
Richiamo Differito	94	1.17	1.33	0	5	1	12	2.83	1.11	1	5	3	< 0.001
Orientamento	94	5.00	1.37	0	6	5	12	6.00	0.00	6	6	6	0.002
Totale Grezzo	94	17.44	4.95	4	25	17.50	12	27.00	1.41	25	30	27	< 0.001
Totale Corretto	94	18.27	4.88	5	25	18	12	27.33	1.30	26	30	27	< 0.001
Questionario PDQ-39													
Mobilità	94	56.73	30.53	0	100	56.25	12	44.38	32.67	0	95	50	0.222
Attività di Vita Quotidiana	94	41.00	28.99	0	100	37.50	12	27.08	21.87	0	75	22.92	0.124
Benessere Emotivo	94	45.48	24.01	0	100	45.83	12	36.46	25.57	0	100	29.17	0.152
Stigma	94	28.59	31.40	0	100	15.63	12	23.44	23.56	0	68.75	25	0.695
Supporto Sociale	90	52.13	22.92	0	83.33	66.67	11	41.67	33.12	0	66.67	66.67	0.410
Facoltà Cognitive	94	31.05	21.33	0	87.5	25	12	21.88	12.92	6.25	43.75	18.75	0.177
Comunicazione	94	27.75	26.25	0	100	25	12	13.89	18.58	0	50	4.17	0.072
Disagi Fisici	94	34.66	25.90	0	100	33.33	12	25.69	25.98	0	75	20.83	0.254

Questionario MMSE	In Deficit						Normale						Confronto fra Gruppi
	n	media	dev. stand.	min	max	mediana	n	media	dev. stand.	min	max	mediana	p-value ^M
Età	64	73.25	8.71	46	89	74	42	68.17	9.68	48	89	66.50	0.002
Età alla Diagnosi	64	64.05	10.58	38	85	66	42	58.19	13.58	21	86	58	0.010
Scolarità	64	7.73	4.76	0	17	5	42	10.36	4.88	0	18	12	0.011
Questionario MMSE													
<i>Orientamento</i>	64	7.81	2.11	1	10	8	42	9.76	0.62	7	10	10	< 0.001
<i>Memorizzazione</i>	64	2.88	0.42	1	3	3	42	3	0	3	3	3	0.042
<i>Attenzione e Calcolo</i>	64	2.28	1.60	0	5	2	42	4.55	0.74	3	5	5	< 0.001
<i>Richiamo Differito</i>	64	1.64	0.84	0	3	2	42	2.57	0.63	1	3	3	< 0.001
<i>Linguaggio</i>	64	7.25	1.20	4	9	7	42	8.76	0.58	7	9	9	< 0.001
<i>Visuospaziale-Esecutivo</i>	64	1.95	0.81	0	3	2	42	2.86	0.52	1	4	3	< 0.001
<i>Totale Grezzo</i>	64	21.86	3.71	12	28	23	42	28.64	1.41	25	30	29	< 0.001
<i>Totale Corretto</i>	64	21.52	3.58	12.70	25.90	22.30	42	28.18	1.36	26	30	28	< 0.001
Questionario MoCA													
<i>Visuospaziale-Esecutivo</i>	64	1.83	1.23	0	4	2	42	3.50	1.50	0	5	4	< 0.001
<i>Denominazione</i>	64	2.48	0.78	0	3	3	42	2.90	0.30	2	3	3	0.001
<i>Memoria 1</i>	64	3.47	1.37	0	5	4	42	4.40	0.99	2	5	5	< 0.001
<i>Memoria 2</i>	64	4.11	1.11	0	5	4	42	4.81	0.45	3	5	5	< 0.001
<i>Memoria 1 + 2</i>	64	7.58	2.29	1	10	8	42	9.21	1.14	7	10	10	< 0.001
<i>Attenzione</i>	64	3.45	1.55	0	6	3	42	5.07	1.16	2	6	5	< 0.001
<i>Linguaggio</i>	64	1.55	0.91	0	4	1	42	2.14	0.81	0	3	2	0.001
<i>Astrazione</i>	64	0.81	0.79	0	2	1	42	1.36	0.69	0	2	1	0.001
<i>Richiamo Differito</i>	64	0.97	1.28	0	5	0	42	1.95	1.38	0	5	2	< 0.001
<i>Orientamento</i>	64	4.61	1.48	0	6	5	42	5.88	0.40	4	6	6	< 0.001
<i>Totale Grezzo</i>	64	15.70	4.83	4	26	16	42	22.81	3.56	14	30	23	< 0.001
<i>Totale Corretto</i>	64	16.53	4.74	5	26	16.50	42	23.50	3.35	15	30	24	< 0.001
Questionario PDQ-39													
<i>Mobilità</i>	64	59.49	29.59	2.50	100	63.75	42	48.99	32.03	0	100	46.25	0.099
<i>Attività di Vita Quotidiana</i>	64	40.30	28.71	0	100	37.50	42	38.10	28.57	0	100	31.25	0.637
<i>Benessere Emotivo</i>	64	46.35	24.15	0	100	45.83	42	41.57	24.37	0	100	43.75	0.355
<i>Stigma</i>	64	28.91	31.82	0	100	18.75	42	26.64	28.86	0	100	15.63	0.802
<i>Supporto Sociale</i>	62	51.48	23.21	0	83.33	66.67	39	50.21	26.11	0	83.33	66.67	0.884
<i>Facoltà Cognitive</i>	64	33.11	21.67	0	87.50	31.25	42	25.30	18.41	0	68.75	18.75	0.052
<i>Comunicazione</i>	64	26.82	23.59	0	100	25	42	25.20	29.13	0	100	8.33	0.359
<i>Disagi Fisici</i>	64	35.16	25.61	0	100	33.33	42	31.35	26.60	0	83.33	25	0.454

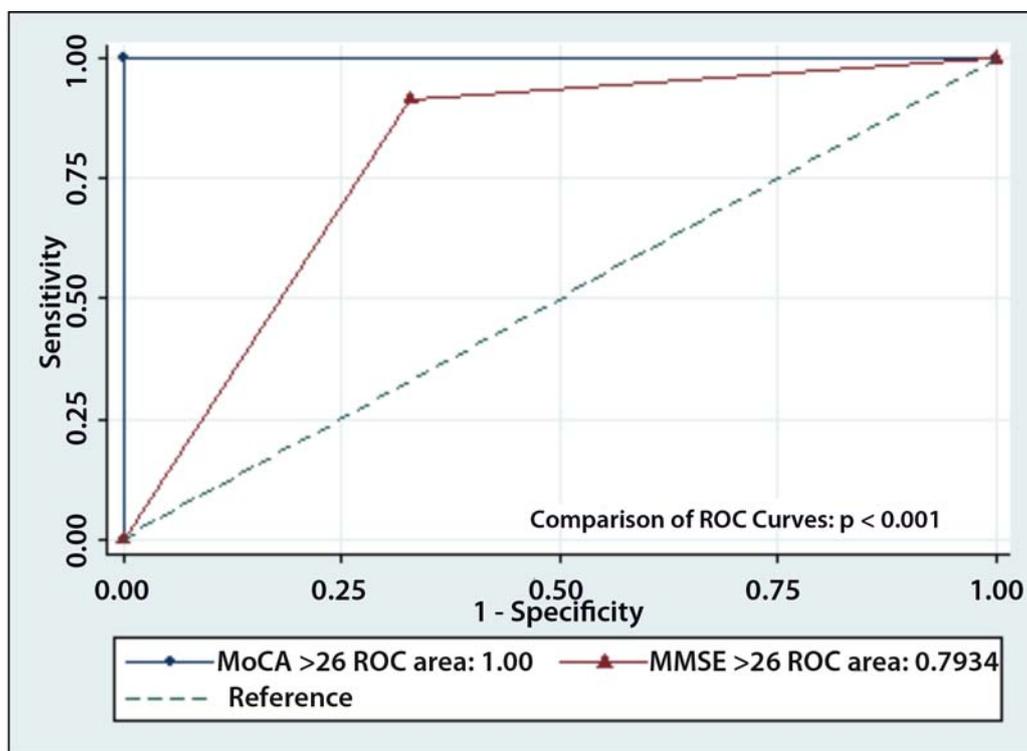


Figura 1
Analisi delle curve ROC.

MoCA > 26: valore soglia di riferimento per la classificazione del deficit cognitivo; MMSE > 26: valore soglia in esame per la classificazione del deficit cognitivo; significatività statistica: $p < 0.05$; ROC: Receiver Operating Characteristic; MMSE: Mini-Mental State Examination; MoCA: Montreal Cognitive Assessment; PDQ-39: Parkinson's Disease Questionnaire

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

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

La malattia di Parkinson tende a ricorrere nella stessa famiglia più frequentemente di quanto possa avvenire per effetto del caso. Questo fenomeno viene ormai confermato in modo molto consistente dagli studi epidemiologici. Circa il 15-25% dei pazienti riferisce infatti la presenza di familiarità positiva. La ricorrenza familiare di una malattia non è sinonimo di ereditarietà; esistono infatti molti altri fattori, come esposizioni ambientali, occupazionali, ecc. che tendono a ricorrere nelle famiglie, e potrebbero avere un ruolo nel determinare l'aggregazione familiare di malattia.

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

In associazione con l'identificazione dei fattori di suscettibilità genetica, la letteratura ha riportato alterazioni nella distribuzione in casi e controlli di alcuni fattori fenotipici, fra cui l'instabilità genetica ed il danno al DNA.

A completamento delle variabili considerate nella definizione del modello eziopatologico del Parkinson, una serie di variabili ambientali sono state investigate in studi di tipo clinico ed epidemiologico. Fra queste, vari aspetti dello stile di vita, la dieta, l'occupazione, la residenza. Anche parametri di funzionalità fisiologica sono stati in varie occasioni considerati come predittori dello sviluppo di malattia.

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

La popolazione dei casi è rappresentata dai soggetti con diagnosi confermata di Malattia di Parkinson afferenti agli ambulatori del servizio di neuroriabilitazione dell'IRCCS San Raffaele Pisana. I controlli, appaiati per sesso ed età (5 anni) sono selezionati fra gli afferenti al centro riabilitativo dell'IRCCS San Raffaele Pisana per prestazioni non legate a patologie di tipo neurodegenerative.

A tutti i soggetti che finora hanno dato il consenso a partecipare allo studio è stato somministrato un questionario da personale addestrato. L'intervista, proposta dopo gli accertamenti clinici di routine, ha una durata di circa 15 minuti.

Finora non si è ancora proceduto ad effettuare prelievi di materiale biologico, in ogni caso a tutti i soggetti che firmano il modulo di consenso informato vengono prelevate cellule esfoliate della mucosa buccale con procedura non invasiva tramite l'uso di uno spazzolino del tutto simile a quello per i denti. Nessun effetto avverso è atteso in relazione a tale procedura. I campioni vengono depositati nel Biorepository dell'IRCCS San Raffaele Pisana.

La dimensione dello studio è stata valutata con un software dedicato. I parametri inseriti sono stati scelti sulla base della prevalenza della familiarità con pazienti affetti dalla malattia di Parkinson nella popolazione generale (p_1). Pertanto, dato $p_1=0.20$; Ratio Case to Controls 1:1; $\alpha = 0.05$; $1-b=0.80$, per trovare significativo un OR di 1.30 corrispondente ad un rischio di malattia aumentato del 30% per il fatto di avere un parente di primo grado affetto da Parkinson è necessario reclutare 1000 pazienti affetti dalla malattia di Parkinson ed altrettanti controlli.

Nel corso del 2011, primo anno dello studio, si è dato inizio alla somministrazione dei questionari. In una fase più avanzata, i dati così raccolti saranno sottoposti ad analisi statistica al fine di individuare eventuali associazioni.

Area di Ricerca Dolore Neuropatico

Il gioco d'azzardo patologico in soggetti con cefalea a grappolo. Studio caso-controllo.

Il gioco d'azzardo patologico (gambling) è definito come un comportamento persistente, ricorrente e maladattivo che compromette le attività personali, familiari, o lavorative. Attualmente si tratta di un fenomeno in gran parte sommerso e sottostimato che rientra nell'ambito dei disturbi del controllo degli impulsi. Studi epidemiologici recenti sottolineano che circa l'80% della popolazione italiana è, in qualche modo, interessata al gioco d'azzardo, mentre l'1-3% della popolazione adulta ne risulta affetta. Il gambling presenta alti livelli di comorbidità con varie problematiche psico-patologiche: la psicosi maniacale depressiva, l'iperattività con deficit di attenzione (ADHD), l'agorafobia, il disturbo ossessivo compulsivo, la depressione clinica, condotte suicidarie, l'alcolismo e l'uso di sostanze in generale, i disturbi di personalità. I disturbi dell'umore e dell'ansia possono spingere i giocatori patologici a giocare poichè la loro tendenza al gioco è collegata all'intensità del loro stato d'animo per il bisogno di fuggire da una visione della realtà deprimente e mortificante e ricercare nel gioco un effetto di tipo euforizzante.

I pazienti affetti da cefalea a grappolo vengono generalmente considerati come forti fumatori e forti bevitori di alcolici e probabilmente anche di caffè. Si tratta spesso di soggetti di statura elevata e corporatura robusta, più frequentemente dagli occhi scuri e dal volto massiccio (aspetto leonino). È stato, infatti, definito un profilo della vittima preferita da questo tipo di cefalea: maschi professionalmente molto impegnati, appartenenti a ceti socioeconomico medio-alto, uomini d'affari, dirigenti che conducono una vita stressante, efficienti, ambiziosi, perfezionisti con una forte tendenza ad un comportamento di tipo ossessivo. Sembra che la tendenza ad eccedere nelle abitudini voluttuarie rientri nell'ambito delle caratteristiche di personalità proprie di questi pazienti. Obiettivo dello studio è verificare la frequenza della sindrome da gioco d'azzardo patologico, dello shopping compulsivo, alterazioni della condotta sessuale, internet addiction, di abuso voluttuario di fumo, caffè, alcol ed altri tipi di comportamenti con scarso controllo degli impulsi in pazienti affetti da cefalea a grappolo rispetto alla popolazione di controllo. Obiettivi secondari sono: valutare la correlazione tra la cefalea a grappolo, qualità di vita dei pazienti affetti, disturbo ciclico dell'umore e variazioni nel controllo delle risposte emozionali ed affettive.

Sono stati screenati in modo consecutivo 50 soggetti affetti da cefalea a grappolo afferenti all'IRCCS San Raffaele Pisana dal 1 Gennaio al 31 Dicembre 2011 e soggetti di con-

trollo appaiati per sesso ed età (+2 anni). Ai pazienti è stato richiesto di firmare un consenso informato allo studio. Ai pazienti affetti da cefalea a grappolo è stata somministrata una intervista semistrutturata per la raccolta dei dati clinici delle caratteristiche diagnostiche di cefalea a grappolo, quali: esordio del dolore, durata di malattia, localizzazione, tipo, frequenza, intensità del dolore, durata del dolore, fenomeni d'accompagnamento, orario d'insorgenza. La cefalea a grappolo è stata diagnostica in accordo ai criteri dell'attuale International Headache Classification. Sono stati inoltre raccolti dati relativi alle abitudini di vita e voluttuarie (fumo, caffè, alcol, BMI) di tutti i partecipanti. Tutti i soggetti sono stati valutati ambulatorialmente attraverso esame neurologico completo, in fase di stabilizzazione clinica.

Tutti i soggetti vengono inoltre indagati attraverso una intervista semistrutturata neuropsichiatrica e questionari per valutare i rischi di impulsività intesa come mancanza di controllo sui pensieri e sui comportamenti: Temperament and Character Inventory (TCI) che comprende 7 dimensioni di valutazione di personalità (4 del temperamento, 3 del carattere), South-Oaks Gambling Screen (SOGS) (in grado di fornire informazioni sul tipo di gioco privilegiato, la frequenza dell'attività di gioco, la difficoltà di giocare in modo controllato, la consapevolezza circa il proprio problema di gioco, i mezzi usati per procurarsi il denaro per giocare, il tornare a giocare per tentare di recuperare le perdite, le menzogne circa le attività di gioco in modo da poter distinguere i soggetti definiti come giocatori a rischio dai giocatori problematici e dai probabili giocatori); Beck Depression Inventory (BDI), che individua i casi di depressione dei giocatori compulsivi ad investire eccessivamente sul piano dell'autostima nel gioco poichè la loro tendenza al gioco è collegata all'intensità del loro stato d'animo. Le valutazioni neuropsichiatriche sono in corso. I risultati attesi da tale studio prevedono una correlazione diretta tra cefalea a grappolo, gioco d'azzardo patologico e tratti di personalità di tipo impulsivo con aumento della prevalenza lifetime del gioco d'azzardo patologico rispetto alla popolazione generale. Il presente lavoro intende illustrare la disabilità dei pazienti affetti da cefalea a grappolo e delle possibili comorbidità con disturbi dell'umore e d'ansia.

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

L'associazione tra sport e cefalea è nota fin dai tempi di Ippocrate che descrisse in un gruppo di studenti, la comparsa di emicrania in seguito a "ginnastica, corsa, camminata veloce, etc". Gli studi sulla prevalenza della cefalea negli atleti sono risultati finora spora-

dici e condotti per lo più in sport specifici (es. pallacanestro, corsa, etc). Meglio caratterizzate sono la cefalea da altitudine o da decompressione ma poco si sa comunque sulla loro reale prevalenza negli atleti. Le basi scientifiche di riferimento in tema di esercizio fisico e cefalea si riferiscono comunque a studi aneddotici o osservazionali in aperto senza popolazione di controllo.

Lambert e Barnet hanno condotto uno studio per verificare la teoria in base alla quale l'esercizio fisico potrebbe rappresentare un trigger per la cefalea concludendo che l'esercizio intenso potrebbe indurre un attacco di cefalea così come l'altitudine o la cattiva condizione fisica o l'ipoglicemia. In contrasto, Lockett e Campbell, hanno dimostrato che l'esercizio diminuisce sia l'intensità che lo stress nel percepire il dolore correlato a cefalea. Darling, da parte sua, ha dichiarato che l'esercizio fisico potrebbe rappresentare uno strumento per ridurre la frequenza della cefalea. Per quanto riguarda la prevalenza dell'emigrania negli atleti, uno studio condotto da Williams nel 1994 presso l'Università di Otago tra insegnanti e studenti ha evidenziato che più di un terzo degli atleti lamentava cefalea "sport-related". In un altro studio australiano, effettuato su una popolazione di giocatori di football, è stato dimostrato che il 50% di questi soffriva di cefalea ed approssimativamente il 25% di questi lamentava cefalea sport-related.

Dunque l'esercizio e lo sforzo fisico potrebbero precipitare un attacco nelle forme primarie di cefalea sport-related così come può succedere per altri triggers negli emicranici quali mestruazioni o consumo di alcol. Le forme secondarie, invece, sono dovute a traumi cranici o cervicali. Inoltre farmaci che migliorano le performance negli atleti (es. caffeina o altri psicostimolanti, steroidi anabolici o creatina) potrebbero scatenare un attacco di cefalea.

Lo scopo dello studio è valutare: in atleti la prevalenza e le caratteristiche della cefalea; il rapporto intercorrente tra tipo di cefalea e tipo di pratica agonistica, con riferimento anche al timing di insorgenza del dolore in rapporto al carico dell'allenamento o della gara; il comportamento, terapeutico e non, dell'atleta di fronte all'insorgenza della cefalea.

Il pre-screening su 150 soggetti è iniziato nel mese di Novembre e si prevede la continuazione delle attività nel 2012.

RICERCA TRASLAZIONALE

Laboratorio di Neurobiologia Molecolare e Cellulare

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

In accordo con l'ipotesi della "cascata amiloidogenica", le strategie terapeutiche mirate a diminuire, prevenire o neutralizzare la formazione del peptide β -amiloide ($A\beta$) ed in particolar modo delle specie oligomeriche di questo peptide, dovrebbero bloccare o perlomeno rallentare il processo di neurodegenerazione e la progressione dei deficit cognitivi che caratterizzano la malattia di Alzheimer (AD). Diverse evidenze sperimentali suggeriscono come l' $A\beta$, a livello intracellulare, si accumuli in diversi compartimenti tra cui l'apparato secretorio (in particolare il reticolo endoplasmatico ed il Trans-Golgi) ed i compartimenti sinaptici.

Tra le strategie potenzialmente efficaci dirette contro l' $A\beta$, quelle basate sugli anticorpi ricombinanti si sono dimostrate molto promettenti e diversi protocolli sono ormai in fase clinica avanzata.

L'efficacia della tecnologia degli anticorpi intracellulari nel contrastare la tossicità associata a diverse proteine quali l' α -synuclein nel Parkinson e l'huntingtin nella malattia di Huntington, ha indotto a sviluppare nuove strategie immunoterapeutiche dirette contro le forme oligomeriche del peptide $A\beta$ 1-42 utilizzando questo approccio.

A tal fine è stato inizialmente subclonato un anticorpo a singola catena (scFv), specifico per le forme oligomeriche dell' $A\beta$ 1-42, nel vettore pscFvexpress-sec che dirige l'espressione dell'anticorpo nell'apparato secretorio di cellule di mammifero (Sec-ScFvAbeta1-42). È stato inoltre generato un vettore che indirizza l'espressione dell'scFv anti- $A\beta$ 1-42 oligomerica verso il compartimento pre-sinaptico (PreSyn-ScFvAbeta1-42) sfruttando il loop M3-M4 della subunità alpha 7 del recettore nicotinico. Questo dominio contiene una sequenza autonoma e dominante che permette di dirigere proteine di membrana generiche preferenzialmente verso il compartimento pre-sinaptico. Per questo scopo abbiamo ingegnerizzato il vettore per l'espressione in membrana degli scFv, pscFvexpress-mem, con questa sequenza pre-sinaptica specifica.

Per ottenere una prima caratterizzazione degli anticorpi intracellulari generati, sono state transfettate linee cellulari neuronali che overesprimono mutazioni

specifiche del gene codificante l'APP, il precursore dell' A β e che producono quantità elevate di A β 1-42 oligomerica, con entrambi i vettori. L'analisi per immunofluorescenza delle cellule trasfettate ha dimostrato come entrambi gli anticorpi, Sec-ScFvAbeta1-42 e PreSyn-ScFvAbeta1-42 sono espressi in modo efficiente e mostrano la localizzazione subcellulare corretta.

Risultati attesi:

1. Generazione e caratterizzazione di anticorpi intracellulari contro le forme oligomeriche dell'A β 1-42 diretti verso il compartimento post-sinaptico.
2. Caratterizzazione delle attività funzionali degli anticorpi intracellulari anti-A β 1-42 oligomerica in linee cellulari neuronali.
3. Determinazione degli effetti sinapto e neuroprotettivi dei suddetti anticorpi utilizzando vettori rAAV ed infettando colture neuronali primarie trattate con preparazioni di A β 1-42 oligomerica.
4. Valutazione in vivo degli effetti sinapto e neuroprotettivi degli anticorpi intracellulari anti-A β 1-42 oligomerica, subclonati nei vettori rAAV, infettando per via intracerebrale il modello murino AD 5XFAD ed analizzandone le caratteristiche biochimiche e comportamentali.

Ruolo dell'alterazione della funzionalità nucleolare nella patogenesi della malattia di Alzheimer

Una ridotta attività di sintesi proteica, associata all'accumulo di RNA ribosomale (rRNA) ossidato specificatamente nelle regioni del cervello maggiormente colpite nei pazienti Alzheimer (come l'ippocampo e la corteccia), suggerisce come la funzionalità del nucleolo nella malattia di Alzheimer (AD) sia alterata. Inoltre, è stato recentemente osservato come il peptide β -amiloide (A β), nella sua forma oligomerica, interagisce in vitro con diverse proteine ribosomali così come con proteine coinvolte nel processo di sintesi proteica ed è in grado di inibire in maniera dose dipendente questo processo. La capacità dell'A β oligomerica di legarsi a preparazioni ribosomali purificate da cellule ippocampali di ratto è un'ulteriore prova a favore della potenzialità dell'A β di agire come un fattore inibitorio della funzionalità del nucleolo nell'AD.

Studi stereologici eseguiti su neuroni corticali ed ippocampali di pazienti affetti da AD in diversi stadi della patologia, hanno evidenziato una alterazione del volume nucleolare, un indice di malfunzionamento del nucleolo. Al fine di determinare la correlazione tra generazione di A β ed alterazione della funzionalità nucleolare, sono stati inizialmente analizzati, mediante microscopia ottica ed immuno-

fluorescenza, la morfologia ed il volume dei nucleoli di cellule PC12 trattate con il peptide A β . Si è osservato come, dopo 24 ore di trattamento con 50 μ M di A β , si ha un aumento sostanziale del volume nucleolare così come un alterazione della sua morfologia. L'analisi della proteina nucleolina ha inoltre mostrato come il trattamento con A β altera la sua distribuzione, inducendo un suo spostamento dal nucleolo verso il compartimento nucleoplasmatico. Un effetto simile è stato osservato trattando le cellule con camptotecina, un inibitore della topoisomerasi I che induce danno al DNA associato a stress nucleolare.

Per esaminare l'effetto dell'A β sulla trascrizione dell'rRNA è stata analizzata, mediante immunofluorescenza su cellule PC12, l'incorporazione di un precursore alogenato dell'RNA (5-FU) a livello nucleolare sia in cellule trattate che non. Dati preliminari mostrano come la percentuale di cellule che incorporano la 5-FU, in seguito a trattamento con A β , sia minore rispetto a cellule non trattate.

Risultati attesi:

1. Determinare la correlazione tra generazione di A β ed alterazione della funzionalità ribosomiale.
2. Determinare la correlazione tra disfunzione del sistema dei proteasomi indotta da A β ed alterazione della biogenesi e funzionalità dei ribosomi.

Laboratorio di Biochimica dell' Invecchiamento

Studio dei meccanismi fisiopatologici della malattia di Parkinson.

Alterazioni della funzionalità mitocondriale e/o della difesa antiossidante danno luogo a stress ossidativo che se moderato è parte integrante dei processi di segnalazione redox; al contrario la persistenza e l'inasprirsi di tale condizione è coinvolta nell'eziopatogenesi di diverse malattie neurodegenerative. A tutt'oggi, non è ancora chiaro se lo stress ossidativo rappresenti la causa o la conseguenza dello stato patologico. Inoltre, è da tener presente che un calo degli antiossidanti tiolici sembra essere un fenomeno caratterizzante anche l'invecchiamento "in salute". Esistono numerose evidenze sperimentali a favore di un'azione protettiva di diverse classi di antiossidanti in modelli di neurodegenerazione. Recentemente è stato evidenziato un ruolo chiave dell'autofagia non solo nei processi di mantenimento dell'omeostasi della cellula nervosa ma anche nei processi di mantenimento della massa muscolare e di adipogenesi; tuttavia, ad oggi, sono poche le informazioni riguardo al ruolo dello stato redox nella modulazione del flusso autofagico.

Lo stress ossidativo derivato da alterazioni della funzionalità mitocondriale e della difesa antiossidante tiolica è implicato nell'eziopatogenesi del morbo di Parkinson (PD). Il conseguente deficit energetico e la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), nonché alterazioni dello status tiolico intracellulare sembrano essere associate alla perdita selettiva di funzionalità dei neuroni dopaminergici del pathway nigro-striatale. Recenti evidenze indicano che anche l'uptake di glucosio è significativamente diminuito nei cervelli di pazienti PD, confermando l'esistenza di una deregolazione generalizzata dei "pathways" redox ed energetici. Tuttavia, il calo di glutazione caratterizza anche il normale processo di invecchiamento, pertanto la comprensione dei fenomeni che sono causa o effetto di tale deplezione può essere di grande utilità nell'identificazione dei meccanismi fisiopatologici della malattia di Parkinson.

Recentemente è stato evidenziato un ruolo chiave dell'autofagia nei processi di mantenimento dell'omeostasi cellulare specialmente in seguito ad alterazioni mitocondriali; tuttavia, ad oggi, poche sono le evidenze delle possibili correlazioni tra alterazione del flusso autofagico e modulazioni dello stato redox. Almeno tre fattori metabolici, però, possono legare funzionalmente questi fenomeni e, soprattutto, possono aiutare a comprendere i processi molecolari unificanti di una malattia multifattoriale come il PD: 1) Il PD è comunemente associato all'età, condizione in cui diminuisce la concentrazione degli antiossidanti tiolici, quali il glutazione (GSH) e la cisteina, amplificando in tal modo gli effetti deleteri dei ROS; 2) lo stress ossidativo è implicato nei meccanismi patogenetici del PD; 3) i ROS e lo stress ossidativo sono stati recentemente proposti quali possibili modulatori dell'autofagia.

Gli obiettivi principali della ricerca sono stati:

1. Delucidare i pathways molecolari che sottendono allo status redox ed energetico della cellula nervosa ed i cambiamenti correlati alla diminuzione degli antiossidanti tiolici.
2. Caratterizzare il ruolo dei sistemi antiossidanti tiolici (GSH, Cisteina) nella modulazione redox dell'autofagia.

Colture cellulari e trattamenti:

Sono stati utilizzati sia modelli cellulari umani (HeLa e SH-SY5Y) sia modelli murini (C2C12) ottenuti dall'ETCC e mantenuti in coltura mediante protocolli standard. Queste cellule sono state trattate con BSO alla concentrazione di 1 mM. Le cellule sono state anche trattate con l'inibitore della produzione di NO (L-NAME, 1 mM), del cGMP (LY-83583, 0.002 mM) e di p53 (pifitrina, 0.02 mM). I modulatori dei tioli intracellulari impiegati sono glutatione-etil estere 10 mM, il ditiotreitolo 1mM, la diamide

0.1 mM, il dietilmaleato 0.2 mM. Sono stati inoltre impiegati inibitori del traslocatore MRP1 (MK571, 0.5 μ M) e della gamma-glutamyl transferasi (DON, 1mM).

Trasfezioni:

Le cellule sono state trasfettate mediante elettroporazione allo scopo di sovra esprimere (mediante cDNA) o down-regolare (mediante RNAi) le proteine di interesse (p53, PGC-1 α , LC3, p38, AMPK) sia wild type che mutate.

Analisi dell'espressione genica:

I livelli di mRNA sono stati quantizzati mediante RT-qPCR, utilizzando come sonda fluorescente il Sybr Green. L'analisi dell'attività di legame di p53 o Nrf2 sulle sequenze del promotore di PGC-1 α o di GCL è stata effettuata mediante oligo-pull-down utilizzando oligonucleotidi biotinilati. Alternativamente, sono stati utilizzati saggi di ChIP seguiti da qPCR.

Western blot:

Le cellule sono state lisate e gli estratti proteici bolliti in tampone di Laemmli e sottoposti a SDS-PAGE e successivo trasferimento su membrana di nitrocellulosa. La membrana è stata poi sottoposta a marcatura con un anticorpo primario specifico. Le bande immunoreattive sono state visualizzate per chemiluminescenza, utilizzando un sistema digitale di acquisizione di immagini.

Produzione di ROS:

E' stata misurata mediante l'uso di sonde fluorescenti specifiche per il superossido (DHE) e l'H₂O₂ (DHDCF-DA), nonché i livelli di proteine carbonilate e le rotture alla doppia elica di DNA mediante Western blotting e immunofluorescenza dell'istone H2A.X.

Analisi del GSH:

Il contenuto di GSH è stato misurato mediante HPLC previa derivatizzazione del campione con acido iodoacetico e reattivo di Sanger.

Analisi del processo autofagico ed apoptotico:

L'autofagia è stata indotta tramite incubazione delle cellule in Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) ed è stata valutata mediante l'analisi morfologica delle cellule e citofluorimetrica del pH intracellulare, mediante marcatura con 500 nM arancio di Acridina. Sono stati inoltre valutati i livelli di LC3-II associati agli autofagolisosomi sia in Western blotting che in microscopia a fluorescenza, dopo trasfezione con un plasmide esprime la chimera EGFP-LC3, seguendo la co-localizzazione con il probe fluorescente specifico per i lisosomi, LysoTracker Red. La vitalità e la morte cellulare è stata valutata mediante conta diretta previa colorazione con Trypan blue; o dall'analisi in fluorescenza della morfologia nucleare dopo colorazione con Hoechst

33342, o in citofluorimetria, previa marcatura con ioduro di propidio. L'attivazione del pathway apoptotico è stata confermata dall'uso dell'inibitore delle caspasi zVAD-fmk e monitorata mediante l'analisi in Western blotting e immunofluorescenza delle caspasi 9/3 e PARP.

Il calo di glutatione (GSH) è comunemente considerato come uno dei fattori caratterizzanti i processi di invecchiamento e una condizione predisponente all'accumulo di danni ossidativi propri delle neurodegenerazioni. Allo scopo di caratterizzare gli effetti della deplezione di GSH è stato utilizzato un inibitore chimico (Butionina sulfossimina, BSO) dell'enzima che controlla la sua sintesi (gamma-glutamil cisteina ligasi, GCL) sia in modelli cellulari murini sia umani. Il calo dei livelli intracellulari di GSH ha determinato l'induzione dell'apoptosi caspasi-indipendente mediata dall'accumulo della proteina AIF all'interno del compartimento nucleare. Tale processo era efficientemente inibito dalla contemporanea somministrazione dell'inibitore dell'enzima ossido nitrico sintasi (NOS) o dell'enzima guanilato ciclasi indicando che lo stress nitrosativo e la conseguente segnalazione mediata dal GMP ciclico (cGMP) era l'unico meccanismo responsabile dell'induzione della morte cellulare dovuta all'alterazione dei livelli di GSH. E' stato dimostrato che a valle della produzione di NO e cGMP vi era una significativa attivazione della chinasi ERK1/2 che a sua volta determinava l'incremento dei livelli della proteina p53. Partendo da quest'ultima evidenza, e dall'osservazione che la deplezione di GSH determinava un'attivazione tardiva del processo apoptotico, l'attenzione è stata focalizzata a stabilire se l'asse di segnalazione individuato fosse responsabile dell'induzione di una risposta adattativa cellulare volta a compensare lo sbilancio redox. p53 e Nrf2 sono annoverati tra i principali fattori di trascrizione sensibili alle alterazioni redox in grado di regolare la risposta antiossidante. Un altro importante modulatore della trascrizione di geni antiossidanti sensibile allo stress ossidativo è il co-attivatore trascrizionale PGC-1 α . Pertanto, era possibile ipotizzare un cross-talk tra questi fattori nell'eventuale modulazione della risposta antiossidante. E' stato innanzi tutto dimostrato che p53 era direttamente coinvolto nell'aumento dell'espressione di PGC-1 α , essendo in grado di legare una sequenza consenso sul suo promotore. La risultante espressione di PGC-1 α era poi implicata nell'aumento dei livelli proteici di Nrf2, il quale a sua volta mediava l'aumento dell'espressione della superossido dismutasi a manganese (SOD2) e dell'enzima chiave della sintesi di GSH (GCL). L'interruzione dell'asse di segnalazione p53/PGC-1 α /Nrf2 risultava nell'esacerbazione dello stress ossidativo e in un aumento della morte cellulare. I dati ottenuti durante questa ricerca suggeriscono quindi che la carenza di GSH non è da considerarsi un fattore di

rischio, ma piuttosto rappresenta un evento in grado di stimolare una sorta di risposta adattativa a condizioni di stress che potrebbero determinare l'instaurarsi di stati patologici (es. neurodegenerazioni, miopatie).

E' stato inoltre dimostrato che in risposta all'alterazione contestuale dell'omeostasi redox e metabolica indotta da un complesso a Cu, [Cu(II)P]2, che agisce alterando la funzionalità mitocondriale, in quanto analogo dei composti a carica delocalizzata, l'asse di segnalazione AMPK/p38^{MAPK}/p53 è la via principale attraverso cui viene trasdotto il segnale di morte (anche nei neuroni primari). In particolare, AMPK gioca il ruolo di sensore iniziale, p38^{MAPK} quello di mediatore e p53 quello di esecutore. L'incubazione con antiossidanti o con substrati metabolici conferma che la via AMPK/p38^{MAPK}/p53 è sensibile sia alle alterazioni redox che a quelle energetiche, e che AMPK può giocare un ruolo fondamentale nella risposta ad entrambi i tipi di stress. Pertanto, questa via di segnalazione può essere coinvolta nei processi di morte attivati in seguito all'alterazione dei "pathways" redox ed energetici tipici del Parkinson.

L'autofagia rappresenta uno dei sistemi di elezione cellulare per rimuovere le proteine danneggiate e/o mal funzionanti impedendo così il loro accumulo in forma di aggregati potenzialmente tossici. La letteratura in campo di neurodegenerazione solo recentemente ha valutato l'apporto di alterazioni autofagiche nella lesione neuronale, poiché tramite questo processo sono eliminati anche i mitocondri danneggiati o alterati. In questo senso diviene fondamentale il concetto che nel Parkinson i neuroni dopaminergici degeneranti sono caratterizzati da una costante alterazione mitocondriale. Pertanto, sono stati studiati i cambiamenti dello stato redox in seguito all'induzione dell'autofagia da carenza di nutrienti. I risultati ottenuti depongono a favore di un processo attivo di estrusione del glutatione, attraverso il trasportatore MRP1. A questo fenomeno si associa un aumento delle proteine glutatolate, a conferma di uno stato intracellulare ossidante, necessario per l'innesco del processo autofagico. Infatti, la variazione del contenuto di glutatione attraverso il trattamento con BSO o con agenti capaci di aumentarne la sua concentrazione, quali il glutatione-etil estere, si rifletteva in una conseguenziale modulazione dell'autofagia. Inoltre agenti in grado di ossidare o alchilare i tioli attivano di per sé l'autofagia, confermando che cambiamenti dello stato redox intracellulare possono risultare in alterazioni di tale processo.

Da tutti questi dati emerge che il GSH svolge un ruolo chiave nel modulare la risposta cellulare a stress metabolici ed attivare la risposta antiossidante, l'autofagia e/o l'apoptosi. Diverse sono le vie di segnalazione redox regolate responsabili dell'indu-

zione di tali processi, e l'attivazione di una o l'altra di queste vie può essere cellulo-specifica. In particolare, è stato dimostrato che cellule di origine neuronale, SH-SY5Y, sono resistenti all'apoptosi e all'autofagia causate dalla carenza di nutrienti e/o di glutatione. Poiché è stato dimostrato che queste cellule presentano un'efficiente risposta adattativa dovuta all'attivazione di PGC-1 α , ci si prefigge di studiare se tale attivazione è in grado di intervenire in maniera diretta nella regolazione dell'espressione dei geni che inibiscono il processo autofagico (es. S6K, Beclin) e/o l'apoptosi (es. p53, Bcl2). Si studierà anche se AMPK possa essere coinvolta direttamente nell'attivazione di PGC-1 α . Alcuni dati dimostrano una mancata attivazione di PGC-1 α in cellule altamente prone all'induzione dell'autofagia. In tale contesto ci si prefigge di stabilire se la carenza di PGC-1 α possa favorire l'espressione di geni autofagici (Atg). Sarà anche interessante stabilire se PGC-1 α possa controllare negativamente l'espressione di MRP-1 ed ostacolare l'estruzione di GSH necessaria per l'attivazione del processo autofagico stimolato dalla carenza di nutrienti.

Laboratorio di Microbiologia delle patologie cronico-degenerative

Definizione dei pathway molecolari implicati nelle infezioni respiratorie nell'anziano.

L'espressione clinica dell'infezione da virus influenzale è molto variabile ed è influenzata non solo dal ceppo di virus infettante ma anche dall'età, dallo stato di salute e dalle risposte immunitarie dell'ospite. La possibilità che la malattia sia fatale o che sia seguita da complicanze a breve o lunga distanza è più alta negli anziani e in persone che presentano malattie concomitanti.

I fattori coinvolti nell'invecchiamento sono ancora in gran parte sconosciuti, ma negli ultimi anni è stato ipotizzato che l'effetto deleterio dovuto all'accumulo delle specie reattive dell'ossigeno (ROS), prodotte durante il metabolismo cellulare, potrebbe contribuire in modo determinante ai processi che caratterizzano l'invecchiamento. In questo contesto è stato osservato che i livelli plasmatici di GSH, principale antiossidante intracellulare, diminuiscono fortemente in individui di età > 50 anni rispetto a quelli di età più giovane. Come conseguenza, l'organismo non riesce a contrastare la formazione dei ROS, andando incontro a fenomeni di stress ossidativo in diversi distretti (Rebrin, 2008). Tale condizione pro-ossidante potrebbe contribuire in modo significativo alla alterazione della capacità della cellula di rispondere allo stress e dando l'avvio all'insorgere di processi degenerativi e/o apoptotici.

Lo stato redox cellulare può influenzare fortemente anche la suscettibilità della cellula alle infezioni virali e la sua capacità di mettere in atto strategie difensive. Il gruppo di ricerca afferente al laboratorio di microbiologia delle patologie cronico-degenerative, infatti, ha dimostrato che la replicazione del virus influenzale è inversamente proporzionale ai livelli intracellulari di GSH (Nencioni, 2003; Ciriolo, 1997, Palamara, 1996). Inoltre, è stato recentemente dimostrato che la deplezione di GSH indotta dal virus influenzale è in grado di favorire il processo di maturazione dell'emoagglutinina, glicoproteina virale ricca in legami disolfidici (Sgarbanti R., 2011), tramite la modulazione dell'espressione di un'ossidoreduttasi (PDI) presente nel reticolo endoplasmatico (RE).

E' noto, inoltre, che lo stress ossidativo cronico, una principale caratteristica dell'invecchiamento, risulta in un accumulo di proteine non correttamente foldate accompagnato da un sovraccarico del RE dovuto sia dalla diretta ossidazione di ossidoreduttasi, che si accumulano con l'età, da parte dei ROS che dalla indiretta diminuzione dell'attività di alcune chaperonine (es. ERp55, ERp57, ERp72). A tutt'oggi, tuttavia, resta da chiarire il ruolo dello stress del RE nei meccanismi che regolano la permissività e la risposta cellulare all'infezione virale soprattutto durante la senescenza.

Considerando i fattori finora esposti è possibile ipotizzare che meccanismi molecolari redox regolati possano rivestire un ruolo centrale nella suscettibilità alle infezioni e nella patogenesi delle malattie respiratorie nell'uomo e contribuendo alla cronicizzazione spesso riscontrata nell'anziano.

L'obiettivo principale dello studio è quello di fornire le basi molecolari di una possibile correlazione funzionale tra lo stato redox intracellulare, la suscettibilità e l'andamento dell'infezione da virus influenzale durante l'invecchiamento.

La ricerca svolta nel primo anno ha perseguito i seguenti obiettivi: i) stabilire la correlazione tra l'andamento dell'infezione e lo stato redox tiolico; ii) definire pathway molecolari coinvolti nella replicazione del virus influenzale in modelli sperimentali di invecchiamento messi a punto dal Laboratorio di Biochimica dell'Invecchiamento.

Colture cellulari e infezioni virali:

Per gli esperimenti sono state utilizzate cellule neuronali SH-SY5Y. La senescenza è stata indotta mediante trattamento con acido retinoico per le SH-SY5Y. Lo stato di senescenza è stato valutato mediante analisi istochimica della beta-galattosidasi oppure mediante colorazione con trypan blue. L'infezione è stata eseguita come descritto in Sgarbanti R. et al, 2011 e valutata misurando le particelle virali nei

sovrantanti cellulari mediante saggio dell'emoagglutinazione.

Dosaggio del glutatione:

Il glutatione intracellulare è misurato mediante HPLC come descritto da Reed et al. (1980).

Immunoblotting:

I lisati cellulari sono processati come descritto in Sgarbanti R. et al, 2011.

Immunofluorescenza:

Le cellule sono state processate per l'immunofluorescenza, secondo i protocolli standard. Le immagini sono state ottenute con microscopio immunofluorescenza, Leica Microsystem.

Nel corso del primo anno di ricerca sono state utilizzate diverse linee cellulari epiteliali e neuronali. La senescenza delle cellule è stata sperimentalmente indotta mediante trattamento con acido retinoico così come descritto nel paragrafo relativo a "materiali e metodi".

Sorprendentemente, l'analisi dello stato redox delle cellule così "invecchiate" ha evidenziato livelli di base di GSH più elevati rispetto alle non senescenti. Questo risultato è in apparente contraddizione con le precedenti osservazioni che hanno descritto uno stato ossidato come caratteristica fondamentale della senescenza. Nonostante questa discrepanza, visto che precedenti pubblicazioni hanno dimostrato la capacità dell'acido retinoico di indurre un aumento significativo dei livelli intracellulari di GSH, si è deciso di continuare gli esperimenti su questo sistema sperimentale al fine di verificare l'esistenza di una correlazione tra modificazioni dello stato redox intracellulare e capacità della cellula di supportare la replicazione virale o contrastarla.

A tal fine cellule neuronali SH-SY5Y rese senescenti mediante trattamento con acido retinoico sono state infettate con virus influenzale A/PR8/H1N1 a diverse molteplicità di infezione. L'analisi del virus prodotto nel sovrantante cellulare ha messo in evidenza una minor produzione virale rispetto alle stesse cellule non trattate. Infatti, 24 e 48 ore dopo l'infezione, si osservava una riduzione del titolo virale dell'80%. Tale effetto era associato alla diminuita espressione dell'emoagglutina, glicoproteina virale che utilizza le ossidoreduttasi presenti nel RE per i suoi processi di folding e maturazione.

Questi risultati hanno dimostrato che i livelli di GSH regolano la capacità del RE di operare la maturazione delle proteine virali e confermano che lo stato redox intracellulare è in grado di favorire o ridurre la replicazione virale a seconda che sia sbilanciato rispettivamente verso uno stato riducente o ossidante.

Inoltre, nello stesso sistema sperimentale è stata osservata una maggiore espressione della proteina antiapoptotica Bcl-2 e una minore espressione di Hsp90, proteina che riveste il ruolo di “chaperone” molecolare ed è implicata nella risposta allo stress.

Questi risultati suggeriscono che l'incremento dei livelli di GSH che si realizza nelle cellule neuronali in risposta al trattamento con acido retinoico induce l'espressione di fattori di sopravvivenza cellulare, ma allo stesso tempo riduce un componente fondamentale della risposta allo stress. L'interpretazione di questi dati può aprire la strada a molteplici prospettive. Se da un lato infatti è possibile ipotizzare che le modificazioni riscontrate siano coinvolte con meccanismi diversi nel determinare la diminuita replicazione virale, d'altro canto l'aumentata espressione di fattori di sopravvivenza della cellula infettata potrebbe contribuire all'aumento della sopravvivenza della cellula infettata fenomeno importante per la persistenza virale e coinvolto cronicizzazione dell'infezione.

Sulla base di questi risultati, appare importante proseguire gli studi utilizzando modelli di invecchiamento che rispecchino più da vicino i processi riscontrati in vivo. In particolare, verranno studiati:

- fibroblasti murini (MEF) isolati da E13.5 embrioni di BALB/c, come dimostrato dalla letteratura recente, raggiungono la senescenza attraverso 5-6 passaggi di mantenimento;
- cellule polmonari primarie isolate mediante metodiche opportunamente messe a punto da topi Balb/c a diversi mesi di invecchiamento (8, 12, 18 mesi di età);
- cellule isolate da polmoni di topi SAMP8 considerati un modello di senescenza accelerata;
- verranno inoltre utilizzate colture primarie di neuroni prelevati da embrioni di ratto nei quali verranno indotte sperimentalmente modificazioni del redox tipiche dell'età avanzata.

Nei modelli sopra descritti saranno perseguiti i seguenti obiettivi:

1. definizione dell'effettiva entità e tipologia dello stress ossidativo indotto dal virus influenzale in vari stadi di invecchiamento;
2. definizione di eventuali alterazioni del ciclo replicativo virale in cellule variamente “invecchiate”;
3. definizione dei pathway molecolari redox regolati modulati dal virus influenzale nei sistemi sperimentali suddetti con particolare attenzione alle vie di segnalazione coinvolte nel processo di morte/ sopravvivenza cellulare;
4. definizione delle alterazioni nei meccanismi di folding di specifiche proteine

virali e/o cellulari correlate all'infezione in cellule "anziane";

5. definizione degli effetti di molecole dotate di specifica attività antiossidante in questi sistemi sperimentali.

I risultati della ricerca consentiranno di acquisire conoscenze in merito alla risposta alle infezioni virali nei soggetti anziani e di individuare meccanismi alla base di complicanze a distanza a tutt'oggi misconosciute, quali quelle correlate all'accumulo di proteine non correttamente foldate. I risultati ottenuti potranno anche aprire nuove prospettive per l'identificazione di approcci preventivi e/o terapeutici innovativi per queste importanti patologie.

Ruolo dello stress ossidativo indotto dall'infezione da HSV-1 nella neurodegenerazione.

Recenti evidenze sperimentali del gruppo di ricerca del laboratorio di microbiologia delle patologie cronico-degenerative indicano un coinvolgimento delle infezioni da virus Herpes simplex di tipo 1 (HSV-1) nel processo metabolico che porta al clivaggio della proteina precursore dell'amiloide (APP) e alla produzione del peptide beta amiloide (Abeta), che, come noto, gioca un ruolo chiave nella patogenesi della malattia di Alzheimer (AD) (Piacentini R et al. 2011; De Chiara G et al, 2010). I risultati hanno infatti evidenziato come in cellule di neuroblastoma umano SH-SY5Y e in colture primarie di neuroni corticali di ratto il virus erpetico induca un processamento multiplo di APP cui segue la formazione e accumulo intra- ed extra-neuronale di diverse specie con un alto potenziale neurotossico tra cui Abeta in forma monomeric e oligomeric. Tra i meccanismi potenzialmente coinvolti nel processamento di APP indotto dal virus, l'attività di ricerca è stata focalizzata a chiarire il possibile ruolo giocato dalle alterazioni dello stato redox intracellulare verso una condizione pro-ossidante che conseguono l'infezione da HSV-1. Condizioni di stress ossidativo sono state ampiamente descritte come uno dei fattori implicati nella patogenesi di AD: ad esempio, elevati livelli di specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono stati associati ad un aumento della espressione ed attività degli enzimi cellulari coinvolti nella produzione di Abeta, quali beta- e gamma-secretasi (Tamagno E et al, 2005; 2008). Tali enzimi sono stati descritti come responsabili della formazione degli oligomeri di Abeta in corso di infezione erpetica. Pertanto, è stata verificata la possibilità che l'induzione di stress ossidativo nella cellula neuronale provocata dall'infezione virale possa giocare un ruolo importante nella produzione di Abeta. La produzione di Abeta è nota avvenire principalmente nel reticolo endo-

plasmatico (RE), dove, in condizioni fisiologiche, quasi tutte le molecole di APP restano legate, in attesa di raggiungere la membrana plasmatica mediante la via secretoria. Tuttavia, in colture cellulari o in cervelli di topi transgenici che over-esprimono APP (Anandatheerthavarada H et al, 2003), e in reperti autoptici provenienti da pazienti affetti da AD (Devi L et al, 2006), numerose molecole del precursore di Abeta sono state trovate nei mitocondri. Mentre la beta-secretasi è con certezza citoplasmatica, Hansson CA et al (2004) e Pavlov PF et al (2011) sostengono che una quota di gamma-secretasi sia mitocondriale, avendo verificata la sua presenza all'interno dell'organello sia in tessuti cerebrali di ratto che in colture cellulari di origine nervosa. Tuttavia, la produzione di Abeta nel mitocondrio è piuttosto controversa, in quanto alcuni ricercatori sostengono l'ipotesi che il peptide venga importato dal citoplasma al mitocondrio piuttosto che prodotto localmente nell'organello (Santos RX et al, 2010). In ogni caso, la presenza di Abeta nel mitocondrio concorre ad alterare lo stato redox della cellula, in quanto è noto che il peptide induce la produzione mitocondriale di specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto (RNS) mediante la sua diretta interazione con alcuni componenti della catena respiratoria, tra cui il complesso IV (citocromo c ossidasi, COX) (Tillement L et al, 2011). E' noto che alcuni virus alterano le funzioni mitocondriali della cellula ospite a causa del traffico delle proteine virali nell'organello (Rahmani Z et al 2000; Henkler F et al, 2001), ma sono tuttora sconosciute le modalità con cui tale fenomeno avvenga. Derakhshan e collaboratori (2006) dimostrano che HSV-1 nelle cellule epiteliali causa l'inibizione della catena respiratoria mitocondriale a livello dei complessi II (succinato deidrogenasi) e III (citocromo c reduttasi). Tali alterazioni potrebbero concorrere alla produzione di ROS e RNS a livello del mitocondrio contribuendo all'impairment dell'attività mitocondriale che è tipico di AD.

L'obiettivo generale di questo progetto è studiare il ruolo dell'infezione da HSV-1 nell'ossidazione/alterazione delle vie metaboliche mitocondriali che portano alla neurodegenerazione, al fine di poter supportare l'eventuale futura messa a punto di nuove strategie terapeutiche o preventive per AD. Tale obiettivo è stato perseguito usando un modello sperimentale di infezione erpetica in vitro, ovvero cellule di neuroblastoma umano, e ha visto il suo raggiungimento attraverso lo studio dei seguenti obiettivi specifici:

1. caratterizzazione delle proteine di HSV-1 che vanno a localizzarsi nel mitocondrio in corso di infezione;
2. valutazione della presenza di APP e peptidi Abeta nel mitocondrio della cellula ospite infettata da HSV-1;

3. produzione di specie reattive dell'ossigeno mitocondriali indotta da HSV-1.

Materiali e Metodi:

Colture cellulari:

Cellule SH-SY5Y sono state coltivate in terreno DMEM-F12 (con 15% FBS inattivato al calore, 1% di L-glutammina, penicillina e streptomicina) a 37°C in 5% CO₂.

Infezioni virali:

HSV-1 ceppo F, amplificato in cellule VERO, è stato utilizzato per infettare le cellule neuronali. In breve, l'infezione è stata eseguita su monostrati confluenti a 37°C per 1h in terreno privo di siero. Successivamente, il virus non assorbito è stato rimosso mediante lavaggi con PBS e le cellule incubate con terreno contenente il 2% di siero per i diversi tempi di infezione. L'infezione delle cellule è stata valutata misurando le particelle virali nei sovranatanti cellulari secondo la metodica di Mahy (1991).

Microscopia confocale:

Le cellule sono state processate per l'immunofluorescenza confocale, secondo i protocolli standard. Le immagini sono state ottenute con microscopio confocale TCS-SP2, Leica Microsystem. Sono stati utilizzati i seguenti anticorpi primari: anti-Abeta, anti-APP, anti-HSV-1, anti-US3. Sono state impiegate le seguenti sonde: DAPI, MitoSOX (per osservare anione superossido mitocondriale), MitoTracker e CMX-Ros (per evidenziare i mitocondri).

Isolamento dei mitocondri:

I mitocondri sono stati ottenuti per frazionamento cellulare come riportato in un precedente lavoro del gruppo di ricerca (De Chiara G et al, 2006). I mitocondri ottenuti sono stati utilizzati per studi di western blot.

I risultati ottenuti durante questo anno di ricerca hanno permesso di confermare le recenti scoperte del mondo scientifico che vedono attribuire un ruolo chiave al mitocondrio nella produzione di Abeta e nella induzione dello stress ossidativo e hanno consentito di rafforzare i dati che supportano il ruolo dell'infezione erpetica nella patogenesi di AD.

In particolare sono stati conseguiti i seguenti risultati:

1. è stata verificata la presenza di APP e dei prodotti della sua proteolisi amiloidogena (peptidi Abeta) all'interno dei mitocondri nelle cellule neuronali infettate da HSV-1, sia a molteplicità di infezione (m.o.i.) diverse che a diversi tempi di esposizione della cellula ospite al virus. Tali risultati sono stati acquisiti mediante immunofluorescenza confocale utilizzando anticorpi diretti contro APP, Abeta e HSV-1 e sonde atte ad evidenziare i mitocondri (CMX-Ros o

Mitotracker);

2. sono state rilevate alcune proteine virali all'interno dei mitocondri infettati dal virus erpetico a m.o.i. e tempi diversi. In particolare, sono state messe in evidenza la proteina US3, UL12.5 e UL7, il cui eventuale ruolo nell'ambito dell'ossidazione/alterazione delle vie metaboliche mitocondriali che potrebbero portare alla neurodegenerazione è ancora in fase di studio in quanto richiedono ulteriori accurate indagini mediante la messa a punto, già in corso d'opera, di virus portatori di delezioni totali o parziali dei geni codificanti le suddette proteine. Tali risultati sono stati conseguiti mediante frazionamento cellulare e conseguente isolamento di mitocondri da cellule neuronali infettate da HSV-1. I mitocondri ottenuti sono stati sottoposti a studi di western blot, nell'ambito dei quali sono stati impiegati i seguenti anticorpi primari: anti-HSV-1, anti-US3 e anti-cyt c.
 3. è stata osservata la presenza dell'anione superossido mitocondriale nelle cellule neuronali infettate da HSV-1 a m.o.i. e tempi diversi, mediante microscopia confocale utilizzando la sonda MitoSOX che è specifica per la suddetta specie radicalica.
- Nella prosecuzione della ricerca si tenterà di stabilire modelli sperimentali di infezione recidivante da virus Herpes simplex 1 nei quali possano trovare conferma in risultati ottenuti nei modelli sperimentali in vitro, con particolare riguardo alla deposizione di Abeta e derivati a livello encefalico ed alla caratterizzazione funzionale del danno neuronale indotto dall'infezione.

Laboratorio di Elettrofisiologia

Studio delle alterazioni della trasmissione GABAergica nei tumori cerebrali.

Tumori cerebrali primitivi o metastasi cerebrali sono spesso associati ad epilessia del lobo temporale farmaco-resistente (TLE). La concomitanza di queste due patologie ha un forte impatto sulla qualità della vita dei pazienti in quanto l'epilessia non solo aggrava una situazione già di per sé impegnativa, ma può interferire con ciò che concerne la cura della neoplasia di base. Molti fattori sembrano partecipare all'insorgenza di crisi epilettiche nei tumori cerebrali, tra cui l'istologia del tumore, l'ambiente peritumorale e non ultima, una perdita di funzionalità del sistema inibitorio GABAergico. In particolare, cambiamenti dell'omeostasi del cloro e alterazioni del metabolismo nella zona peritumorale sembrano avere un ruolo chiave nell'epilettogenesi in pazienti affetti da glioma. È noto infatti come il cloro rivesta un ruolo chiave nella trasmissione inibitoria GABAergica. Una sottile regolazione di

questo ione è mediata da due trasportatori NKCC1 e KCC2 che mantengono la concentrazione intracellulare del cloro molto bassa. In seguito all'attivazione del recettore GABA, il cloro entra nella cellula, iperpolarizzandola e permettendo una fisiologica trasmissione inibitoria GABAergica. E' stato però recentemente proposto un coinvolgimento di NKCC1 nel mantenimento di un' anomala e più alta concentrazione di cloro intracellulare in tessuti peritumorali. Ciò rende le cellule più facilmente eccitabili e sembra influire nella motilità cellulare e nella formazione di metastasi (Sontheimer, 2008; Ernest et al., 2005). Ulteriori studi, suggeriscono inoltre che l'invasione delle cellule tumorali nel parenchima sano è, in parte, mediata dall'attività dei canali del cloro e che un'anomala concentrazione intracellulare può determinare variazioni di volume con conseguente proliferazione e migrazione cellulare (Habela et al., 2009). Il progetto intendeva studiare gli aspetti molecolari che sono alla base della relazione tra tumori cerebrali e crisi epilettiche. In particolare, si vuole comprendere perché, a differenza di altri tumori cerebrali, in pazienti affetti da glioma fossero presenti anche crisi epilettiche. L'attenzione è stata focalizzata su due aspetti. In primo luogo si è indagato se ci fosse un'alterazione delle concentrazioni intracellulari di cloro attraverso lo studio del potenziale di equilibrio del GABA. Lo scopo era quello di paragonare il potenziale di equilibrio del GABA in cellule iniettate con tessuto peritumorale proveniente da pazienti epilettici affetti da glioma con quello registrato in cellule iniettate con tessuto peritumorale non epilettico al fine di trovare un potenziale di equilibrio più positivo che giustificasse una marcata eccitabilità neuronale e quindi la presenza di crisi. In secondo luogo si è indagato se la variazione di potenziale trovata nei pazienti affetti da glioma potesse dipendere da una alterata espressione dei due trasportatori del Cloro NKCC1 e KCC2 e se queste alterazioni fossero tali da poter influenzare l'effetto iperpolarizzante del GABA contribuendo all'insorgere dell'epilettogenesi nei tumori cerebrali umani.

Materiali/pazienti e metodi:

I tessuti di pazienti affetti da glioma e altre forme tumorali usate come controllo sono stati forniti dal Dipartimento di Neuropatologia dell'Accademia Medica di Amsterdam. L'uso di questi tessuti è stato autorizzato dai Comitati etici di riferimento. In dettaglio i metodi utilizzati sono stati i seguenti:

Animali:

Rane femmine *Xenopus Laevis* sono state acquistate dal Centre d'Elevage de Xenopes CNRS-CRBM (Montpellier Cedex Francia). Gli animali vengono mantenuti in speciali stabulari con temperatura e ciclo giorno-notte (12 h) controllate. Gli

ovari sono stati prelevati dalle rane dopo anestesia con 0.2% di aminobenzoic acid ethylestere (SIGMA) e sacrificate per decapitazione.

Iniezione negli ovociti:

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

Registrazioni voltage-clamp:

Dopo 12 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, Miledi 1982). Il potenziale di riposo è mantenuto a -60 mV e le cellule sono continuamente perfuse con Ringer OR (Miledi et al., 2002) con una velocità di 10-11 ml/ min. Le relazioni correnti-voltaggio sono state determinate mantenendo le cellule a -60 mV e spostando il potenziale a diversi valori, oppure con l'uso di rampe ci circa 1 sec.

Risultati conseguiti:

Confrontando tessuti peritumorali prelevati da pazienti affetti da glioma con quelli di controllo, ossia prelevati da pazienti con tumori cerebrali che non sviluppano crisi epilettiche, è stato individuato in pazienti epilettici un valore di potenziale di equilibrio del GABA più positivo rispetto alle normali condizioni fisiologiche. Ciò fa sì che la cellula sia più depolarizzata e quindi più facilmente eccitabile facendo pensare che questa alterazione presente solo nei pazienti affetti da glioma possa essere uno dei meccanismi che partecipano all'insorgenza delle crisi epilettiche. Si è inoltre visto che questo diverso potenziale di equilibrio è dovuto ad un'alterata espressione dei trasportatori del cloro NKCC1 e KCC2 che determinano una variazione dell'omeostasi di questo ione e una conseguente riduzione della fisiologica inibizione GABAergica. Essendo le crisi epilettiche un aspetto molto invalidante nella gestione della malattia neoplastica, questi risultati aprono la strada all'approfondimento del ruolo dei trasportatori del cloro permettendo così la messa a punto di nuovi approcci farmacologici e chirurgici per la cura di pazienti epilettici affetti da tumori cerebrali.

Studio delle caratteristiche della risposta colinergica in muscoli umani da pazienti affetti da sclerosi laterale amiotrofica.

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una rara e fatale malattia causata dalla progressiva degenerazione dei motoneuroni. Eccetto per una minoranza di pazienti a

cui si attribuiscono cause genetiche, l'eziologia di questa malattia è ancora sconosciuta anche se il pensiero comune è quello che molteplici meccanismi contribuiscono all'insorgere della patologia. Il paziente affetto da SLA perde progressivamente i motoneuroni centrali e periferici che, morendo, lasciano il muscolo denervato. Conseguenza della perdita dei motoneuroni è la degenerazione e l'assottigliamento dei fasci cortico-spinali, evidente soprattutto nei cordoni laterali del midollo spinale, e l'atrofia muscolare da denervazione. Molti studi hanno concentrato la loro attenzione sui meccanismi presinaptici alla base della denervazione muscolare mentre poco o nulla si sa sugli aspetti postsinaptici. Fibre muscolari provenienti da pazienti sani mostrano cluster di recettori nicotinici in corrispondenza della giunzione neuromuscolare. In pazienti affetti da SLA, la denervazione "patologica" comporta una "declusterizzazione" dei recettori lungo la fibra muscolare che porta quindi ad una perdita di funzionalità di quest'ultima. Un aspetto quindi che si è ritenuto di dover approfondire riguardo alla denervazione indotta da SLA era lo studio della fisiologia dei recettori nicotinici dell'acetilcolina sul muscolo dei pazienti affetti da questa malattia. Si ritiene infatti che maggior indicazioni di quando e come la giunzione neuromuscolare inizi a degenerare e come avvenga la re-innervazione durante l'evoluzione della malattia possa sicuramente aiutare a comprendere meglio questa patologia. A tutt'oggi è presente in commercio un solo farmaco, il Riluzolo che purtroppo ha come unico effetto il solo prolungamento della vita o del ricorso alla ventilazione assistita dei pazienti SLA. Lo scopo è stato quello di caratterizzare dal punto di vista elettrofisiologico e farmacologico i recettori nicotinici prelevati attraverso biopsie muscolari di pazienti SLA e microtrapiantati in ovociti della rana *Xenopus*. In questo modo, i recettori funzionali presenti nei tessuti umani vengono espressi sulla superficie delle cellule e si ricostituiscono nell'ovocita con le loro proprietà native.

E' stato inoltre indagato se i recettori nicotinici presenti nei tessuti di pazienti SLA differissero per proprietà funzionali rispetto a recettori nicotinici di controllo, ossia prelevati da pazienti con denervazione muscolare da trauma.

Infine sono state estratte cellule satelliti indifferenziate da muscoli di pazienti SLA e da muscoli di pazienti di controllo denervati per cause traumatiche per poter caratterizzare le correnti colinergiche attraverso esperimenti di path-clamp.

I tessuti muscolari di pazienti affetti da SLA e i tessuti usati come controllo sono stati forniti dal centro SLA del Policlinico Umberto I di Roma. L'uso di questi tessuti è stato autorizzato, dal Comitato Etico di riferimento.

In dettaglio i metodi utilizzati sono stati i seguenti:

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

Registrazioni voltage-clamp: dopo 12 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, Miledi 1982). Sono stati effettuati esperimenti di dose risposta con ACh con applicazioni di neurotrasmettitore ogni 5 min di intervallo. L'affinità apparente (EC₅₀) è stata determinata con un fit dei dati usando l'equazione di Hill. Inoltre sono stati effettuati esperimenti di corrente-voltage spostando il potenziale ai valori desiderati prima di applicare il neurotrasmettitore ogni 2-5 min.

Preparazioni di cellule satelliti da muscolo umano: le cellule satelliti sono state preparate da biopsie umane degli stessi pazienti usati come precedentemente descritto (Cossu et al., 1987).

Registrazioni patch-clamp: correnti whole-cell e outside-out current responses sono state registrate usando un Axopatch 200B amplifier (Axon Instruments, Foster City, CA, USA) e un sistema di perfusione veloce come descritto precedentemente (Grassi et al. 2004). I dati sono stati campionati ed analizzati usando pCLAMP 10.0 (Axon Instruments). Curve di dose risposte all'ACh sono state effettuate applicando l'agonista a differenti concentrazioni con 30-60 sec di intervallo tra le applicazioni e mantenendo il valore di potenziale a -70 mV.

Attraverso la tecnica del microtrapianto in ovociti di *Xenopus* è stata analizzata la funzionalità dei recettori dell'Acetilcolina in tessuti muscolari prelevati da pazienti affetti da SLA comparati con tessuti di pazienti traumatizzati. E' stato dimostrato che il recettore colinergico dei pazienti SLA mantiene le sue native caratteristiche in quanto attivato da Acetilcolina e Nicotina e bloccato da α -bungarotossina e Curaro, ma presenta un'affinità per l'agonista minore rispetto ai recettori muscolari derivanti dai pazienti denervati in seguito a trauma. Inoltre, è stato testato l'unico farmaco in commercio relativo a questa patologia, il Riluzolo.

E' stato visto che questa sostanza riduce le correnti dell'Acetilcolina evocate dal legame dell'agonista con il suo recettore facendo così pensare alla necessità di un approfondimento del ruolo del Riluzolo in questa patologia. A tal proposito, nella seconda parte del progetto ci si prefigge di indagare maggiormente gli effetti che questo farmaco ha sul tessuto muscolare dei pazienti, ossia si vuole vedere se il Riluzolo influenza la funzionalità dei recettori nicotinici muscolari e l'efficienza

muscolare nei pazienti affetti da SLA.

Ci si attende di ottenere:

1. Uno studio approfondito delle proprietà funzionali dei recettori umani gamma-AChR ed epsilon-AChR e le loro modificazioni sotto riluzolo a concentrazioni come quelle nel plasma dei pazienti.
2. La verifica se concentrazioni cliniche di riluzolo modificano il fattore di sicurezza della placca neuromuscolare nei pazienti SLA.
3. Uno studio approfondito sul meccanismo di azione del riluzolo sui miotubi umani da muscoli di pazienti affetti da SLA.
4. La verifica se il riluzolo, bloccando i recettori fetali tipo gamma-AChR possa contribuire positivamente o negativamente alla progressione della malattia secondo l'idea che la denervazione possa precedere o anche contribuire alla degenerazione dei motoneuroni.

LINEA 2

Meccanismi di recupero funzionale della patologia cronica e disabilitante:
analisi dei determinanti di outcome

AREA DI RICERCA CARDIOVASCOLARE

Valutazione prospettica di parametri innovativi di rischio cardiovascolare in pazienti con aumentato rischio cardiovascolare e/o malattie cardiovascolari.

Le malattie cardiovascolari (CV) rappresentano la principale causa di morbidità e mortalità nella popolazione mondiale, in entrambi i sessi, con crescente incidenza. L'attuale sistema di prevenzione e valutazione del rischio di CV non tiene conto dell'impatto differenziale che i fattori di rischio e le risposte ai trattamenti farmacologici hanno nei due sessi. La ricerca di parametri innovativi ad alto valore prognostico, anche basati sulle differenze di genere, è perciò di primaria importanza. 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, pur non rivelando ancora differenze di genere nel determinismo della importanza prognostica anche di questi nuovi fattori di rischio.

Il presente studio è volto a valutare parametri innovativi di rischio CV in pazienti con aumentato rischio CV e/o malattie CV.

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.

Obiettivi secondari dello studio risiedono nel:

- 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.

È stata eseguita 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). Quindi i sog-

getti sono stati sottoposti ad 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) e 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), alla valutazione di alcuni parametri basali (peso, altezza, circonferenza vita e fianchi e misurazione della pressione arteriosa), ad un prelievo di sangue e alla raccolta delle urine.

I soggetti con aumentato rischio cardiovascolare ed i pazienti con malattie cardiovascolari e/o metaboliche sono stati 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. I pazienti sono stati quindi inclusi in un programma di riabilitazione cardiometabolica che comprendeva dieta individualizzata ed esercizio fisico commisurato alle capacità funzionali. Le suddette valutazioni sono state ripetute annualmente per valutare eventi e stato di salute e il calcolo del rischio cardiovascolare.

Ci si prefigge di:

- Valutare prospetticamente la modificazione dei fattori di rischio CV, da soli o in associazione a nuovi fattori di rischio emergenti.
- Identificare la concordanza di diverse carte del rischio cardiovascolare (SCORE e carta del Rischio del Progetto Cuore dell Istituto Superiore di Sanità).
- Identificare il ruolo di fattori di rischio emergenti (fattori psico-ambientali, qualità di vita, umore, tempo di inizio della menopausa) e/o indici precoci di aterosclerosi (stiffness e funzionalità vascolare, biomarcatori).
- Definire prospetticamente il ruolo e l'importanza della associazione dei fattori di rischio tradizionali ed emergenti nella comparsa delle malattie CV.
- Implementare il dialogo fra diversi specialisti (medici di medicina generale, internisti, cardiologi, ginecologi, etc) al fine di ottimizzare le strategie di prevenzione e/o intervento nei pazienti ad aumentato rischio cardiovascolare.

Sono stati finora arruolati 200 pazienti che saranno seguiti longitudinalmente nei prossimi 10 anni.

Si è osservato che, in donne in postmenopausa trattate con terapia ormonale sostitutiva o steroidi, il trattamento con 17β -estradiolo (1 mg/die) più drospirenone (2 mg/die) migliora i sintomi vasomotori e la qualità della vita e influenza positivamente i fattori di

rischio cardiovascolare.

Si è osservato che l'esercizio fisico, tramite un programma ospedaliero strutturato di allenamento cardiovascolare a breve termine, riduce la capacità dei fattori serici di indurre la morte delle cellule endoteliali in pazienti con scompenso cardiaco cronico. È stato dimostrato un effetto diretto del testosterone transdermico nell'accorciare gli intervalli QT in uomini e donne anziani, in assenza di variazioni della frequenza cardiaca o dell'ipogonadismo.

È stato osservato che il trattamento con sostanze, quali la berberina, il lievito di riso rosso, i policosanoli, si associa ad una riduzione della colesterolemia totale, del colesterolo LDL e della resistenza all'insulina nei pazienti ipercolesterolemici anziani intolleranti alle statine. Il trattamento con tali sostanze nutritive, inoltre, è sicuro e ben tollerato in questi pazienti.

Uno studio in aperto ha confrontato gli effetti del trattamento a lungo termine con nebivololo vs carvedilolo sulla frazione d'eiezione ventricolare sinistra, nei pazienti ipertesi con scompenso cardiaco cronico (SCC). Si è osservato che, a lungo termine, carvedilolo e nebivololo hanno analoga efficacia nel trattamento dei pazienti ipertesi con CHF.

Si è osservato che, in pazienti con malattia arteriosa periferica (PAD) e claudicazione, la trimetazidina (TMZ) è efficace nel migliorare le prestazioni funzionali, misurata tramite "massima distanza a piedi" (MWD) al treadmill test. La MWD risultava migliorata in entrambi i gruppi in seguito all'esercizio fisico, ma con un miglioramento maggiore nel gruppo allocato a TMZ rispetto al placebo. Tali dati, suggeriscono che l'inibizione dell'ossidazione degli acidi grassi liberi migliori la capacità funzionale nei pazienti con PAD e claudicazione.

Effetti a breve termine della somministrazione di aminoacidi essenziali sulla capacità funzionale, forza muscolare, metabolismo glucidico e qualità di vita in pazienti con cardiopatia ischemica e ridotta funzione ventricolare sinistra sottoposti ad intervento cardiocirurgico.

È stato osservato che i pazienti sottoposti ad intervento cardiocirurgico già dai primi giorni del periodo post-operatorio sviluppano uno stato catabolico. Le alterazioni degenerative a carico del muscolo scheletrico correlano con la progressiva riduzione della capacità funzionale. In considerazione della stretta associazione fra la perdita della massa muscolare e l'allungamento della degenza postoperatoria con un aumento

del rischio di comparsa di complicanze, gli interventi terapeutici atti a rallentare il depauperamento muscolare, contrastando i processi catabolici possono essere efficaci nel migliorare la prognosi dei pazienti post-operati. In tal senso, l'esercizio fisico aerobico ha un ruolo ampiamente riconosciuto e l'impiego di farmaci anabolizzanti, quali GH, testosterone potrebbe avere un ruolo in particolari gruppi di pazienti.

Un ulteriore approccio ancora poco esplorato nell'ambito della terapia metabolica del paziente cardioperato è quello nutrizionale, ed in particolare la supplementazione della dieta con aminoacidi essenziali. L'efficacia di tali aminoacidi è stata dimostrata in vari modelli di depauperamento muscolare. È noto che la somministrazione di aminoacidi in anziani sani determina un miglioramento della capacità di compiere esercizio ed un incremento della forza muscolare. L'azione degli aminoacidi essenziali a livello del muscolo scheletrico è quella di promuovere la sintesi delle proteine miofibrillari; favorire la sintesi di proteine mitocondriali necessarie per la metabolizzazione dei substrati; fornire substrato al ciclo di Krebs.

La somministrazione di aminoacidi in soggetti affetti da cachessia di varia origine ha portato ad alcuni considerevoli risultati. Il trattamento con alcuni aminoacidi a catena ramificata, leucina e valina in modelli murini di cachessia neoplastica è stato in grado di bloccare la progressiva perdita di peso inducendo un significativo aumento della massa magra. Tali effetti sarebbero il risultato di un'azione degli aminoacidi a livello dei processi di fosforilazione intracellulari.

La somministrazione di aminoacidi in soggetti con diabete mellito ha dimostrato un miglior controllo glicemico con riduzione dei livelli di emoglobina glicosilata.

Scopo dello studio è valutare gli effetti di un mese di somministrazione di aminoacidi essenziali in aggiunta a terapia metabolica integrata sulla capacità di compiere esercizio, la forza ed il volume muscolare, il metabolismo glucidico e la qualità della vita in pazienti con cardiopatia ischemica e disfunzione ventricolare sinistra sottoposti ad intervento cardiocirurgico.

Sono stati arruolati 12 pazienti di entrambi i sessi con diagnosi cardiologica da sottoporre ad intervento cardiocirurgico; randomizzati con un rapporto di 1:1 a ricevere aminoacidi essenziali o placebo in aggiunta a terapia metabolica integrata. Ai pazienti è stata iniziata terapia 10 giorni prima del ricovero in ambiente ospedaliero, proseguita fino ad un mese dopo l'intervento cardiocirurgico. Nel post-operatorio tutti i pazienti sono stati sottoposti a programma riabilitativo cardiologico.

I criteri di arruolamento:

- cardiopatia ischemica con indicazione ad intervento di rivascolarizzazione miocardica
- frazione di eiezione <40%

- condizioni cliniche stabili da almeno 1 mese: non eventi coronarici acuti e/o episodi di scompenso cardiaco da almeno 1 mese, non aritmie maggiori, terapia medica ottimizzata, stabile da almeno 1 mese.

I criteri di esclusione:

- insufficienza epatica grave
- insufficienza renale grave
- scompenso cardiaco congestizio (NYHA IV);
- limitazioni muscolo-scheletriche alla esecuzione di esercizio fisico.
- limitazioni ad alimentarsi.

Il periodo di follow-up è 1 mese.

I pazienti sono sottoposti, previa firma del consenso informato precedentemente approvato dal Comitato Etico, a valutazione clinica e sottoposti ai seguenti esami al momento dell'arruolamento ed alla fine dello studio:

- prelievi ematici (funzionalità renale ed epatica; glicemia e insulinemia basali e a 2 ore, profilo lipidico, emocromo, PCR)
- ecocardiogramma mono-bidimensionale color Doppler (valutazione frazione di eiezione mediante la regola di Simpson; determinazione del volume telediastolica e telesistolico ventricolare sinistro)
- questionario sulla qualità della vita (The Minnesota Living With Heart Failure Questionnaire);
- Test del cammino dei 6 minuti: Il paziente viene posizionato lungo un corridoio lungo 100 m ed è invitato a camminare il più velocemente possibile per la durata di 6 minuti. All'inizio ed alla fine del test viene misurata la pressione arteriosa e la saturazione di ossigeno. Non vengono proferite frasi di incoraggiamento durante l'esecuzione del test. Il test è supervisionato da personale sanitario.
- Valutazione forza muscolare: viene effettuata mediante dinamometro (REV 9000 Technogym) al muscolo quadricipite dell'arto inferiore dominante. Essa comprende: a) determinazione della massima capacità di contrazione isometrica (Newton): il paziente seduto con la gamba flessa a 90° deve provare ad eseguire il movimento di estensione della gamba sulla coscia contro resistenza applicando la massima forza possibile; b) determinazione della massima forza isocinetica (Newton m): il paziente seduto con la gamba flessa a 90° deve eseguire il movimento di estensione e flessione della gamba per tre volte alla velocità fissa di 90°/sec. Il più alto valore registrato è assunto come massima forza isocinetica.

Studi su preparati animali in vivo ed ex-vivo hanno dimostrato che la associazione di amminoacidi essenziali a farmaci che bloccano la β -ossidazione aumenta del 50% l'ef-

ficienza funzionale. Pertanto una associazione di amminoacidi essenziali con farmaci che bloccano la β -ossidazione e farmaci che migliorano la tolleranza glucidica è stata testata in aperto in 6 pazienti in confronto con 6 pazienti che hanno ricevuto solo amminoacidi. Si è dimostrata una efficacia sulle capacità funzionali del 35% superiore rispetto al solo utilizzo di amminoacidi. Pertanto lo scopo del presente studio è la valutazione degli effetti di un mese di somministrazione di aminoacidi essenziali in aggiunta a terapia metabolica integrata.

Sono stati arruolati 12 pazienti secondo i criteri di inclusione sopra menzionati; si propone di completare il reclutamento nel corso del 2012. Al completamento del follow up dei primi 12 pazienti è effettuata una analisi statistica per valutazione di efficacia ad interim sulla base della quale verrà deciso se continuare lo studio o interromperlo.

Valutazione delle differenze di genere degli effetti dell'lvabradina nel modulare l'elasticità vascolare, la funzione endoteliale ed il metabolismo glucidico in pazienti con insufficienza cardiaca cronica classe NYHA I-III in trattamento o meno con beta bloccanti.

L'aumento della vita media e della sopravvivenza dopo eventi coronarici acuti, legata al miglior controllo farmacologico, hanno portato ad un parallelo incremento della prevalenza dell'Insufficienza Cardiaca Congestizia (ICC), che rimane una delle principali cause di ospedalizzazione, morbidità e mortalità, soprattutto nella popolazione anziana. I risultati dello studio BEAUTIFUL hanno evidenziato che l'aggiunta di lvabradina è in grado di migliorare gli outcome in pazienti con disfunzione ventricolare sinistra.

Dati recenti hanno suggerito che i beta bloccanti hanno un effetto sfavorevole sulla pressione arteriosa centrale e sulla elasticità vascolare, mentre nessun dato è al momento disponibile sugli effetti dell'lvabradina su questi parametri vascolari. Incrementando la pressione sistolica centrale, la pressione differenziale ed il post-carico ventricolare e riducendo la pressione di perfusione coronarica, l'aumento della rigidità arteriosa ha importanti ripercussioni sul rischio di eventi cardiovascolari. La misurazione non invasiva dell'onda di polso rappresenta un indice affidabile dell'elasticità arteriosa, che tuttavia è fortemente influenzata dalla frequenza cardiaca (Fc).

Il presente studio si propone di valutare se a parità di riduzione di Fc, molecole differenti possano avere effetti differenti sull'onda di polso e quindi sugli outcomes; e se vi sono differenze di genere.

L'obiettivo primario dello studio risiede nel confronto del ruolo della riduzione selet-

tiva della frequenza cardiaca con Ivabradina, in aggiunta o meno al beta bloccante, sulla pressione aortica centrale e sulla funzione endoteliale, in relazione al sesso.

L'obiettivo secondario risiede nel confrontare l'effetto della riduzione selettiva della frequenza cardiaca con Ivabradina, in aggiunta o meno al beta bloccante, in relazione anche al sesso, su:

- metabolismo glucidico
- sintomatologia clinica, frazione di eiezione, autonomia di marcia (6MWT)
- componente sessuale e qualità di vita mediante test dedicati (versione italiana di IIEF nei maschi e FSFI nelle femmine, SF-36)
- proprietà apoptotiche del siero dei pazienti trattati, anche in relazione agli effetti sulla funzione endoteliale.

Il presente studio multiparametrico è volto a stabilire gli effetti della riduzione selettiva della frequenza cardiaca con Ivabradina, in aggiunta o meno al beta bloccante, sulla elasticità vascolare e sulla funzione endoteliale in pazienti di entrambi i sessi con ICC. Sono stati inclusi pazienti di entrambi i sessi, afferenti al Reparto di Cardiologia e/o al Clinical Trial Center dell'IRCCS San Raffaele Pisana, affetti da ICC (classe NYHA I-III), con funzione sistolica conservata o meno, in terapia o meno con beta bloccanti. La diagnosi di insufficienza cardiaca cronica viene definita secondo i criteri delle linee guida ESC.

Criteri di inclusione:

- Uomini e donne di età > 18 anni, affetti da ICC in fase di stabilità clinica (da almeno 4 settimane), classe NYHA I-III, in terapia o meno con beta bloccanti. I pazienti in terapia con beta bloccanti sono inclusi solo se in terapia stabile da almeno 4 settimane.
- Qualsiasi frazione di eiezione; in base al valore della frazione di eiezione i pazienti sono suddivisi in due gruppi: frazione di eiezione <35% o maggiore di 35% all'esame ecocardiografico alla visita di screening.
- Diagnosi di insufficienza cardiaca cronica da almeno 12 mesi
- Trattamento farmacologico per la ICC stabile nelle ultime 4 settimane.
- Ritmo sinusale con frequenza cardiaca > 70 bpm

Criteri di esclusione: ICC di grado IV, assenza di stabilità clinica nell'ultimo mese, modificazioni della terapia per ICC nell'ultimo mese, aritmie severe, pregressi eventi cardio e/o cerebrovascolare nei 3 mesi precedenti lo studio, valvulopatia aortica/mitralica di grado moderato/severo, cardiopatie congenite, ipertensione arteriosa severa e/o incontrollata (PA 180/110 mmHg), ipotensione arteriosa, insufficienza epatica (enzimi di funzionalità epatica >3 volte il normale) e/o renale, ipersensibilità accertata ai beta-bloccanti e/o controindicazioni all'impiego dei farmaci dello studio, pazienti in tratta-

mento con farmaci che possono prolungare il QT (es. Amiodarone, antidepressivi imipraminici, etc), portatori di PM e/o defibrillatori intracardiaci, pazienti in attesa di interventi chirurgici e/o con neoplasie e/o in terapia antitumorale o immunosoppressiva, intolleranza al lattosio, donne in gravidanza o che non assumano contraccettivi orali, pazienti con MMSE < 23, pazienti che non abbiano firmato il consenso informato allo studio, pazienti inclusi in altri studi clinici e/o che abbiano terminato un altro protocollo clinico da meno di un mese.

Sono studiati 121 pazienti randomizzati a ricevere Ivabradina o Carvedilolo o la loro associazione, in pazienti con scompenso cardiaco NYHA II-III.

Sulla base dei dati preliminari si è ritenuto di dover rimodulare il progetto in termini di aumento di durata del follow up e dei parametri da analizzare. Il reclutamento dei pazienti continuerà nel corso del 2012.

Alla fine dello studio, ci si propone di stabilire gli effetti della riduzione selettiva della Fc con Ivabradina, in aggiunta o meno al beta bloccante, sulla elasticità vascolare e sulla funzione endoteliale e valutare se a parità di riduzione di Fc, molecole differenti possano avere effetti differenti sull'onda di polso e quindi sugli outcomes; e se vi sono differenze di genere.

E' stato condotto uno studio randomizzato per valutare l'effetto della riduzione della frequenza cardiaca con carvedilolo, ivabradina, e loro combinazione sulla capacità di esercizio nei pazienti con scompenso cardiaco che ricevevano una dose massima di ACE-inibitore. Dopo una fase di run-in, i pazienti sono stati randomizzati in 3 gruppi: carvedilolo fino a 25 mg bid (n = 38), ivabradina fino a 7,5 mg bid (n = 41), e combinazione di carvedilolo/ivabradina fino a 12.5/7.5mg bid (n = 42). La dose massima del trattamento in studio è stata più frequentemente tollerata nei pazienti trattati con ivabradina (36/41) rispetto a quelli trattati con carvedilolo (18/38) o terapia combinata (32/42) (p <0,01 vs ivabradina carvedilolo). La frequenza cardiaca è risultata significativamente ridotta in tutti i gruppi, ma in misura maggiore nel gruppo in terapia combinata carvedilolo/ivabradina. La distanza percorsa al test di cammino di 6 minuti e il tempo di esercizio al test MVO(2) sono risultati migliori nel gruppo ivabradina e nel gruppo in terapia combinata (entrambi p <0,01 rispetto al basale), così come il picco di VO(2) e VAT (rispettivamente: P <0,01 per il gruppo ivabradina e P <0,03 per il gruppo in terapia combinata, rispetto a carvedilolo). Non si è riscontrato alcun cambiamento di questi parametri nel gruppo in terapia con carvedilolo. I pazienti trattati con ivabradina o con la combinazione carvedilolo/ivabradina avevano inoltre migliore qualità di vita (p <0,01 rispetto al basale per ivabradina e P <0,02 per il gruppo in terapia combinata), mentre non vi era alcun cambiamento nel gruppo in terapia con carvedilolo. I dati osservati,

suggeriscono che l'ivabradina da sola o in combinazione con carvedilolo è più efficace del carvedilolo da solo nel migliorare la tolleranza all'esercizio e la qualità della vita nei pazienti con scompenso cardiaco.

Inoltre, è stato condotto uno studio osservazionale, trasversale e multicentrico in cui 2226 pazienti con malattia coronarica stabile sono stati seguiti per 6 mesi. Si è osservato che nei pazienti con malattia coronarica circa la metà dei pazienti non assumeva beta bloccanti, per cui la frequenza cardiaca risultava scarsamente controllata. L'età è risultata essere il principale fattore predittivo dello scarso uso di beta bloccanti e di scarso controllo della frequenza cardiaca. Infatti, il 47% dei pazienti con età > 65 anni non ricevevano beta bloccanti, e tale percentuale accresceva progressivamente con l'aumentare dell'età. L'uso di beta bloccanti era maggiore nei pazienti con scompenso cardiaco di grado severo.

AREA DI RICERCA BIOTECNOLOGIE AVANZATE

Applicazione di nuove tecnologie di Biomarker discovery per l'identificazione di determinanti di outcome clinico delle malattie croniche disabilitanti.

La Banca Biologica (Progetto BioBIM) specificatamente dedicata rappresenta una struttura atta alla valutazione di metodiche diagnostiche innovative. In particolare, alcuni interessanti risultati sono stati ottenuti per quanto riguarda il progetto in esame. La disponibilità di un ampio numero di campioni processati e conservati secondo procedure operative standardizzate è, infatti, essenziale in studi di biomarker discovery disegnati al fine di individuare nuovi marcatori in grado di fornire informazioni utili alla comprensione dei meccanismi molecolari coinvolti nella patogenesi di numerose malattie croniche disabilitanti e per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici. Infatti, la disponibilità di nuovi biomarcatori potrebbe portare alla definizione di nuovi test diagnostici o contribuire ad aumentare l'efficacia e/o a ridurre la tossicità di un determinato farmaco, grazie ad un'elevata sensibilità e/o specificità.

Obiettivo principale di questo progetto è l'applicazione di tecniche di biomarker discovery al fine di identificare determinanti di outcome in alcune patologie croniche e disabilitanti. Tale obiettivo può essere perseguito attraverso l'identificazione, mediante tecniche di genomica e proteomica, di nuovi polimorfismi metabolici, pattern di espressione e profili proteici da utilizzare come marcatori di diagnosi, progressione, prognosi e risposta alla terapia e/o insorgenza di effetti indesiderati in pazienti in trattamento riabilitativo. La possibilità fornita dalle moderne tecniche di farmacogenomica di predire individualmente tali determinanti, potrebbe permettere l'applicazione in tempi rapidi di protocolli terapeutici personalizzati ed un uso razionalizzato dei farmaci.

In tale contesto, nell'anno 2011 sono stati ottenuti risultati particolarmente interessanti sull'influenza di polimorfismi germinali del gene che codifica per il Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) nel determinare l'efficacia del trattamento con il bevacizumab (anticorpo monoclonale anti-VEGF). Inoltre, l'analisi mutazionale condotta su un'ampia porzione della regione promoter/5'UTR del gene VEGF ha permesso di identificare una serie di aplotipi correlati con una minore sopravvivenza libera da progressione di malattia. I risultati ottenuti in questo studio rappresentano la prima dimostrazione sperimentale che mutazioni specifiche del VEGF sono associate ad un rischio di progressione di malattia probabilmente dovuto ad un'aumentata attività del promoter e conseguente iperproduzione di VEGF in pazienti con carcinoma coloretta-

le metastatico. Infine, uno studio ancillare condotto a verificare se tali polimorfismi fossero in qualche modo coinvolti nella tossicità gastrointestinale indotta da fluorouracile ha messo in evidenza un'associazione significativa tra varianti di sequenza a livello del promoter ed incidenza di episodi di diarrea precoce, suggerendo che una maggior enfasi dovrebbe essere posta su quei geni coinvolti nella risposta infiammatoria dell'ospite agli agenti chemioterapici ai fini di una corretta valutazione della tossicità indotta da chemioterapia. È tuttora in corso uno studio il cui scopo è quello di valutare gli effetti migliorativi della personalizzazione del trattamento chemioterapico di I linea nel carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) sulla base dei livelli somatici di espressione dei geni ERCC1 (Excision-Repair Cross-Complementing 1), BRCA1 (Breast Cancer 1) e RRM1 (Ribonucleotide Reductase 1), coinvolti nella riparazione del DNA. I risultati fin qui ottenuti sono molto promettenti e sembrerebbero fornire la possibilità di identificare sottogruppi di pazienti in base ai livelli di espressione dei tre geni, consentendo di impostare un trattamento chemioterapico personalizzato.

Grazie alla possibilità di ampliamento della casistica arruolata, si prevede di estendere gli studi di biomarker discovery su un più ampio campionamento che includa anche altre categorie di pazienti allo scopo di verificare le possibili associazioni genotipo/fenotipo utili ad un approccio clinico personalizzato e di individuare e validare l'applicabilità clinica di nuovi parametri biologici da utilizzare quali determinanti di outcome in pazienti affetti da patologie croniche disabilitanti.

Identificazione di marcatori molecolari e profili genetici per lo studio della predittività e della efficacia terapeutica nelle patologie croniche degenerative ed età correlate.

I progressi ottenuti nel campo della genetica di popolazione mettono in luce una notevole variabilità interindividuale basata su singole variazioni nucleotidiche o di lunghezza di zone ripetitive a livello dei geni (polimorfismi), abbastanza frequenti perché non patogenetiche. Patterns di varianti di sequenza di una singola base, che possono invece causare la sintesi di proteine funzionalmente diverse nel caso in cui intercorrano su regioni codificanti, promoters o loci di stabilizzazione trascrizionale, possono determinare la predisposizione genetica ad una determinata patologia. Ne sono esempio le varianti di sequenza associate a malattie cardiovascolari in diversi geni coinvolti nel metabolismo lipidico, nell'ipertensione, nel metabolismo dell'omocisteina, nella trombosi, nell'adesione leucocitaria, nella funzionalità piastrinica e nell'infiammazione. Allo stesso modo, polimorfismi di diversi geni nucleari e mitocondriali sembrano essere

coinvolti in varia misura nella patogenesi di numerose patologie croniche, neurodegenerative, cerebrovascolari ed oncologiche. In tali casi, l'analisi delle variazioni genetiche può essere utile a dimostrare che il gene bersaglio è direttamente coinvolto quale causa nella patologia multifattoriale. In maniera analoga, varianti di sequenza possono essere responsabili della variabilità di risposta individuale al trattamento farmacologico, per cui la loro identificazione permette di individuare il farmaco e la posologia più appropriati, riducendo o evitando il rischio di effetti collaterali o di mancanza di effetto.

Obiettivo principale del progetto è l'individuazione di marcatori molecolari e profili genetici, mutazionali o di espressione, in grado di fornire informazioni, in associazione a biomarcatori classici, relative alla predittività ed alla efficacia terapeutica nelle patologie croniche degenerative ed età correlate.

Nell'anno 2011 l'attività del laboratorio si è incentrata sull'esecuzione di diversi studi atti ad individuare marcatori molecolari e profili genetici utili per la predittività e l'efficacia terapeutica in alcune patologie cronicodegenerative, quali, ipertensione essenziale, patologie cardiovascolari, neurologiche, carcinomi del colon e della mammella. In particolare, sono stati eseguiti studi sull'instabilità dei microsatelliti nell'iniziazione e progressione del cancro al fine non solo di migliorare le nostre conoscenze sulle basi molecolari dell'instabilità genetica in tumori gastrointestinali, ma anche di individuare parametri predittivi di progressione della malattia. A tale scopo l'attività si è focalizzata sull'identificazione di geni con sequenze nucleotidiche ripetitive (possibili target mutazionali di instabilità microsatellitare) in tumori gastrointestinali caratterizzati in precedenza per instabilità genomica mediante l'analisi di microsatelliti mono e dinucleotidici e quindi suddivisi in gruppi ad alta (MSI-H), bassa (MSI-L) o assente (MSS) instabilità. L'analisi di sequenza diretta ha permesso di definire i polimorfismi del gene codificante per l'inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI1) e la proteina Kinase C Substrate 80K-H (PRKCSH) come zone target di instabilità genomica. In particolare, per il gene PAI1 le varianti di sequenza interessanti il polimorfismo ricadevano tutte nel sottogruppo dei MSI-H con una associazione statisticamente significativa. Nessun campione di neoplasia gastrica con MSI-L o MSS mostrava mutazioni. Per quanto riguarda il gene PRKCSH le varianti sono state individuate sia nel sottogruppo MSI-H e in misura minore nel sottogruppo MSI-L, mentre nessuno dei casi MSS mostrava mutazioni a livello del sito polimorfico. Inoltre, è stata eseguita una analisi di mutazione del gene K-ras, con la dimostrazione sperimentale della possibilità di mutazioni concomitanti negli esoni 1 e 2 dell'oncogene. Al momento attuale sono in corso di completamento altre ricerche, quali, ad esempio, la dimostrazione sperimentale della presenza in alcuni pazienti di una variante nell'esone 4 del gene APC, che non comporta splicing aberrante del gene, ma che potrebbe causare una erronea interpretazione dello screening

molecolare di APC, nonché la validazione di un nuovo approccio metodologico per discriminare la configurazione due alleli del gene MTHFR (cis o trans) e la loro influenza sui livelli circolanti di omocisteina.

Grazie all'ampliamento della casistica ed alla messa a punto di procedure operative in grado di garantire l'armonizzazione e la standardizzazione del processo nelle sue varie fasi, si prevede di estendere l'analisi dei polimorfismi, mutazionale/di lunghezza e dei livelli anomali di per procedere ad ulteriori valutazioni statistico-genetiche.

Definizione di determinanti di outcome in patologie ad aumentato rischio trombotico.

La trombosi è un fenomeno multifattoriale dalla patogenesi complessa alla quale contribuiscono complesse interazioni fisiopatologiche tra infiammazione, angiogenesi ed emostasi. Nel corso di tali interazioni, numerose componenti cellulari partecipano attivamente attraverso la liberazione di un'ampia varietà di sostanze biologicamente attive responsabili, a loro volta, del danno vascolare e della formazione di trombi. Pertanto, l'individuazione di parametri biologici in grado di individuare soggetti a rischio di sviluppare eventi di tipo trombotico arterioso o venoso rappresenta un obiettivo di primario interesse per la comunità medica in quanto una diagnosi precoce e/o il tempestivo ricorso ad eventuali programmi di tromboprofilassi potrebbero avere delle ricadute clinico-assistenziali di notevole importanza sulla qualità di vita (QdV) di pazienti affetti da numerose condizioni patologiche (neoplasie, disordini cardiovascolari, etc.). Appare quindi evidente come l'introduzione di nuovi test di laboratorio per l'identificazione di nuovi biomarcatori rivesta una notevole importanza in ambito di prevenzione del rischio trombotico e per la definizione di possibili determinanti di outcome non solo nella fase di prevenzione primaria, ma anche, e soprattutto durante il percorso terapeutico/riabilitativo di alcune classi di pazienti, in quanto la disponibilità di test predittivi potrebbe consentire un'anticipazione diagnostica e/o l'applicazione di eventuali programmi di tromboprofilassi, al fine di prevenire l'insorgenza di eventi tromboembolici, condizioni potenzialmente letali ed altamente disabilitanti.

Sulla base di quanto sopra esposto, l'obiettivo principale della ricerca proposta è lo studio delle possibili associazioni tra la presenza di uno stato protrombotico ed una condizione pro-infiammatoria/pro-angiogenetica in patologie croniche disabilitanti al fine ultimo di caratterizzare una serie di marcatori biomolecolari da utilizzare quali indici predittivi utili alla determinazione del rischio cardiovascolare globale o possibili determinanti di outcome in pazienti con aumentato rischio trombotico.

Allo stato attuale sono stati valutati gli effetti dell'introduzione diagnostica di due nuovi test coagulativi (HemosIL ThromboPath e D-dimero ad elevata sensibilità) nel monitoraggio di pazienti oncologici a rischio di tromboembolismo venoso (TEV). I risultati fin qui ottenuti dimostrano che l'uso del test di generazione della trombina (HemosIL ThromboPath) è in grado di identificare un sottogruppo di pazienti a più alto rischio di TEV in corso di trattamento chemioterapico. In particolare, pazienti con valori patologici di ThromboPath prima dell'inizio della chemioterapia presentano un'incidenza di eventi trombotici maggiore rispetto a quelli con valori normali, con un rischio relativo pari a 3.5. Risultati sovrapponibili sono stati ottenuti con un test ad alta sensibilità per la determinazione del D-Dimero (un marker di attivazione coagulativa), che ha dimostrato come la sua applicazione diagnostica nella stessa popolazione è in grado di predire l'evento tromboembolico con un'accuratezza del 70% ed un hazard ratio di circa 12, indipendentemente dai fattori di rischio classici. La differenza tra i due test risiede nel fatto che il primo sembra essere maggiormente influenzato dall'assetto pro-infiammatorio (tipico del paziente neoplastico). A questo proposito, sono molto promettenti alcuni risultati preliminari presentati al 21° International Congress on Thrombosis, che dimostrano come la risposta infiammatoria dell'ospite alle cellule tumorali e/o i loro prodotti sia in grado di influenzare il sistema emostatico-coagulativo, predisponendo il paziente all'insorgenza di TEV.

Tali evidenze sperimentali permettono di avanzare l'ipotesi di un uso potenziale di questi nuovi test coagulativi nella messa a punto di un nuovo algoritmo diagnostico per l'identificazione di sottogruppi di pazienti ad alto rischio di TEV. Grazie alla possibilità di ampliamento della casistica ed estensione dello studio a categorie di pazienti con patologie diverse. Si prevede, pertanto, di caratterizzare in maniera più approfondita le performance diagnostiche di questi test nella predizione del rischio trombotico e nella programmazione di eventuali interventi di tromboprofilassi specificamente rivolti a prevenire l'insorgenza di una comorbidità potenzialmente letale e a migliorare la qualità di vita di specifiche categorie di pazienti.

ThromboPath evaluation in the prediction of chemotherapy-associated venous thrombo-embolism in cancer patients.

Lo studio si pone all'interno del programma di Ricerca Corrente del Dipartimento di Medicina di Laboratorio e Biotecnologie Avanzate (DMLBA) che prevede l'analisi di determinanti di outcome in patologie croniche e disabilitanti. E' uno studio spontaneo profit in collaborazione con l'Università degli Studi di Roma Tor Vergata concernen-

te la valutazione/validazione di un marcatore potenzialmente predittivo di tromboembolismo venoso (TEV), parzialmente sponsorizzato dalla ditta Instrumentation Laboratory a beneficio esclusivo della copertura delle spese aggiuntive derivanti dalla sperimentazione e con la fornitura gratuita dei kit diagnostici necessari al completamento delle analisi.

Il TEV è, infatti, una causa importante di morbilità e mortalità nei pazienti oncologici, soprattutto se sottoposti a chemioterapia. Tuttavia, i modelli di valutazione del rischio di TEV finora sviluppati non sono del tutto corretti e potrebbero portare a sottovalutare una percentuale significativa di pazienti. In tale contesto, l'identificazione di nuovi biomarcatori potrebbe offrire la possibilità di migliorare tali modelli di rischio. Analisi preliminari hanno messo in evidenza che l'uso dinamico di un nuovo test di generazione della trombina (HemosIL ThromboPath) in pazienti sottoposti a chemioterapia sembrerebbe permettere una stratificazione di pazienti ad alto rischio TEV che potrebbero beneficiare di tromboprolifassi. Sulla base di tali presupposti, lo studio in oggetto si pone quale obiettivo primario la valutazione del valore predittivo di tale test, da solo, o come parte di un modello di rischio che includa altre variabili, quali, ad esempio, D-dimero ad alta sensibilità, nella definizione del rischio di TEV in pazienti con tumori solidi sottoposti a regime chemioterapico. I campioni biologici necessari per la valutazione sono stati selezionati tra quelli presenti nella BioBIM ed analizzati in maniera retrospettiva. I risultati ottenuti (Thromb Haemost. 2011;105:931-2; Eur J Cancer 2011;47:S125) indicano che l'introduzione diagnostica di questi nuovi test potrebbe rappresentare uno strumento utile nella predizione del rischio di TEV e permettono di ipotizzarne l'uso per la stratificazione di pazienti ad alto rischio in cui un'anticipazione diagnostica e/o l'applicazione di eventuali programmi di tromboprolifassi potrebbero intervenire favorevolmente.

AREA DI RICERCA CEFALEA E DOLORE NEUROPATICO E AREA DI RICERCA BIOTECNOLOGIE AVANZATE

Polimorfismi e risultati preliminari - banca biologica.

Nella Banca Biologica sono stati raccolti nel corso del 2011 i campioni di 540 soggetti affetti da cefalea (287 emicrania senza aura, 110 emicrania con aura, 138 emicrania cronica, 5 altri tipi di emicrania) e 150 controlli sani al fine di identificare gli aspetti biologico-molecolari che possano essere utili in termini scientifici, prognostici e terapeutici per questa patologia. I dati clinici e biologici saranno trattati per scopi di ricerca scientifica e la diffusione dei risultati avverrà solo in forma anonima e/o aggregata per finalità scientifica.

Tale Banca è stata approvata dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana che opera al fine di assicurare la salvaguardia dei diritti, dell'integrità e del benessere dei soggetti coinvolti.

La suddetta Banca Biologica prevede regolare consenso informato da parte dei soggetti aderenti. I campioni biologici relativi a sangue intero, siero, plasma EDTA, plasma Citrato, Linfociti, urine vengono processati e stoccati a -80° .

I Polimorfismi che vengono effettuati sono i seguenti: ACE (angiotensin-converting enzyme); DBH (dopamine beta-hydroxylase, plasma); GNAS1 (guanine nucleotide-binding protein, alpha-stimulating activity polypeptide1); HFE (hemochromatosis, hereditary); KCNJ10 (potassium channel, inwardly rectifying, subfamily J, member 10); LTA (lymphotoxin-alpha); MEP1A (mepripin, alpha subunit); MMP3 (matrix metalloproteinase 3); NOCH3 (notch, drosophila, homolog of, 3); PGR (progesterone receptor); RHAG 507 (rhesus blood group-associated glycoprotein); 5HT1A (5-hydroxytryptamine receptor 1a); COMT (catechol-O-methyltransferase); BDNF (brain-derived neurotrophic factor); SOD (superoxide dismutase); PRP(prion protein gene).

Lo studio dei polimorfismi è stato già eseguito sulla maggior parte dei campioni disponibili. Si sta completando la raccolta dei campioni che prevede come target 150 pazienti con emicrania con aura per poter proseguire con l'analisi statistica.

RICERCA TRASLAZIONALE

Laboratorio di Patologia Cellulare e Molecolare

Riabilitazione cardiaca: medicina riparativa nello scompenso cardiaco.

Nonostante i recenti sviluppi, le sindromi coronariche acute e l'insufficienza cardiaca rimangono le principali cause di morte della popolazione adulta nei paesi occidentali. Attualmente, le terapie finalizzate al recupero della funzionalità cardiaca sono prevalentemente di tipo chirurgico o farmacologico. In particolare, l'angioplastica e il bypass coronarico inducono la rivascolarizzazione del tessuto miocardico sopravvissuto al danno mentre la terapia farmacologica attenua il processo di rimodellamento ventricolare. Nessuno di questi trattamenti ha un effetto sulla perdita di massa contrattile che caratterizza il cuore dopo insulto ischemico (Krum, Heart Failure 2009). In questi ultimi anni numerosi tentativi sono stati effettuati al fine di promuovere la rigenerazione del tessuto cardiaco mediante l'utilizzo di cellule staminali (Menasche, Molecular Therapy 2009). Cellule staminali isolate da differenti tessuti, una volta trapiantate nel cuore danneggiato, sono in grado di differenziare in cardiomiociti e dare origine a nuovi vasi coronarici. L'identificazione di cellule staminali cardiache residenti (CSC) ha determinato una notevole accelerazione in questo settore in quanto tali cellule risultano essere più differenziate verso la linea cardiovascolare rispetto a cellule staminali provenienti da altri organi. Due sono gli approcci seguiti nella terapia rigenerativa del cuore: trapianto di CSC autologhe o attivazione di CSC endogene. Specificamente, le CSC possono essere stimolate a proliferare e differenziare ex vivo prima di essere trapiantate nel cuore danneggiato oppure è possibile sviluppare strategie meno invasive in grado di promuovere la proliferazione e il differenziamento di tali cellule in vivo tramite la somministrazione diretta di fattori di crescita nel cuore infartuato o scompensato (Stamm, Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease 2009, Hwang, Life Sciences 2010). In particolare, quest'ultimo approccio evita tutti i problemi legati alla terapia cellulare quali la morte delle cellule trapiantate, la loro integrazione nel tessuto e l'effettivo differenziamento cardiomiogenico e vascolare.

Recentemente è stato dimostrato che il fluido pericardico (fluido contenuto nella cavità pericardica e ricco di fattori di crescita) non svolge solo un'azione meccanica ma contribuisce attivamente, attraverso un meccanismo paracrino, al processo di rigenerazione fisiologica che avviene nel cuore dopo danno ischemico mediante attivazione delle CSC cardiache.

Lo scompenso cardiaco rappresenta il quadro finale di numerose e differenti vie patogenetiche ed è caratterizzato dalla perdita di forza contrattile del miocardio. A questa possono contribuire vari tipi di danno, alcuni irreversibili, come la necrosi (tossica o ischemica), l'apoptosi e la fibrosi, altri reversibili, come la miofibrillolisi parziale, il rigonfiamento torbido o l'ipertrofia

patologica. E' noto che un'opportuna condotta riabilitativa permette di recuperare importanti quote di frazione di eiezione o, almeno, di bloccarne la progressiva diminuzione.

Non è noto nei vari tipi di scompenso quale quota della perdita di forza contrattile sia da attribuire a danni irreversibili e quale quota sia legata a danni eventualmente recuperabili con opportune pratiche terapeutiche e/o riabilitative. Oggi è noto che nelle cellule post-mitotiche come i miocardiociti, l'apoptosi attivata impropriamente genera danni precoci e progressivi, come la miofibrillolisi, e tardivi come la degradazione del DNA. Per questo è necessario caratterizzare il danno sub letale nell'ambito della finestra temporale prima dell'irreversibilità in maniera da poter mettere in atto strategie che blocchino la progressione del danno e ne permettano la riparazione.

Il progetto si prefigge di:

1. Identificare il/i fattori di crescita rilasciati nel fluido pericardico dopo infarto acuto del miocardio in grado di attivare le CSC.
2. Studiare l'effetto della somministrazione dei fattori di crescita individuati al punto 1) in un modello murino di infarto del miocardio
3. Studiare i meccanismi molecolari coinvolti nella rigenerazione cardiaca indotta dai fattori di crescita individuati al punto 1) in fase di ischemia acuta.
4. Caratterizzare i meccanismi di morte nei miocardiociti e la riparazione molecolare per il ripristino, almeno parziale, dell'architettura sarcomerica (riparazione della miofibrillolisi) e della funzione cardiaca (aumento della frazione di eiezione).

Per poter dimostrare un'eventuale coinvolgimento dei liquidi pericardici nell'attivazione delle cellule staminali epicardiche, sono stati raccolti i campioni da pazienti. Specificamente, sangue, plasma e liquido pericardico sono stati prelevati da pazienti con infarto acuto del miocardio (LPA) e loro relativi controlli (LPV). Qui di seguito, in una tabella, sono riportati i dati relativi ai due gruppi di pazienti:

	Gruppo di controllo	Gruppo IM
Genere M/F	12/7	12/4
Età	61±11	61±13
Indice di massa corporea	27±4.8	27.7±4.5
Diabete	(5) 26%	(1) 6%
Iperensione	(13) 68%	(14) 87%
Iperlipidemia	(9) 47%	(7) 43%
Frazione di eiezione	55±15	47.2±11
Wall Motion Score Index	1.1±0.3	1.6±0.4
Farmaci		
Statine	(7) 37%	(7) 44%
B bloccanti	(4) 21%	(10) 62%
Ace inibitori	(12) 63%	(6) 37%

PFs sono stati prelevati da 16 pazienti con infarto acuto del miocardio (LPA) e 19 pazienti non ischemici sottoposti a cambio della valvola mitralica (LPV). Tutti i liquidi sono stati ottenuti durante l'operazione chirurgica subito dopo l'apertura del pericardio e immediatamente prima la somministrazione dell'eparina. Le biopsie di grasso epicardico sono state prelevate solo da pazienti di controllo e il prelievo è stato effettuato vicino ai grandi vasi, sotto il pericardio viscerale.

Esperimenti pilota per valutare la funzionalità dei liquidi pericardici isolati da pazienti con infarto acuto del miocardio e loro relativi controlli sono stati effettuati su una linea primaria di cellule endoteliali umane (HUVEC) e cellule embrionali staminali murine (ES). La proliferazione è stata determinata mediante la curva di crescita ovvero la conta delle cellule a differenti intervalli di tempo, mentre il differenziamento è stato studiato sia in senso cardiomiogenico che vascolare e quindi utilizzando marcatori precoci cardiomiocitari (Tbx5) ed endoteliali (Tie2).

I risultati degli esperimenti pilota hanno dimostrato che in presenza di LPA si ottiene un'aumentata proliferazione di entrambe le linee cellulari (HUVEC e ES) e un differenziamento in senso endoteliale delle cellule HUVEC e cardiomiogenico delle cellule ES. Sulla base dei risultati ottenuti, ci si propone di effettuare esperimenti di proliferazione e differenziamento endoteliale, muscolare liscio e cardiomiocitario su cellule staminali epicardiche coltivate in presenza di LPV e LPA. Ci si aspetta di ottenere una maggiore proliferazione e differenziamento in presenza di LPA rispetto a LPV ovvero in presenza di liquidi pericardici provenienti da pazienti con infarto acuto del miocardio in quanto riteniamo che tali liquidi contengano uno o più fattori solubili in grado di stimolare una rigenerazione spontanea del tessuto miocardico dopo danno ischemico. Inoltre, la somministrazione di tali liquidi in vivo ovvero nel sacco pericardico di topi nudi potrebbe confermare i risultati ottenuti in vitro sulle cellule epicardiche staminali sia in termini di proliferazione che differenziamento.

Una volta effettuati gli esperimenti in vitro e in vivo, si valuterà la composizione dei liquidi pericardici LPV e LPA al fine di identificare uno o più fattori di crescita responsabili dell'attivazione delle cellule staminali epicardiche e quindi della riparazione fisiologica che avviene nel cuore dopo infarto acuto.

Ruolo delle proteine SIRT nella riabilitazione neuromotoria.

Le sirtuine (SIRT) sono una famiglia di deacetilasi che regolano molti aspetti del metabolismo energetico. SIRT1 deacetila diversi substrati (p53, FOXO, PGC-1, p300, ecc) influenzando la durata della vita e l'invecchiamento attraverso la restrizione calorica.

Sia la restrizione calorica sia il digiuno aumentano i livelli di SIRT1 nel cervello, nel fegato e nel tessuto adiposo dei topi. SIRT2 ha localizzazione nucleare e citoplasmatica e come substrati l'istone H4 e la tubulina Hox10. E' coinvolta nella regolazione del checkpoint mitotico. SIRT3 si localizza nella membrana interna dei mitocondri. Il suo substrato è l'acetil-CoA sintetasi. Riduce il potenziale di membrana e la produzione dei ROS. SIRT4 è localizzata nei mitocondri ed ha come substrato la glutammato deidrogenasi. SIRT5 si trova nei mitocondri dove deacetila CPSI. SIRT6 è associata alla cromatina, deacetila la DNA polimerasi ed è coinvolta nella riparazione del DNA, nell'omeostasi del glucosio e nel mantenimento dei livelli normali di IGF-1. SIRT7 è associata ai geni trascrizionalmente attivi dell'rRNA nel nucleolo. Il suo substrato è la RNA polimerasi I e gli istoni H2A/B. Le sirtuine sono coinvolte nel ritardo dell'invecchiamento inibendo l'apoptosi e attivando la riparazione molecolare e il mantenimento di cellule post-mitotiche, il reclutamento e la proliferazione di cellule staminali. L'associazione tra attività fisica e l'aumento dei livelli di sirtuine suggerisce che possa esistere un pathway relazionale tra l'attività fisica, i mecano-sensori generatori di messaggi, come le proteine mlp, ed i geni attivati da questi messaggi (per esempio le proteine sarcomeriche e mitocondriali). E' importante osservare che non vi sono dati sulla specifica funzione delle sirtuine durante la riabilitazione e il recupero della funzionalità neuromotoria.

Il presente progetto si propone di:

1. Studiare il ruolo delle sirtuine nei processi di recupero cellulare dopo sforzo fisico e in seguito a terapia post trauma fisico
2. Studiare il ruolo delle sirtuine nei processi di recupero cellulare in seguito a terapia fisica in pazienti parkinsoniani e paraplegici mediante utilizzo di locomozione assistita da Lokomat®.
3. Studiare il ruolo delle sirtuine nel recupero del danno in cellule post-mitotiche.
4. Studiare i meccanismi di trasduzione del segnale attivati da IGF-1 nei neuroni, con particolare attenzione all'attivazione delle chinasi Akt, Erk1/2 e p38. Studio del ruolo delle sirtuine nella regolazione dell'espressione e secrezione di IGF-1 e dei pathways da esso attivati.
5. Studiare la compartimentazione cellulare dei recettori di danno in seguito a danno sub letale.

Materiali e Metodi:

Agli atleti è stato effettuato un prelievo di sangue periferico. Dall'anello linfomonocitario sono stati estratti mRNA per analisi di real time-PCR e proteine per analisi in Western blotting (WB). I ratti sono fatti correre su treadmill ad una velocità costante (20m/min circa) per un periodo di circa 45 minuti per una settimana. mRNA e proteine sono stati ottenuti da sangue e tessuti.

Le cellule NG108-15 sono state differenziate in vitro. Il danno cellulare è stato indotto mediante apoptogeni. I meccanismi sono stati studiati mediante WB e immunoprecipitazione. La localizzazione intracellulare delle sirtuine è stata studiata tramite WB. Il coinvolgimento della famiglia delle sirtuine è stato studiato mediante Real Time-PCR, Northern blotting e WB. Cellule differenziate saranno trattate con NGF, BDNF, SCF (stem cell factor), inibitori della proteolisi quali MDL-28170, calpastina, MG132 e Z-VAD. La sopravvivenza cellulare è stata misurata mediante marcatura con ioduro di propidio e Annessina V. Lo studio dei meccanismi indotti da IGF-1 è stato effettuato su cellule NG108-15 differenziate e non, in presenza o in assenza di apoptogeno. I livelli di espressione intracellulare di IGF-1 nei neuroni differenziati e nei loro precursori proliferanti saranno misurati tramite WB. La correlazione tra il pathway di IGF-1 e le sirtuine è stata studiata analizzando, tramite WB, analizzando la secrezione di IGF-1 in cellule overesprimenti o silenziate per le sirtuine.

Risultati:

1. Il danno muscolare indotto da sforzo fisico prolungato regola l'espressione delle sirtuine. Si è osservato che l'espressione delle sirtuine aumenta in atleti e ratti dopo sforzo muscolare.
2. Descrizione dei meccanismi indotti da IGF-1. Lo studio del pathway indotto da IGF-1 e dalle proteine della famiglia di Bcl-2 ha mostrato un'attivazione di Akt e dei meccanismi da essa regolati. È stata osservata una maggiore secrezione di IGF-1 nei neuroni rispetto alla loro controparte proliferante.
3. Correlazione tra IGF-1 e sirtuine. È stata dimostrata una connessione tra la sopravvivenza indotta da IGF-1 e i meccanismi regolati dalle sirtuine. L'overespressione di SIRT1 influenza l'espressione di IGF-1.

Risultati attesi:

1. La riabilitazione mediante la terapia locomotoria assistita (Lokomat®) e la terapia criogenica regola l'espressione delle sirtuine. L'espressione delle sirtuine verrà analizzata nei pazienti con gravi impedimenti motori e negli atleti prima e dopo terapia criogenica. Ci si aspetta che la terapia sia caratterizzata da aumentati livelli delle sirtuine.
2. Correlazione tra degenerazione o usura, invecchiamento e capacità di riparazione. Sarà studiato il ruolo della famiglia delle sirtuine. Ci si aspetta che queste proteine siano coinvolte nel differenziamento e nella sopravvivenza dei miociti scheletrici e dei neuroni.
3. Compartimentazione dei recettori di morte nella resistenza dei neuroni. Ci si aspetta che le cellule differenziate in neuroni rispondano allo stimolo apoptotico riducen-

do l'espressione e cambiando la distribuzione nei compartimenti intracellulari dei recettori di morte normalmente localizzati sulla membrana cellulare.

4. Utilizzare le sirtuine come markers di recupero. Ci si aspetta che membri della famiglia delle sirtuine possano essere considerate come marcatori per valutare quantitativamente il recupero sia nei modelli cellulari sia nei pazienti in riabilitazione.

Ruolo dell' autofagia nel recupero del danno neuronale.

L'ischemia cerebrale è una delle cause più comuni di morte o di invalidità nell'età adulta. Un attacco ischemico transitorio e subletale determina un preconditionamento ischemico che protegge il neurone da un successivo attacco ischemico. Tra i meccanismi molecolari coinvolti un ruolo di primo piano sembrerebbe svolto dall'autofagia, meccanismo di degradazione e riciclaggio di organelli citoplasmatici. L'autofagia può essere attivata come meccanismo di sopravvivenza in condizioni di deprivazione di nutrienti e in risposta all'ipossia che si determina in corso di ischemia. L'autofagia potrebbe rallentare la morte cellulare in queste condizioni preservando l'omeostasi cellulare tramite la produzione di cataboliti da cui ricavare energia e, al contempo, eliminando le proteine danneggiate. Una maggiore attivazione del pathway autofagico preparerebbe le cellule allo stress metabolico causato dall'attacco ischemico (effetto di preconditionamento) favorendo la sopravvivenza cellulare e posticipando il programma apoptotico. Questo permetterebbe alle cellule di sopravvivere più a lungo e riprendersi quando avviene la ri-perfusione. Inoltre, un elevato livello di autofagia potrebbe anche causare da un'attivazione massiccia dei lisosomi e portare, in tal modo, alla morte cellulare. E'interessante notare che i danni cellulari che si osservano in corso di ischemia sono regolati dai ROS prodotti negli autofagosomi oltre che nei mitocondri. Le sirtuine (SIRT) sono una famiglia di sette proteine (SIRT 1-7) coinvolte in molteplici processi cellulari quali il ritardo dell'invecchiamento. In particolare, SIRT1 è in grado di prevenire la morte neuronale. L'overespressione di SIRT1 è sufficiente a stimolare l'autofagia formando un complesso molecolare con Atg5, Atg7, Atg8 (omologo di LC3) e deacetilandioli.

Lo studio si prefigge di:

1. Valutare l'importanza dell'autofagia nei neuroni durante la resistenza e/o il recupero al danno ipossico indotto da ischemia;
2. Valutare se i neuroni sottoposti prima a ischemia sono più resistenti a un successivo danno;
3. Valutare il ruolo sirtuine nel regolare il processo autofagico.

Sono stati ottenuti cloni cellulari NG 108-15 overesprimenti SIRT1 e la forma mutata di ATG4B, che inibisce l'autofagia. L'attacco ischemico transitorio è stato indotto in apposita camera di ipossia a tempi diversi. E' stata analizzata la morte cellulare mediante marcatura con ioduro di propizio. L'induzione autofagica è stata valutata analizzando l'espressione proteica di LC3 GATE16, GABARAP e di p62. La struttura citoscheletrica è stata analizzata mediante immunofluorescenza. Le cellule sono state sottoposte con tempistiche diverse a un secondo trattamento di ipossia o ad altri fattori inducenti danno (shock termico, sorbitolo, stress ossidativo). E' stato studiato il ruolo delle sirtuine nell'attivazione del processo autofagico valutando se nelle cellule overesprimenti le sirtuine, in particolare SIRT1, le molecole del meccanismo autofagico sono deacetilate. A tale scopo sono stati utilizzati protocolli di immunoprecipitazione per isolare tali proteine dagli estratti cellulari. Sulle proteine ottenute è stata eseguita analisi di Western Blot (WB). Inoltre, si è valutato se i cloni che overesprimono le sirtuine presentano un grado di autofagia maggiore una volta esposti a ipossia. E' stata valutata l'autofagia indotta mediante WB per LC3.

E' stato dimostrato che in linee cellulari neuronali e non, il processo autofagico è importante per mantenere la struttura citoscheletrica. Infatti una eccessiva attivazione (ipossia o carenza di nutrimenti) o una inibizione (silenziamiento di LC3 o overespressione di una forma mutata di ATG4B) del processo autofagico destabilizza il citoscheletro impedendo processi cellulari come migrazione e differenziamento. Infine, dati preliminari indicano che l'overespressione di SIRT-1 è in grado di indurre autofagia.

Ci si attende:

1. Di comprendere il ruolo dell'autofagia nella resistenza del neurone al danno ipossico/ischemico.
2. Che l'autofagia sia importante per il mantenimento della struttura citoscheletrica del neurone e quindi dei meccanismi collegati al citoscheletro.
3. Che questo studio evidenzi il ruolo delle sirtuine nell'autofagia.
4. Che i neuroni ipossici che overesprimono SIRT1 sopravvivano di più rispetto alle cellule wt in caso di un secondo trattamento ipossico effettuato in seguito a un trattamento di ipossia e successiva riossigenazione.
5. Che se l'induzione di autofagia previene la morte dei neuroni sottoposti a ipossia, una sua inibizione dovrebbe invece favorirne la morte.

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

Lo scompenso cardiaco rappresenta nei paesi occidentali una importante causa di morbidità e mortalità (20% all'anno e fino al 50% a 4 anni). Le cause di scompenso car-

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

Il presente progetto si prefigge di:

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

Il progetto propone di reclutare pazienti con le seguenti caratteristiche:

1. Dilatazione e disfunzione del ventricolo sinistro (EF<40%) di età compresa tra i 18 e gli 80 anni.
2. Assenza di malattia coronaria o valvolare che possa giustificare la severità della disfunzione cardiaca.
3. Scompenso cardiaco cronico (da più di 6 mesi) refrattario alla terapia antiscompenso standard.

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

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

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

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

Le biopsie endomiocardiche di base e di controllo vengono analizzate per: a) istologia, con valutazione morfometrica; b) immunoistochimica per caratterizzare e quantizzare gli infiltrati infiammatori e per analizzare l'attivazione del sistema immunitario (HLA-ABC, HLA-DR); c) valutazione della morte e della proliferazione cellulare e delle cellule staminali cardiache, d) microscopia elettronica con morfometria per valutare il contenuto miofibrillare e il numero e la struttura dei mitocondri; e) profili di espressione genica di actina; alpha-MHC, beta-MHC, miR-133 per analizzare i meccanismi di riparazione miocardica e livelli di sirtuine; f) Attività degli enzimi della catena respiratoria mitocondriale e dei fosfati ad alta energia (ATP, ADP, fosfocreatina). Dai pazienti viene anche prelevato del sangue periferico da cui si ottiene un anello linfomonocitario. Estratti proteici e di mRNA sono ottenuti dalle cellule presenti nell'anello linfomonocitario per analisi di real time-PCR, di western blotting e di saggi enzimatici. In particolare l'espressione e l'attività delle sirtuine viene messa in relazione alla patologia e al recupero funzionale dopo terapia nel paziente.

L'attività del 2011 è consistita nel reclutare 25 pazienti rispondenti ai criteri di inclusione del progetto. I pazienti sono stati sottoposti ad esami cardiologici invasivi, inclusa la biopsia endomiocardica del ventricolo sinistro. In accordo con la diagnosi istologica sono stati identificati 8 pazienti affetti da cardiomiopatia dilatativa "idiopatica", 1 paziente affetto da "cardiomiopatia dilatativa da deficit di distrofina" (malattia di Duchenne), 16 pazienti affetti da miocardite cronica. Tra quest'ultimo gruppo 4 pazienti erano affetti da infezione virale miocardica e 12 pazienti erano virus negativi. In 8 di questi pazienti è stato intrapreso un trattamento immunosoppressivo ottenendo in tutti i casi un significativo miglioramento della funzione cardiaca. Gli studi morfometri-

ci eseguiti su biopsie pre e posttrattamento hanno mostrato un notevole ripristino del contenuto miofibrillare. Sono in atto studi sulle sirtuine per definirne l'espressione e l'attività di base e dopo recupero funzionale. Il paziente affetto da cardiomiopatia di Duchenne è stato analizzato insieme ad altri casi collezionati in precedenza per la presenza di acetilazione e lateralizzazione della connessina 43, confermando i risultati sperimentali che hanno identificato questo importante pathway intracellulare come operativo e potenzialmente reversibile (risultati pubblicati su PNAS 2011). Inoltre, tra i pazienti affetti da cardiomiopatia dilatativa sono stati identificati 2 casi di pazienti con malassorbimento intestinale. Questi pazienti sono stati inclusi in uno studio dove è stata analizzata l'eventuale carenza di elementi traccia ed è stato identificato nel deficit di selenio e zinco un importante meccanismo di danno, che determina una carenza dell'enzima glutatione perossidasi e un aumento della autofagia, che può essere revertito con una terapia di implementazione degli elementi carenti.

Risultati preliminari ottenuti dal laboratorio hanno mostrato un ruolo delle sirtuine nella risposta cellulare a uno stress ossidativo e un ruolo nel recupero cellulare e nell'attivazione delle cellule staminali. Si prevede di confermare tale ruolo anche in pazienti affetti da miocardite con recupero funzionale dopo terapia specifica. Inoltre, ci si attende di poter caratterizzare con precisione i meccanismi che portano al danno nei singoli pazienti e quindi a poter ipotizzare terapie mirate a risolvere tale danno (es. terapie in grado di interferire con l'apoptosi cellulare o di inibire il danno ossidativo mitocondriale o di stimolare l'apporto energetico cellulare).

Laboratorio di Biochimica dell' Invecchiamento

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

Dati presenti in letteratura suggeriscono che, durante l'invecchiamento e in alcune malattie ad esso associate (es. malattie di Parkinson e di Alzheimer), la concentrazione plasmatica e tissutale dei tioli proteici e non proteici tende a diminuire. Questa diminuzione è associata a una carenza a livello dei tessuti di glutatione, il più importante antiossidante a basso peso molecolare. Inoltre, la carenza di cisteina sembra essere il risultato di una alterazione a livello del processo autofagico di degradazione delle proteine, che normalmente assicura un corretto apporto di amino acidi liberi durante il digiuno. Tali fattori, apparentemente non correlati, sono entrambi regolati dalla via di segnalazione dell'insulina. Infatti, questa via è allo stesso tempo in grado di produrre

specie reattive dell'ossigeno e portare a un blocco dell'autofagia. Non solo, la segnalazione dell'insulina può a lungo termine determinare l'inibizione dell'espressione di marcatori di longevità (SIRT1, PGC-1 α) che regolano il metabolismo corporeo, l'omeostasi mitocondriale, i livelli di difesa antiossidante nonché la funzionalità del sistema nervoso ed infine provocare meccanismi di morte redox-regolati. E' stata inoltre dimostrata una diretta correlazione tra la concentrazione plasmatica di cisteina nel periodo post-assorbimento ed il mantenimento della massa muscolare durante l'invecchiamento. Individui con basse concentrazioni di cisteina non riescono ad aumentare la massa muscolare neanche in seguito a specifica attività fisica. Questo aspetto assume particolare importanza nel paziente con malattia di Parkinson dove frequentemente si assiste ad un repentino dimagrimento che ne compromette ulteriormente i problemi di stabilità (equilibrio, deambulazione). Pertanto, studi mirati alla comprensione dei "pathways" metabolici che relazionano il contenuto tiolico e i processi autofagici, nonché il controllo dell'omeostasi della cisteina, attraverso integrazione con la dieta, possono avere promettenti risvolti terapeutici non solo nell'invecchiamento fisiologico ma soprattutto nella prevenzione e/o riabilitazione delle malattie correlate, quali il morbo di Parkinson.

Gli obiettivi principali della presente ricerca sono stati:

- caratterizzare gli effetti della deplezione della difesa antiossidante tiolica sui "pathways" molecolari che controllano la biogenesi mitocondriale e /o la difesa antiossidante;
- studiare gli effetti di "terapie della longevità" quali il digiuno sui "pathways" molecolari del punto precedente;
- valutare gli effetti della supplementazione di cisteina sui livelli plasmatici e monocitari di glutatione e sulle valutazioni del disordine del movimento (UPDRS III test) in pazienti parkinsoniani.

Trattamenti: Topi C57BL/6 sono stati trattati con L-butionina (SR) - Sulfossimina (BSO) (20 mM nell'acqua da bere) per 5 settimane. Il co-trattamento con L-NAME (inibitore della sintesi di NO) è stato effettuato alla concentrazione di 4 mM.

Analisi dell'espressione genica: i livelli di mRNA sono stati quantizzati mediante RT-qPCR, utilizzando come sonda fluorescente il Sybr Green. L'analisi dell'attività di legame di p53 sulle sequenze del promotore di PGC-1 α è stata effettuata mediante oligo-pull-down utilizzando oligonucleotidi biotinilati. Alternativamente, sono stati utilizzati saggi di ChIP seguiti da qPCR.

Western blot: gli organi sono stati omogenati e gli estratti proteici bolliti in tampone di Laemmli e sottoposti a SDS-PAGE e successivo trasferimento su membrana di nitrocel-

lulosa. La membrana è stata poi sottoposta a marcatura con un anticorpo primario specifico. Le bande immunoreattive sono state visualizzate per chemiluminescenza, utilizzando un sistema digitale di acquisizione di immagini.

Analisi del Glutatione (GSH): il contenuto di GSH è stato misurato mediante HPLC previa derivatizzazione del campione con acido iodoacetico e reattivo di Sanger.

Le analisi ex vivo sono state condotte su un numero di dodici pazienti di cui sei con somministrazione di una miscela proteica contenente un'alta concentrazione di cisteina (10 gr die per 3 mesi). Il gruppo di pazienti era eterogeneo per sesso, età (compresa tra 50-65 anni) e diagnosi della malattia <10 anni. Inoltre, i pazienti non presentavano patologie correlate quali diabete, ipertensione, dislipidemie, patologie psichiatriche e patologie infiammatorie intestinali. Come controllo sono state condotte analisi su volontari di età compresa fra 50-65 anni senza patologie correlate e non trattati farmacologicamente. Su prelievi di sangue venoso eparinizzato è stata effettuata una separazione del plasma dalla frazione corpuscolare per centrifugazione. I monociti umani sono stati separati dai linfociti tramite adesione su fiasca dopo gradiente di Ficoll-Paque. Particolare attenzione è stata dedicata alla manipolazione dei campioni di plasma utilizzati per la determinazione della cisteina e del glutatione vista l'elevata suscettibilità all'ossidazione dei tioli. La forma ridotta e ossidata di queste molecole è stata misurata mediante HPLC sia nel plasma sia in monociti e linfociti. I prelievi per il dosaggio dei tioli e il test UPDRS III sono stati effettuati al T0 valore basale, T1 dopo 30 giorni, T2 dopo 60 giorni, T3 dopo 90 giorni.

In molte malattie neurodegenerative e durante l'invecchiamento si assiste ad un progressivo accumulo dello stress nitrossidativo nel sistema nervoso centrale essenzialmente dovuto allo sbilanciamento del metabolismo dell'ossido nitrico (NO). E' stato dimostrato che il tripeptide glutatione, che rappresenta il più importante antiossidante intracellulare non enzimatico, gioca un ruolo chiave nel prevenire il danno nitrativo sulle proteine. In particolare si è osservato in vivo che la modulazione del pool intracellulare di GSH attraverso inibizione chimica della sua sintesi (mediante trattamento con BSO) è in grado di indurre un significativo aumento della nitratura su residui di tirosina di proteine provenienti da omogenati di cervello di topo. Il trattamento preventivo dei topi con inibitori della sintesi di NO (L-NAME) è in grado di prevenire il danno nitrativo scatenato dalla carenza di GSH. Durante trattamento con BSO, è stato inaspettatamente osservato un aumento dei livelli dell'enzima antiossidante manganese superossido dismutasi (SOD2). Questo fenomeno era anche riproducibile in omogenati di muscolo scheletrico. Tali risultati suggerivano che a seguito della deplezione di GSH si instaura un meccanismo di resistenza allo stress ossidativo dovuto alla carenza

di GSH. E' stato osservato che l'aumento dell'espressione di SOD2 è in realtà dovuto ad un meccanismo NO/p53-dipendente. In questo contesto, è stato dimostrato per la prima volta che p53 controlla direttamente l'espressione del co-attivatore trascrizionale PGC-1alfa. Infatti, è stata individuata la capacità di p53 di legarsi al promotore di PGC-1alfa su una specifica sequenza consenso che favorisce la sua espressione e l'attivazione a valle dell'espressione di SOD2.

Il digiuno e la restrizione calorica sono annoverati tra gli approcci nutrizionali più efficaci nel favorire la longevità. Questa azione si esplica attraverso la capacità di indurre i processi di autofagia, di biogenesi mitocondriale e la risposta antiossidante. E' stato dimostrato che il digiuno è caratterizzato da un decremento dei livelli di GSH sia nel cervello sia nel muscolo scheletrico. Inoltre, analogamente ai topi trattati con BSO, i topi sottoposti a digiuno presentano un aumento dei livelli di p53, PGC-1alfa e SOD2. L'analisi dell'attività di legame di p53 al promotore di PGC-1alfa ha confermato un effettivo coinvolgimento di questo fattore nell'aumento dell'espressione di PGC-1alfa. Si è quindi concluso che il decremento dei livelli di GSH, se da una parte può determinare dei danni nitrosativi, dall'altra può favorire una risposta di adattamento redox-mediato allo stress metabolico ed in ultima analisi culminare nella risposta antiossidante e verosimilmente nell'allungamento dell'aspettativa di vita.

Infine si è osservato che topi trattati con BSO presentano una significativa diminuzione del peso corporeo che è in gran parte imputabile alla perdita di grasso viscerale (gonadale). E' noto che l'accumulo di grasso viscerale riduce l'aspettativa di vita. Sulla base di questa evidenza, è possibile ipotizzare che la deplezione di GSH possa attivare la lipolisi o inibire il processo di lipogenesi e adipogenesi. Questi ultimi due processi sono la causa comprovata dell'obesità e del diabete, due patologie che sono state recentemente associate all'aumentato rischio di sviluppare la malattia di Parkinson PD).

I dati prodotti dagli studi condotti su sangue periferico di pazienti PD hanno dimostrato che il pool tiolico del plasma è significativamente alterato. Si ha, infatti, un processo di ossidazione dei tioli plasmatici che interessano sia il glutatione sia la cisteina libera. Questo andamento però non è riproducibile né in monociti né in linfociti, suggerendo che lo sbilancio redox interessa l'ambiente plasmatico o al limite altri distretti corporei. L'utilizzo di integratori proteici ad elevato contenuto di cisteina ha significativamente revertito l'ossidazione tiolica plasmatica, aumentando sia i livelli di glutatione che di cisteina ridotta nei monociti. Tuttavia tale effetto era significativo solo nell'arco del primo mese di trattamento poiché a partire dal secondo mese i livelli di cisteina e glutatione ossidati progressivamente tornavano ai valori iniziali. Il test Unified Parkinson Disease Rating Scale (test UPDRS III) ha mostrato un miglioramento dei parametri al

primo mese, mantenendolo al secondo mese per poi tornare ai valori iniziali progressivamente dal terzo mese in poi. Sebbene questi risultati limitino, per lo meno temporalmente, l'efficienza della supplementazione con cisteina al contempo suggeriscono un ruolo molto importante all'apporto nutrizionale nel mantenere l'omeostasi tiolica. Questo dato risulta ancor più significativo se viene interpretato in funzione del test UPDRS III utilizzato per la valutazione motoria.

Nel 2012 ci si pone quindi l'obiettivo di comprendere i meccanismi molecolari alla base dell'alterazione del metabolismo lipidico redox-mediato e se il trattamento di topi con BSO possa potenziare la resistenza alle tossine Parkinson e prevenire la neurodegenerazione (attraverso l'asse da noi evidenziato P53/PGC-1alfa/Nrf2 che culmina nel potenziamento della risposta antiossidante). Ci si prefigge pertanto di studiare, gli effetti della BSO sulla miogenesi e sulla lipolisi e lipogenesi utilizzando mioblasti e preadipociti primari. Sui topi saranno effettuati studi che riguarderanno l'analisi dell'accrecimento della massa grassa e della massa magra nonché degli effetti sul metabolismo glucidico e lipidico regolati dall'asse SIRT1/PGC-1alfa.

Laboratorio di Nutrizione Umana

Impatto dell'ingestione di alimenti di origine vegetale sullo stress metabolico postprandiale in soggetti sovrappeso e obesi.

Numerose evidenze scientifiche inseriscono lo stress ossidativo tra i fattori di rischio coinvolti nello sviluppo delle malattie cardiovascolari. Recentemente il periodo postprandiale, è stato identificato come un importante elemento perturbante la fisiologia endoteliale. Esso assume una rilevanza importante nella società occidentale, dove la gran parte della popolazione consuma tre o addirittura più pasti al giorno, trascorrendo gran parte della giornata in fase postprandiale; infatti ad eccezione della prima colazione ogni pasto viene in genere consumato prima che i livelli plasmatici di trigliceridi ritornino nei valori basali.

Studi in vitro hanno rilevato che gli acidi grassi provenienti dalla lipolisi delle lipoproteine postprandiali, aumentano la permeabilità dell'endotelio oltre ad espletare un effetto citotossico diretto sulle cellule endoteliali. Inoltre, le lipoproteine postprandiali promuovono l'espressione di proteine di membrana e il rilascio di diverse sostanze bioattive coinvolte nella regolazione della pressione del sangue e dell'emostasi.

Studi di intervento condotti sull'uomo, hanno dimostrato un aumento dei fattori di

rischio cardiovascolare, dell'infiammazione e dello stress ossidativo nelle ore successive il consumo di un pasto ricco in grassi.

Evidenze epidemiologiche hanno associato al consumo di alimenti tipici della dieta mediterranea (frutta, cereali, olio di oliva extra-vergine), una minore concentrazione nei marcatori di infiammazione e un miglioramento del network antiossidante endogeno: l'olio extravergine di oliva sembrerebbe giocare un ruolo chiave in questo effetto protettivo, essendo un alimento ricco in composti antiossidanti di tipo fenolico (oleuropeina, tirosolo) e vitamina E. L'olio presenta un profilo lipidico caratterizzato in prevalenza da acidi grassi monoinsaturi (70%) cui numerosi studi epidemiologici hanno attribuito un effetto neutrale sulla composizione delle lipoproteine plasmatiche. Studi sull'uomo e su modelli cellulari hanno dimostrato come i composti fenolici presenti nell'olio di oliva, attraverso la neutralizzazione dei radicali liberi, siano in grado di ridurre il danno ossidativo e la risposta infiammatoria nei leucociti, aumentare le difese antiossidanti plasmatiche, la resistenza all'ossidazione delle LDL e migliorare la funzionalità endoteliale. Inoltre, i composti presenti nell'olio di oliva, possono interferire con il processo infiammatorio caratterizzante la lesione aterosclerotica, inibendo la produzione di citochine chemotattiche di origine macrofagica.

La produzione dell'olio extra-vergine di oliva si basa sull'impiego esclusivo di sole olive ed utilizzo di mezzi meccanici, senza ulteriori fasi di raffinazione. Affiancare al processo di estrazione classico, processi di co-frangitura delle olive insieme a frutti o materiali vegetali ricchi in composti antiossidanti, oltre a migliorare le proprietà organolettiche potrebbe aumentare notevolmente la stabilità ossidativa dell'olio.

L'obiettivo principale del progetto è quello di valutare se un olio extra-vergine di oliva, ottenuto con un innovativo processo di co-frangitura, ricco in composti antiossidanti (ARO) è maggiormente efficace, rispetto ad un olio a ridotto contenuto in antiossidanti (LAO), nel ridurre lo stress ossidativo ed infiammatorio indotto dall'ingestione di un pasto ricco in grassi, in soggetti sani sovrappeso.

Il progetto si prefigge di:

- 1) Valutare la Capacità Antiossidante Totale (TAC) in vitro dei due tipi di olio, mediante l'analisi del potere riducente e dell'attività neutralizzante i radicali liberi;
- 2) Valutare i marcatori di stato redox, infiammatorio e il profilo metabolico in soggetti sani in sovrappeso, dopo somministrazione in acuto di un pasto ricco in grassi condito con i due tipi di olio di oliva;
- 3) Valutare la biodisponibilità degli antiossidanti lipofili (carotenoidi e vitamina E) in soggetti sani in sovrappeso, dopo somministrazione in acuto di un pasto ricco in grassi condito con i due tipi di olio di oliva.

Lo studio in vivo in acuto ha seguito un disegno sperimentale di tipo incrociato e randomizzato, allo scopo di ridurre al minimo la variabilità. Dieci volontari (ambo i sessi) sani sovrappeso sono stati selezionati, mediante la compilazione di un questionario, secondo i seguenti criteri di inclusione: età 30-55 anni, indice di massa corporea (BMI) compreso tra 25 kg/m² e 29,9 kg/m², non fumatori, senza alcuna patologia conclamata (diabete, neoplasia, aterosclerosi etc.), nessun disordine gastrointestinale, nessuna insufficienza renale e pancreatica, consumo di alcool < 40 g/giorno per gli uomini e < 30 g/giorno per le donne, consumo di frutta e verdura < 4 porzioni/giorno. Sono stati inoltre esclusi tutti coloro che abbiano fatto uso di supplementi vitaminici, farmaci (antiossidanti e antinfiammatori) per un periodo uguale o superiore ad un mese prima dell'inizio dello studio.

Al fine di uniformare la dieta dei soggetti, a tutti i partecipanti è stato chiesto di osservare, nei due giorni antecedenti ciascun intervento, così come il giorno stesso dello studio, una dieta condizionata dall'assenza di cibi e bevande ricchi in antiossidanti, nella misura massima di una porzione media di verdura cruda o cotta al giorno e un frutto medio al giorno. Ai soggetti è stato chiesto di registrare, in una apposita scheda, i consumi alimentari relativi ai 2 giorni precedenti e al giorno dell'intervento ed inoltre annotare nella stessa scheda anomalie, eventuali malesseri o assunzione di farmaci verificatisi durante il suddetto periodo.

Nei giorni di intervento i soggetti, a digiuno da almeno 12 ore, sono stati assegnati in modo casuale a 2 gruppi di trattamento: Gruppo A, ha consumato un pasto sperimentale ricco in grasso (HFM) + 20 ml olio ricco in antiossidanti (ARO); Gruppo B, HFM + 20 ml olio di controllo a basso contenuto in antiossidanti (LAO).

Ai volontari sono stati effettuati prelievi di sangue venoso prima (T0) e dopo (1, 2, 3 e 5 ore) l'ingestione del pasto sperimentale, allo scopo di seguire le variazioni della TAC plasmatica e dei parametri infiammatori e metabolici in relazione ai diversi tipi di trattamento. I campioni di sangue sono stati raccolti in Vacutainer® con anticoagulante (EDTA o Eparina a seconda del biomarcatore), curando di evitare l'emolisi e, al riparo dalla luce, sono stati centrifugati al fine di separare la parte corpuscolata dal plasma. Sono stati raccolti anche campioni di urina prima (T0) ed ad intervalli di tempo compresi tra 0-5, 5-12 e 12-24 ore dopo l'ingestione del pasto, allo scopo di valutarne marcatori di stato redox. Dopo dieci giorni di wash-out lo studio è stato ripetuto assegnando i soggetti di ciascun gruppo ad un diverso tipo di trattamento.

Lo studio è stato condotto in accordo con le linee guida della Dichiarazione di Helsinki, e approvato dal comitato etico dell' IRCCS San Raffaele.

Il presente progetto avrà continuazione nel primo semestre del 2012. La fase di inter-

vento dello studio in vivo è stata conclusa nel 2011. L'analisi dei biomarcatori dello studio in vivo relativi all'obiettivo 3 sarà effettuata nel primo semestre del 2012.

STUDIO in vitro (Obiettivo 1): l'olio in esame (ARO) si caratterizza per un elevato contenuto in licopene (666mg/kg) e flavonoidi (circa 8 volte superiore rispetto a LAO) che gli conferiscono un'elevata potenzialità antiossidante in vitro (FRAP e ORAC).

STUDIO in vivo (Obiettivo 2): un pasto ricco in grassi (High Fat Meal, HFM, 730Kcal circa), è stato utilizzato come stress nutrizionale con lo scopo di indurre uno stato infiammatorio in soggetti soprappeso. L'ingestione dello stesso induce l'innalzamento di fattori di rischio cardiovascolare glicemia, trigliceridi, insulina e ROS cellulari.

La risposta ossido-riduttiva endogena allo stress nutrizionale si esplica invece attraverso un aumento dei gruppi tiolici e della capacità antiossidante plasmatica.

La formulazione in esame, olio ARO, non ha mostrato alcun effetto sulla riduzione dei marcatori di metabolismo lipidico e glucidico, nè sullo stato ossidativo ed infiammatorio generato in seguito all'ingestione di HFM.

Per quanto riguarda le citochine infiammatorie, l'analisi dell'area sotto la curva (AUC) delle concentrazioni plasmatiche di IL-10 ha evidenziato una sensibile riduzione esercitata da ARO sullo stato infiammatorio generato in seguito all'ingestione di HFM.

LINEA 3

Sistemi innovativi di prevenzione/controllo e promozione di salute

AREA DI RICERCA CARDIOVASCOLARE

La gestione domiciliare dello scompenso cardiaco cronico.

Il Piano Sanitario Nazionale e quello Regionale 2008-2012 mettono in primo piano la deospedalizzazione delle patologie croniche e il loro trattamento domiciliare, indicando l'ambito teleassistenziale quale mezzo idoneo a supportare tale passaggio. La telemedicina infatti, può offrire notevoli vantaggi nell'assistenza al cardiopatico cronico, specialmente a quello scompensato, perché permette di mantenere un contatto rapido e continuo con un Centro di assistenza dedicato. Sulla base delle esperienze precedentemente effettuate, è nata l'ipotesi di un progetto per l'implementazione e l'utilizzo di un centro servizi telemedicali, in grado di svolgere attività sanitaria per via telematica, attivo 24 ore al giorno per 365 giorni all'anno, presidiato da personale infermieristico dedicato, in costante contatto con lo specialista, per la gestione domiciliare dei pazienti con scompenso cardiaco, permettendo anche un follow-up adeguato di quelli che per motivi geografici avrebbero difficoltà di accesso alla struttura.

Lo studio si prefigge:

1. La periodica valutazione di pazienti per:
 - aggiornamento della terapia medica
 - aggiornamento dello schema di training domiciliare
 - verifica della aderenza al programma di assistenza
 - rinforzo della motivazione del paziente
2. La costituzione una rete integrata che vede direttamente coinvolti:
 - consorzio Centro Servizi-Cattedra di Cardiologia, Università di Cagliari - IRCCS San Raffaele Pisana
 - operatori sanitari del territorio
 - pazienti con scompenso cardiaco e relativi caregivers.

L'intervento prevede l'utilizzo di:

- strumenti informatici consultabili via web: cartella clinica informatizzata
- strumenti diagnostici in grado di inviare per via transtelefonica, parametri vitali del paziente
 - monitor 7 con possibilità di erogare educazionali
 - elettrocardiografo 12 derivazioni o monotraccia
 - sfigmomanometro
 - saturimetro
 - spirometro
 - bilancia impedenzometrica

- teleconsulto
- telereferto

Le figure professionali operanti nel modello proposto sono rappresentate dall'Infermiere Professionale Tutor, che ha il compito di prendere in carico il paziente arruolato e di seguirlo attraverso contatti telefonici programmati o su richiesta del paziente, di trasferire le informazioni necessarie al Medico di Medicina Generale di riferimento e al Cardiologo, che condividono la gestione del paziente stesso. Il fisioterapista, che gestisce la parte di riallenamento allo sforzo effettuato in sicurezza, perché costantemente monitorizzato a domicilio. Lo specialista cardiologo che apporterà, oltre a repertare le indagini effettuate, le modifiche necessarie per evitare le instabilità e di conseguenza i rricoveri.

La durata del programma di intervento è variabile, in relazione alle necessità cliniche, con follow up minimo di 12 mesi e ciclo riabilitativo di 6 mesi.

Vengono arruolati complessivamente 50 pazienti ricoverati consecutivamente presso la Divisione di Cardiologia del Policlinico di Cagliari, con i seguenti criteri di inclusione:

- FE < 40%
- almeno un ricovero nell'anno precedente per scompenso cardiaco
- eziologia ischemica, valvolare ipertensiva, idiopatica
- età compresa tra 18 e x (70 o 80)
- terapia stabile ed ottimizzata da almeno due settimane
- firma del consenso informato

Criteri di esclusione:

- Demenza o patologie psichiatriche severe
- Angina instabile
- In attesa di intervento cardiocirurgico
- Lista di attesa per trapianto cardiaco
- Deficit motori arti inferiori
- Aspettativa di vita inferiore ad un anno

Al momento dell'arruolamento e al termine del follow up (12 mesi) tutti i pazienti vengono sottoposti ad indagini ematologiche, ecocardiogramma, valutazione della capacità lavorativa (VO₂ e 6 min wt) e della qualità della vita (MLQ, EQ-5D, Euroqual).

25 pazienti vengono dotati di sistema assemblato, per il monitoraggio dei parametri sopradescritti MORTARA che verrà consegnato al domicilio del paziente, attraverso il quale, può inviare i parametri fisiologici.

Risultati attesi:

1. TELEMONITORAGGIO (contatto programmato)

- Acquisizione di dati clinici (ECG, PA , Peso , Sat O2), esami ematochimici, variazioni terapia
- 2. TELEASSISTENZA (contatto occasionale)
 - Presenza di sintomi, ECG
- 3. TELECONSULTO (programmato/occasionale)
 - Richiesto dall IP/ Specialista/ MdMG
- 4. TELESUPPORTO (occasionale)
 - Richiesto dal paziente in assenza di variazioni clinico-terapeutiche significative.

AREA DI RICERCA APPROCCI DI SISTEMA E MALATTIE NON TRASMISSIBILI

Impatto delle procedure riabilitative su nuovi indicatori di infiammazione cronica nella broncopneumopatia cronica ostruttiva.

La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) colpisce il 10% della popolazione generale e si associa ad una significativa morbilità e mortalità, in parte attribuibile ad una aumentata incidenza di carcinoma del polmone. La ricerca scientifica di settore è dedicata all'approfondimento delle attuali conoscenze in merito ai fattori di progressione della BPCO in carcinoma polmonare. Lo studio dei complessi meccanismi molecolari del processo flogistico potrebbe condurre all'individuazione di biomarcatori di progressione neoplastica e all'ideazione di strategie terapeutiche finalizzate ad intervenire specificamente all'interfaccia tra BPCO e cancro.

L'evidenza scientifica a favore di un ampio coinvolgimento del sistema immunitario nella patogenesi della BPCO si può considerare consolidata. Le modificazioni della risposta innata ed adattativa ad oggi descritte nei pazienti con BPCO includono l'incremento della funzione e l'accumulo di cellule dendritiche (DC) mature nelle vie aeree, il difetto dei circuiti di immunoregolazione, l'espansione delle cellule T regolatorie (Treg).

L'enzima indoleamine 2,3-diossigenasi 1 (IDO1) è deputato alla conversione dell'aminoacido essenziale triptofano in una serie di intermedi denominati kynurenine. Nel contesto clinico del cancro, l'espressione di IDO1 è stata correlata con la soppressione delle risposte immunitarie anti-tumorali e con lo sviluppo di tolleranza agli antigeni tumore-associati, attraverso una espansione delle cellule Treg.

L'ipotesi sperimentale che si intende saggiare è che la via catabolica del triptofano incentrata sull'enzima IDO1 sia coinvolta nel promuovere infiammazione cronica ed espansione delle cellule Treg nei pazienti con BPCO e lo sviluppo di patologia neoplastica come recentemente dimostrato in un modello sperimentale di cancerogenesi cutanea.

L'ipotesi sperimentale che si intende verificare è che stimoli pro-infiammatori inducano l'espressione dell'enzima di immunoregolazione IDO1 nei pazienti con BPCO, condizionando l'espansione dei linfociti Treg circolanti. Si intende incentrare le sperimentazioni su due fattori di crescita ematopoietici (IFN-gamma ed HGF) associati ad infiammazione cronica ed autoimmunità.

Gli obiettivi specifici della sperimentazione sono i seguenti:

1. Valutare se mediatori solubili ad attività pro-infiammatoria (IFN-gamma, HGF) inducono l'espressione dell'enzima IDO₁ a livello sistemico;
2. Correlare l'espressione dell'enzima IDO₁ all'assetto fenotipico e funzionale dei linfociti T circolanti;
3. Valutare l'effetto dell'attivazione del catabolismo del triptofano sulla frequenza di cellule dendritiche circolanti mieloidi e plasmacitoidi (CD141+, CD1c+, CD304+).

Si propone di arruolare nello studio 50 pazienti fumatori con BPCO in stadio GOLD 3 o 4, afferenti al Dipartimento di Medicina Respiratoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana. Il gruppo di controllo è costituito da 50 soggetti sani ma fumatori, di pari età e sesso. I pazienti vengono sottoposti ad un prelievo di sangue venoso (15 ml) in occasione di una visita medica di routine (campione basale) e successivamente ogni 3 mesi, per un totale di 4 campionamenti a paziente (200 determinazioni di laboratorio). Il disegno dello studio permette di apprezzare se il trattamento riabilitativo al quale i pazienti sono sottoposti in regime di ricovero ordinario influenza i parametri immunologici oggetto dell'indagine.

In relazione agli obiettivi specifici della sperimentazione, si eseguono le seguenti valutazioni di laboratorio:

- Obiettivo 1. Vengono misurati i livelli di IFN-gamma; ed HGF nel siero e la funzionalità enzimatica di IDO.
- Obiettivo 2. Si quantifica la frequenza di cellule Treg e di cellule polarizzate al profilo funzionale Th1, Th2 e Th17.
- Obiettivo 3. Si determina la frequenza delle popolazioni di cellule dendritiche circolanti mieloidi e plasmacitoidi.

Si prevede di dimostrare che il processo infiammatorio cronico in atto nei pazienti con BPCO in stadio clinico avanzato si associa ad attivazione del catabolismo del triptofano, ad incremento delle cellule Treg circolanti e a squilibrio nella percentuale relativa di cellule dendritiche mieloidi e plasmacitoidi. L'evidenza di un'attivazione del catabolismo del triptofano potrebbe spiegare l'aumento di incidenza di carcinoma polmonare osservato nei pazienti con BPCO, attraverso la promozione di meccanismi di fuga dal controllo immunitario che favorirebbero la trasformazione e la crescita neoplastica. La sperimentazione proposta contribuirà a determinare l'impatto delle procedure riabilitative su specifici parametri di infiammazione cronica e di performance immunologica.

Validazione di biomarcatori molecolari di danno cromosomico e di suscettibilità genetica come predittori di malattia, di sopravvivenza e di riabilitazione.

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

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

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

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

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

Attualmente esiste un database di 5500 soggetti eleggibili per lo studio prospettico.

Nel corso del 2012 e' atteso l'arricchimento del database pooled con nuovi laboratori che entreranno nello studio. Sarà effettuata la selezione dei soggetti e laboratori eleggibili per lo studio e verrà richiesta l'approvazione di tutti i comitati etici nazionali. Verranno inoltre avviati i contatti con i registri tumore locali per organizzare il linkage.

Caratterizzazione genotipica e fenotipizzazione molecolare della Bronco-Pneumopatia-Cronica-Ostruttiva (BPCO). Fase II: "Monitoraggio e valutazione degli effetti della riabilitazione respiratoria: applicazione di un approccio di System Medicine per l'implementazione di una piattaforma di informazioni cliniche, epidemiologiche e campioni biologici relativi all'eziologia, alla patogenesi e al trattamento di pazienti con insufficienza respiratoria.

Oggi in Italia e in Europa, le malattie del sistema respiratorio costituiscono la terza causa di morte dopo i tumori e le malattie cardiocircolatorie. Per la loro elevata incidenza e prevalenza, rappresentano una delle più frequenti cause di malattia e invalidità, comportando un notevole carico assistenziale per la società. Infatti, in base a stime Istat e del Ministero della Salute nel 2002 erano circa 30.000 le persone che ogni anno, a causa della cronicizzazione delle patologie respiratorie, vivevano in condizione di insufficienza respiratoria. Si contano circa 600.000 ricoveri ospedalieri annui dovuti a malattie polmonari, per un totale di quasi 6.000.000 giornate di degenza. Inoltre il fenomeno dell'invecchiamento della popolazione e l'aumentata esposizione ai principali fattori di rischio, quali il fumo di sigaretta e i componenti dell'inquinamento atmosferico, rendono l'incidenza delle malattie respiratorie in continua crescita. In questo contesto si colloca l'importanza di attuare programmi di riabilitazione respira-

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

Obiettivi principali della riabilitazione in questi pazienti sono la prevenzione delle complicanze infettive e la riduzione dei tempi di degenza, favorendo quindi la transizione verso reparti a più basso livello assistenziale. I mezzi con cui si cerca di raggiungere ciò sono i cambiamenti di postura, le manovre di reclutamento alveolare, le tecniche di disostruzione bronchiale, l'allenamento dei muscoli respiratori, il ricondizionamento allo sforzo, lo svezzamento dalla ventilazione meccanica.

La complessità delle patologie trattate rende necessario un approccio di tipo sistemico che consente di tenere in considerazione e di integrare una molteplicità di fattori. Raramente, infatti, un singolo fattore è implicato come unico predittore dello sviluppo della patologia; piuttosto questa si evolve proprio dall'integrazione di più fattori concomitanti. Di conseguenza, in tali casi, si rivela maggiormente adatta una prospettiva sistemica che permette di prendere in esame una mole di dati notevole, provenienti da diverse fonti, al fine di formulare modelli computazionali che tengono conto di informazioni di diversa natura.

Il progetto consiste nella costruzione di una piattaforma di dati complessi relativi ai pazienti ricoverati dal 2005 con diagnosi di insufficienza respiratoria presso i reparti di Pneumologia Riabilitativa della strutture ospedaliere IRCCS San Raffaele Pisana e dei reparti gemelli dipartimentalizzati, Casa di Cura San Raffaele Velletri, San Raffaele Monte Compatri e San Raffaele Cassino. Lo scopo della piattaforma riabilitativa consiste nell'implementare un archivio unico di informazioni cliniche volto al monitoraggio delle attività dei reparti. La grande disponibilità di dati consente di indagare e migliorare le prestazioni cliniche incentrando l'attenzione sui benefici della riabilitazione in termini di maggiore autonomia e maggiori capacità funzionali dei pazienti.

Le attività di ricovero dei reparti di Pneumologia Riabilitativa delle strutture ospedaliere del San Raffaele accolgono in totale circa 700 pazienti/anno con diagnosi di insuffi-

cienza respiratoria che vengono sottoposti a un programma di terapia riabilitativa respiratoria standard della durata di circa 30 giorni. Su tutti i pazienti dimessi si raccolgono, in modo sistematico e automatico, informazioni demografiche, epidemiologiche e cliniche, associate a un registro di dati laboratoristici standard e campioni biologici umani per la ricerca. I dati clinici e di funzionalità respiratoria dei pazienti relativi alla riabilitazione respiratoria, provengono dalla cartella clinica, da strumentazioni (pletismografo, emogasanalizzatore) e dal Sisweb (Sistema Informativo Sanitario Web su cui si basa l'acquisizione dei dati del sistema informatico del San Raffaele S.p.A.). È, inoltre, previsto il prelievo di campione di sangue aggiuntivo (15ml) eseguito in fase di ingresso.

È stata ottenuta l'approvazione del progetto di ricerca da parte del Comitato Etico del Centro Coordinatore (IRCCS San Raffaele Pisana) e della Casa di Cura San Raffaele Cassino. È stata inviata tutta la documentazione per ottenere l'approvazione anche da parte del Comitato Etico a cui afferisce la Casa di Cura San Raffaele Velletri. Successivamente si estenderà il progetto anche alla Casa di Cura San Raffaele Monte Compatri.

È stato autorizzato personale dell'Unità di Epidemiologia Clinica e Molecolare dell'IRCCS San Raffaele Pisana a trattare i dati delle cartelle cliniche dei pazienti ricoverati presso le strutture e dimessi nel passato. Al momento sono stati inseriti nel database le informazioni anonimizzate di 37 pazienti dimessi dall'IRCCS San Raffaele Pisana.

Si provvederà alla messa a regime della piattaforma informatica in cui convergeranno dati provenienti dalle diverse fonti cliniche, strumentali e laboratoristiche. Il collegamento tra le diverse fonti avrà luogo in un unico archivio centrale computerizzato. Sono previsti dei controlli periodici volti a garantire la completezza, l'accuratezza e la qualità dei dati raccolti, per poi pianificare studi futuri.

Inoltre, il progetto include la creazione ed il mantenimento di un Biorepository di campioni umani, allestito presso il Laboratorio di Ricerca Approcci di Sistema e Malattie Non Trasmissibili dell'IRCCS San Raffaele Pisana che provvederà alla conservazione ed organizzazione dei materiali di provenienza umana in accordo con il "Good Laboratory Practices" (GLPs) come definito anche nella Convenzione di Oviedo e regolato dalla normativa nazionale di riferimento. In concomitanza con l'avvio delle attività del Laboratorio, si prevede l'inizio della fase prospettica del progetto con la raccolta di prelievi di sangue.

Sono stati implementati il Biorepository del Laboratorio di Ricerca, con i dati e il mate-

riale biologico umano proveniente da pazienti affetti da cancro del polmone sottoposti a intervento chirurgico, presso la Divisione di Chirurgia Toracica del Policlinico "A. Gemelli" Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma, l'Ospedale Mazzini di Pescara e Centro Oncologico Fiorentino (CFO) di Sesto Fiorentino.

Creazione e validazione di una Piattaforma per sviluppare e studiare modelli alternativi e innovativi di patologia per infiammazione (BPCO), cancro (NSCLC, leucemie) e malattie neurologiche geriatriche (Alzheimer).

Negli ultimi decenni la ricerca in oncologia pre-clinica (di base) e clinica si è orientata ad utilizzare sempre di più i tessuti neoplastici umani rispetto alle linee cellulari ed ai modelli animali. Questi ultimi hanno dimostrato chiari limiti in termini di trasferibilità e significato dei risultati. Questa tendenza è sostenuta dall'impatto sulle conoscenze delle nuove tecnologie di caratterizzazione molecolare (omica). Lo sviluppo, in specifico, di tecnologie di analisi sempre più sensibili e sofisticate (genetica, profili, funzionalità, ecc.) richiede la disponibilità di materiale biologico raccolto e trattato secondo tecniche standardizzate sempre più definite ed affidabili in accordo alle attuali procedure europee (Tubafrost - un consorzio Europeo che ha redatto le linee guida per il prelievo e la conservazione di campioni di tessuto tumorale umano <http://www.tubafrost.org>).

Alla luce di queste indicazioni, si realizza una raccolta di tessuti tumorali umani provenienti da pazienti affetti da cancro del polmone suscettibili di intervento chirurgico allo scopo di facilitare la traslazione delle informazioni di biologia alla pratica clinica, di permettere una rapida risposta a quesiti sperimentali di potenziale valenza (terapia e/o diagnosi) garantendo la qualità e la quantità di tessuti utilizzabili per queste pratiche. I campioni sono raccolti da tre centri: Policlinico Gemelli-Università Cattolica di Roma, Ospedale Mazzini di Pescara e Centro Oncologico Fiorentino.

La piattaforma utilizza anche modelli in vitro innovativi quali colture cellulari in 3D (algimatrix) per mimare le caratteristiche naturali di crescita del tumore (interazione con l'ambiente circostante, capacità di metastizzare).

I meccanismi eziopatogenetici di queste malattie saranno studiati. La piattaforma permette di ottimizzare e personalizzare le strategie terapeutiche riabilitative dei pazienti. Saranno studiati metodi per l'individuazione di nuovi farmaci o terapie, marcatori prognostici e di risposta e test tossicologici e funzionali.

La piattaforma è tuttavia in via di continuo aggiornamento con l'aggiunta di moduli

necessari a coprire tutte le realtà cliniche dell'Istituto nel biennio 2012-2013.

Materiali e Metodi:

Campioni biologici: E' organizzata la criopreservazione di campioni di tessuti umani provenienti da pazienti affetti da cancro del polmone, presso il laboratorio di "Systems Approaches and Non Transmissible Diseases" dell'IRCCS San Raffaele Pisana. I campioni sono prelevati in accordo alle normative europee. Vengono raccolti dati dei pazienti su: età, sesso, diagnosi clinica inclusa presenza di BPCO, diagnosi istologica, tipo intervento chirurgico, follow-up (in accordo ai centri di provenienza), terapia, eventuale riabilitazione respiratoria pre o post intervento, risultati del questionario.

La bio-repository è allestita presso l'IRCCS San Raffaele Pisana e provvede alla conservazione ed al management del materiale di provenienza umana in accordo a Good Laboratory Practices (GLPs) come definito nella Convenzione di Oviedo e regolato dalla normativa nazionale di riferimento. I dati relativi all'identità del paziente vengono anonimizzati. Ad ogni aliquota vengono associati i dati clinici di riferimento in un archivio computerizzato.

E' stata definita la piattaforma; è stata costruita la rete iniziale degli istituti coinvolti, è stata effettuata una valutazione critica del ruolo delle varianti geniche del recettore nicotinic nell'aumento di rischio per dipendenza, insorgenza di tumore e ruolo nella terapia per la cessazione dal fumo di sigaretta. Varianti nei geni codificanti le sub-unità alfa 3-5 (rs1051730 e rs16969968) sono specificamente associate alla dipendenza da nicotina, al maggiore rischio di insorgenza di tumore e influiscono la risposta ai farmaci utilizzati per la terapia per la cessazione dal fumo quali Bupropione e Vareniclina.

E' stata effettuata una valutazione critica della attività dei farmaci antitumorali di origine marina e una definizione critica del ruolo della nicotina in angiogenesi, proliferazione e apoptosi

Si provvederà alla:

- Stesura del consenso informato e approvazione Comitato/i Etici.
- Raccolta e criopreservazione dei campioni
- Raccolta dati relativi ai pazienti: Età, sesso, diagnosi clinica inclusa presenza di BPCO, diagnosi istologica, tipo intervento, Follow-up (in accordo ai centri di provenienza), Terapia, eventuale riabilitazione respiratoria pre o post intervento, risultati del questionario.
- Valutazione critica di una letteratura selezionata su meccanismi genetici quali varianti geniche coinvolte nell'insorgenza di BPCO, NSCLC e malattie geriatriche. E ruolo nella risposta alla terapia.
- Valutazione critica del ruolo svolto dai recettori colinergici neuronali e non neurona-

li (nicotinici e/o muscarinici) nell'insorgenza di malattie quali BPCO, NSCLC e patologie neuro-degenerative.

- Valutazione critica di una letteratura selezionata su nuovi farmaci antitumorali.
- Valutazione di alcuni farmaci antitumorali sperimentali e terapie diretti al bersaglio su modelli cellulari in 3D.
- Sviluppo di nuovi farmaci targeted-oriented verso il sistema colinergico per la terapia antitumorale e/o neurodegenerativa.
- Utilizzo di embrioni precoci di animali semplici, che fisiologicamente si sviluppano al di fuori del corpo materno (invertebrati marini, quali il riccio di mare *Paracentrotus lividus*), allo scopo di studiare i recettori colinergici. Esiste una altissima percentuale di omologia fra le proteine strutturali di riccio e quelle umane.

Come risultati significativi per un centro di ricerca avanzato centrato sulla riabilitazione e il recupero funzionale di pazienti si avranno: creazione della piattaforma per NSCLC; utilizzo di campioni umani per esperimenti di genomica; traslationalità immediata; strategie terapeutiche; avanzamento delle conoscenze in campo medico e clinico relativo a malattie umane.

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

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

Il presente studio si prefigge di indagare il contributo della configurazione genetica alla patogenesi dell'autismo e della schizofrenia con particolare riferimento alle abilità cognitive.

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

È stato reclutato un campione di 108 pazienti schizofrenici. Per ciascuno di questi pazienti è stato ottenuto un campione di sangue che è stato aliquotato e conservato a -80 °C; da una di queste aliquote per ogni paziente è stato estratto il DNA. Inoltre tutti

i pazienti sono stati caratterizzati dal punto di vista clinico-demografico. Sono state condotte revisioni sistematiche di letteratura e meta-analisi sul danno ossidativo nell'autismo infantile.

Nel corso del 2012 continueranno le attività di reclutamento dei pazienti schizofrenici, verranno effettuati il sequenziamento del DNA dei pazienti e le analisi volte ad individuare le relazioni tra la configurazione genetica e le caratteristiche cliniche. Verranno effettuate le analisi genomiche e metaboliche sui soggetti autistici e sui controlli.

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Studi sulla relazione tra attività corticale (EEG) e regolazione del peso corporeo.

a) I ritmi EEG alfa nella condizione di riposo differiscono nei soggetti normopeso rispetto ai soggetti con peso anormale (sottopeso, sovrappeso, obesi).

In questo studio è stata valutata l'ipotesi secondo la quale l'ampiezza corticale dei ritmi EEG alfa (8-12 Hz) nelle condizioni di riposo differisce tra soggetti sottopeso, normopeso, sovrappeso/obesi come indice di una relazione tra sincronizzazione corticale neurale e regolazione del peso corporeo. Lo studio è stato condotto in 16 soggetti sottopeso, 25 soggetti normopeso e 18 soggetti sovrappeso/obesi. I dati EEG (19 canali) sono stati registrati nella condizione di riposo ad occhi chiusi. Le bande EEG di interesse sono state: delta (2-4 Hz), teta (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). L'analisi delle sorgenti corticali EEG è stata effettuata mediante la tecnica di LORETA. I risultati statistici hanno mostrato che l'ampiezza delle sorgenti corticali EEG alfa 1 nelle aree parietali e temporali è maggiore nei soggetti sottopeso rispetto ai normopeso, e nei soggetti normopeso rispetto ai sovrappeso/obesi. Inoltre, l'ampiezza delle sorgenti corticali EEG alfa 1 nelle aree occipitali è maggiore nei soggetti normopeso rispetto ai sottopeso, e nei soggetti sottopeso rispetto ai sovrappeso/obesi. Infine, l'ampiezza delle sorgenti corticali EEG alfa 2 nelle aree parietali, temporali ed occipitali è maggiore nei soggetti normopeso rispetto ai soggetti sottopeso e sovrappeso/obesi. Questi risultati supportano l'ipotesi che un peso anormale nei soggetti sovrappeso/obesi è correlato ad una anormale sincronizzazione corticale neurale alla base dei ritmi EEG alfa a riposo. Si può ragionevolmente ipotizzare che l'ampiezza del ritmo alfa a riposo possa rappresentare un valido marker EEG dei processi di neuroplasticità nel corso della riabilitazione cognitivo-motoria.

b) La risposta corticale EEG a stimoli “oddball” rappresentanti volti allargati è ridotta nei soggetti sottopeso rispetto a soggetti normopeso.

In questo studio è stata valutata l'ipotesi secondo la quale, rispetto a soggetti normopeso, soggetti sottopeso sono caratterizzati da una riduzione della risposta corticale a stimoli “oddball” rappresentanti volti allargati. Lo studio è stato condotto in 16 soggetti sottopeso e 16 soggetti normopeso. I dati EEG (19 canali) sono stati registrati durante un paradigma “oddball” in cui il soggetto è stato sottoposto a stimoli visivi frequenti (70%) e infrequenti (rari; 30%) che ritraevano il cibo (condizione CIBO), il volto

umano (condizione VOLTO) o scenari paesaggistici (condizione CONTROLLO). Gli stimoli rari erano costituiti dagli stessi stimoli frequenti ingranditi del 25% sull'asse orizzontale, a simulare un ingrassamento del volto, un aumento della dimensione del cibo e degli stimoli di controllo. La risposta corticale è stata valutata calcolando la differenza dell'ampiezza della P300 (picco evento correlato che si osserva a circa 300-500 ms dopo uno stimolo) negli stimoli rari rispetto a quelli frequenti. L'analisi delle sorgenti corticali della P300 è stata effettuata mediante la tecnica di LORETA. I risultati statistici hanno mostrato che l'ampiezza della P300 nella condizione VOLTO nelle regioni prefrontali (aree di Brodmann: BA 10 e BA 11) e temporali e parietali (aree di Brodmann: BA 19, BA 20, BA 21, BA 22, BA 36, BA 37, BA 39, BA 40) è minore nei soggetti sottopeso rispetto ai soggetti normopeso. Nessuna differenza tra soggetti sottopeso e soggetti normopeso si è osservata per le condizioni CIBO e VOLTO. Questi risultati supportano l'ipotesi che i processi attentivi durante la valutazione del corpo (volto) sono ridotti nei soggetti sottopeso rispetto ai soggetti normopeso. Si può ragionevolmente ipotizzare che l'ampiezza della P300 durante stimoli "oddball" possa rappresentare un valido marker EEG dei processi di neuroplasticità nel corso della riabilitazione cognitivo-motoria.

c) La risposta corticale EEG a stimoli "oddball" rappresentanti volti allargati è maggiore nei soggetti normopeso sottoposti a controllo rigoroso del peso corporeo rispetto a soggetti normopeso non sottoposti a dieta.

In questo studio è stata valutata l'ipotesi secondo la quale, rispetto a soggetti normopeso non sottoposti a dieta, soggetti normopeso sottoposti a controllo rigoroso del peso corporeo sono caratterizzati da un aumento della risposta corticale a stimoli "oddball" rappresentanti volti allargati. Lo studio è stato condotto in 18 soggetti normopeso sottoposti a controllo rigoroso del peso corporeo e 24 soggetti normopeso non sottoposti a dieta. I dati EEG (19 canali) sono stati registrati durante un paradigma "oddball" in cui il soggetto è stato sottoposto a stimoli visivi frequenti (70%) e infrequenti (rari; 30%) che ritraevano il cibo (condizione CIBO), il volto umano (condizione VOLTO) o scenari paesaggistici (condizione CONTROLLO). Gli stimoli rari erano costituiti dagli stessi stimoli frequenti ingranditi del 25% sull'asse orizzontale, a simulare un ingrassamento del volto, un aumento della dimensione del cibo e degli stimoli di controllo. La risposta corticale è stata valutata calcolando la differenza dell'ampiezza della P300 negli stimoli rari rispetto a quelli frequenti. L'analisi delle sorgenti corticali della P300 è stata effettuata mediante la tecnica di LORETA. I risultati statistici hanno mostrato che l'ampiezza della P300 nella condizione VOLTO nelle regioni frontali (area

di Brodmann: BA 6) e parietali (area di Brodmann: BA 5) è maggiore nei soggetti normopeso sottoposti a controllo rigoroso del peso corporeo rispetto a soggetti normopeso non sottoposti a dieta. Nessuna differenza tra i due gruppi si è osservata per le condizioni CIBO e VOLTO. Questi risultati supportano l'ipotesi secondo la quale i processi attentivi durante la valutazione del corpo (volto) sono maggiori nei soggetti normopeso sottoposti a controllo rigoroso del peso corporeo rispetto a soggetti normopeso non sottoposti a dieta. Si può ragionevolmente ipotizzare che l'ampiezza della P300 durante stimoli "oddball" possa rappresentare un valido marker EEG dei processi di neuroplasticità nel corso della riabilitazione cognitivo-motoria.

RICERCA TRASLAZIONALE

Laboratorio di Patologia Molecolare e Cellulare

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

Le sirtuine sono una classe di proteine coinvolte nel controllo di processi cellulari come differenziamento, proliferazione, apoptosi, metabolismo e invecchiamento. Nei mammiferi, questa famiglia di proteine è composta da 7 membri (SIRT1 a SIRT7) con diversa localizzazione intracellulare che va dal citosol (SIRT1 e SIRT2) ai mitocondri (SIRT3, 4 e 5), nucleo (SIRT1, SIRT6) e nucleolo (SIRT7). Le sirtuine sono sia deacetilasi NAD dipendenti che ADP ribosilasi. Attraverso la loro attività deacetilasica, le sirtuine sono in grado di controllare numerose funzioni cellulari.

Le sirtuine mitocondriali SIRT3, SIRT4 e SIRT5 deacetilano o ADP ribosilano diverse proteine mitocondriali controllando numerose funzioni mitocondriali come fosforilazione ossidativa, ciclo di Krebs, glicolisi, ciclo dell'urea, apoptosi. A loro volta i mitocondri hanno un ruolo fondamentale nel regolare lo stato energetico cellulare mantenendo la vitalità cellulare. Questo è particolarmente importante in cellule post-mitotiche come neuroni e cardiomiociti in cui l'assenza di replicazione richiede il prolungato mantenimento dell'integrità strutturale e funzionale della cellula. Disfunzioni mitocondriali sono presenti nell'invecchiamento, malattie neurodegenerative e tumori. Per questo motivo, uno studio delle sirtuine mitocondriali in modelli cellulari e animali potrebbe fornire importanti informazioni sul ruolo di queste proteine nel mantenimento delle funzioni mitocondriali e, in ultima analisi, della sopravvivenza cellulare e animale.

Il presente progetto si propone di:

- Studiare il ruolo delle sirtuine mitocondriali nel regolare la funzione e l'integrità mitocondriale misurata tramite produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), aumento della permeabilità di membrana con formazione del poro di membrana mitocondriale (MPT) in linee cellulari.
- Studiare il ruolo delle sirtuine mitocondriali nel mantenimento dell'integrità, funzionalità e vitalità cellulare in cellule post-mitotiche e non.
- Studiare il ruolo delle sirtuine mitocondriali nel regolare la risposta all'attività fisica in animali transgenici e KO per le sirtuine stesse.

Diverse linee cellulari sono state trasfettate o silenziate per le varie sirtuine mitocondriali tramite vettori plasmidici. Le linee parentali o trasfettate sono state sottoposte a

stress come ipossia, trattamento con apoptogeni, trattamento con pro-ossidanti. La mortalità cellulare è stata misurata tramite citofluorimetria a flusso. I livelli delle sirtuine mitocondriali sono stati misurati tramite Western Blot (WB) nelle frazioni mitocondriali. È stata misurata l'attività deacetilasi delle sirtuine tramite substrato fluorescente. I livelli dei ROS sono stati misurati al citofluorimetro (DCFH-DA). Il pH intracellulare, indice di un'attività glicolitica elevata, è stato misurato al citofluorimetro previa incubazione in BCECF-AM. La variazione della permeabilità di membrana mitocondriale è stata valutata mediante rilascio del citocromo c, associazione della esochinasi II (HK-II) alla membrana esterna dei mitocondri. I livelli di proteine apoptotiche come Bax, Bak e Bcl-2 saranno misurati nella frazione mitocondriale.

La funzionalità mitocondriale viene mantenuta e controllata dai livelli di sirtuine. Si è osservato che i cloni cellulari di MDA-MB-231 e C2C12 overesprimenti le sirtuine mitocondriali hanno una maggiore fosforilazione ossidativa, diminuzione di ROS e resistenza allo stress. Al contrario, i cloni cellulari silenziati per tali sirtuine hanno una minore efficienza mitocondriale in termini di ridotta fosforilazione ossidativa, aumento dei ROS e minore resistenza allo stress. Le sirtuine mitocondriali sono importanti per la vitalità di linee cellulari post-mitotiche. Nella linea cellulare muscolare C2C12 l'overespressione delle sirtuine mitocondriali protegge stimoli ipossici e apoptotici.

Le sirtuine mitocondriali sono importanti per mantenere vitali e per favorire il recupero di funzione di linee cellulari post-mitotiche.

Ci si aspetta che linee cellulari neuronali sopravvivano più a lungo mostrando maggiore resistenza agli stress come ipossia se viene aumentata l'espressione di sirtuine mitocondriali.

Animali transgenici per le sirtuine mitocondriali hanno una migliore performance all'esercizio.

Ci si aspetta che animali transgenici per le sirtuine mitocondriali siano più resistenti allo sforzo fisico e abbiano una migliore performance quando allenati rispetto ai topi KO e ai topi wild type. Inoltre nei topi transgenici ci si aspetta di individuare livelli più bassi di ROS e di produzione di lattati a causa di una diminuita glicolisi.

Attivazione pro-infiammatoria di adipociti nella cachessia neoplastica. Ruolo delle sirtuine nel controllo della degradazione tissutale nella cachessia.

La cachessia neoplastica è una sindrome caratterizzata da una marcata perdita di peso. Tale sindrome altera l'omeostasi fisiologica e biochimica del paziente riducendo l'efficacia dei trattamenti anti-neoplastici. A livello metabolico la cachessia è caratterizzata da una perdita di tessuto adiposo e muscolare dovuta, a livello cellulare, ad un ecces-

siva attivazione della proteolisi. Anche se i meccanismi responsabili della cachessia sono per lo più oscuri, un ruolo importante sembra essere giocato dalle citochine infiammatorie. Tali citochine con un effetto per lo più paracrino attivano i processi di lipolisi e proteolisi. Molti aspetti sono ancora oscuri sulla precisa cascata di eventi che portano a questo quadro finale e non è chiaro il ruolo della risposta infiammatoria, sia dell'eventuale infiltrato linfomonocitario presente, che di quella attivata direttamente negli adipociti o miociti. Una classe di proteine con un ruolo centrale nella regolazione della risposta cellulare e tissutale a stimoli di stress sono le sirtuine (SIRT). Questa famiglia comprende 7 proteine (SIRT1-SIRT7) che, tramite la loro attività deacetilica regolano la funzione di numerosi fattori di trascrizione, la sopravvivenza cellulare a stimoli apoptotici, necrotici e autofagici, il differenziamento cellulare, ecc. Essendo le sirtuine dipendenti per la loro funzione dai livelli di NAD⁺, ne consegue che la loro attività può essere regolata, come in parte già dimostrato, da agenti esterni come attività fisica, dieta e farmaci. Di conseguenza l'attivazione delle sirtuine nel tessuto adiposo o in quello muscolare potrebbe suggerire nuove strategie per bloccare o rallentare il danno cachettico o, soprattutto, recuperare struttura e funzione di miociti scheletrici e adipociti, obiettivi cruciali in una razionale riabilitazione palliativa.

La funzione delle citochine infiammatorie come il TNF α ; nella cachessia neoplastica è ben nota. Tuttavia nulla si sa sulla risposta pro-infiammatoria da parte delle cellule direttamente interessate dal processo di degradazione associato alla cachessia come adipociti e miociti. Un altro aspetto poco noto è quali strategie adottare per rallentare o recuperare la degradazione attivata dal processo cachettico.

Il presente studio si prefigge di:

1. Esplorare il ruolo, nella patogenesi della cachessia, dell'accensione della risposta infiammatoria negli adipociti.
2. Esplorare il ruolo delle sirtuine nel rallentare la degradazione cellulare e tissutale in presenza di stimoli cachettici.
3. Individuare strategie riabilitative per bloccare e rallentare il danno e recuperare funzione muscolare e tessuto adiposo.

I livelli di espressione delle sirtuine sono stati misurati in termini di mRNA tramite RT-PCR e in termini di proteine tramite Western Blot dopo separazione dell'anello linfomonocitario da sangue periferico da soggetti di controllo. L'attività deacetilica delle sirtuine è stata misurata tramite appositi kit in fluorescenza e tramite western blot per lisine acetilate.

Risultati ottenuti:

Misurazione dell'attività e espressione delle sirtuine da sangue periferico dopo isolamento dell'anello linfomonocitario in soggetti di controllo.

In base alla esperienza acquisita sull'espressione e il ruolo delle proteine pro-infiammatorie nelle cellule differenziate e sull'importanza delle sirtuine come marcatori di recupero e di sopravvivenza cellulare, ci si attende di poter individuare una correlazione tra i livelli di tali molecole e la risposta del paziente al trattamento. In particolare, ci si attende che la riabilitazione fisica si traduca in una diminuzione delle proteine pro-infiammatorie ed in un corrispettivo aumento delle sirtuine. La possibilità di bloccare il danno e recuperare la funzione dei miociti e adipociti in pazienti cachettici sarà il principale risultato immediatamente trasferibile al Sistema Sanitario Nazionale, con evidenti motivi di miglioramento della qualità della vita e di un possibile aumento della sopravvivenza, legato non alle terapie antitumorali, ma a queste strategie riabilitative palliative.

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

L'ambiente ipossico, in cui si trova un tumore precoce, può essere responsabile dell'espressione de novo dei recettori delle allarmine, attivando una risposta genica coordinata detta risposta riparativa infiammatoria (IRR). L'ipossia induce due fenomeni: a) Necrosi delle cellule che sono più distanti dai vasi del tessuto ospite con rilascio di allarmine); b) Attivazione di HIF-1 α con nuova espressione di recettori delle allarmine come RAGE, P2X7, toll-like. Tutti questi recettori, quando stimolati dalle allarmine, attivano NF κ B che a sua volta upregola i geni dell'IRR, inducendo così cambiamenti nelle proprietà biologiche delle cellule tumorali. Attualmente la letteratura è ricca di dati che dimostrano: (a) un guadagno di funzione del sistema MMPs/TIMPs per spiegare la digestione della matrice extracellulare necessaria per l'invasione; (b) l'aumentata abilità di migrare e di rispondere agli stimoli chemiotattici associata all'upregolazione dei recettori delle chemiochine (CXCR4, CXCR5, ecc) e al remodeling del citoscheletro; (c) un nuovo pattern di espressione delle molecole di adesione facilita il rilascio dal tumore primario, la migrazione lungo un gradiente chemiotattico e homing specifico in un endotelio attivato di un sito distante; (d) un set di fattori di sopravvivenza e crescita prodotti dalla cellula tumorale attivata dall'ipossia, possono essere responsabili della crescita e dell'angiogenesi del tumore metastatico secondario.

Il progetto si prefigge di :

1. Studiare il ruolo di HIF1 α , NF κ B e IRR nel Ca papillare di tiroide, vescica colon.
2. Identificare quali allarmine/DAMPs sono più efficaci nell'indurre la IRR.
3. Identificare quale sottopopolazione di cellule tumorali si adatta più facilmente all'ipossia e attiva più facilmente la IRR.
4. Analizzare la possibile relazione causa/effetto tra l'upregolazione di alcuni geni IRR e il com-

parire di specifiche proprietà tipiche del fenotipo maligno.

5. Esplorare in modelli sperimentali in vitro e in vivo il meccanismo di homing specifico delle cellule di cancro attivate dall'ipossia.
6. Studiare la possibilità di bloccare o rallentare la progressione tumorale inibendo NFkB e/o HIF1 α , in vitro e in vivo.

Materiali e Metodi:

Campioni di biopsie umane di Ca papillare di tiroide, sono stati sezionati e sottoposti a laser capture microdissection (LCMD). Le microdissezioni ottenute sono state utilizzate per analizzare: a) espressione di mRNA mediante Real-time PCR; b) espressione proteica di P2X7, RAGE, COX2, NOS2, SOCS1, TLR2-3-4, e MMP2 mediante WB; c) l'attivazione di HIF1 α e NF-kB mediante WB o ELISA. L'ipossia è stata ottenuta incubando le cellule in 1%O₂ in una camera ipossica. Le CS/P sono state preparate campioni chirurgici di tumori solidi umani e linee cellulari umane. L'invasione cellulare è stata misurata mediante uno specifico kit. La migrazione cellulare è stata studiata mediante il wound healing assay. I silenziamenti sono stati effettuati mediante vettori lentivirali per P2X7, HIF1 α ; NFkB e RAGE. L'homing delle cellule tumorali è stato studiato mediante coculture di cellule tumorali attivate da ipossia o di controllo e cellule HUVEC preattivate da LPS o una mix di citochine Th1 e Th2.

E' emerso che l'ipossia, attraverso l'accumulo di HIF-1 α , attiva l'espressione di mRNA e proteine di recettori e molecole intracellulari costituenti una risposta IRR (P2X7 e RAGE). Inoltre, l'ipossia attiva NFkB con ulteriore incremento della IRR. Le cellule staminali tumorali sono quelle in cui la IRR è attivata più precocemente e significativamente. Inoltre tali cellule mostrano un'elevata capacità invasiva e migratoria.

Le allarmine contenute nelle frazioni cellulari utilizzate, legandosi ai recettori espressi nelle cellule tumorali ipossiche, attivano NFkB, che a sua volta, stimola la trascrizione di geni coinvolti nella progressione tumorale come MMPs, molecole di adesione, recettori per citochine come CXCR4.

Ci si aspetta che un danno tissutale nel tessuto bersaglio possa creare un gradiente citochinico capace di dirigere la migrazione metastatica di cellule tumorali o staminali tumorali precedentemente attivate dall'ipossia del tumore primario. In alternativa, alcune proprietà intrinseche del tessuto stesso potrebbero guidare tale invasione. In particolare, in vitro ci si aspetta di osservare diversi gradi di invasione a seconda del trattamento delle cellule tumorali o delle cellule bersaglio. Inoltre il silenziamento di alcuni recettori permetterà di capirne il ruolo primario o secondario per la progressione tumorale. In vivo ci si aspetta che le cellule tumorali attivate da ipossia o da allarmine siano in grado di invadere meglio delle cellule tumorali non trattate. Tale capacità invasiva sarà massima nelle cellule tumorali staminali. Le metastasi formate dalle cellule tumorali potranno essere influenzate tramite creazione di un sito di

necrosi con gradiente citochinico. In questo modo ci si aspetta di poter predire il sito in cui le metastasi si formeranno.

Da quanto sopra detto risulta chiaro che l'inibizione di HIF-1 α ; e NF κ B dovrebbe essere maggiormente efficace nel bloccare o ridurre la formazione di metastasi con conseguente aumento della sopravvivenza.

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

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

Le Sirtuine (SIRT) comprendono 7 membri (SIRT1-SIRT7) che, tramite la loro attività deacetilatica regolano la sopravvivenza cellulare, il differenziamento cellulare, l'invecchiamento e il metabolismo del glucosio e dei lipidi. Poiché la funzione delle Sirtuine è dipendente dai livelli di NAD⁺, ne consegue che la loro attività può essere regolata da agenti esterni come attività fisica, restrizione calorica, composizione della dieta e farmaci. Alcuni studi evidenziano un ruolo tumorigenico per SIRT1. SIRT1 è infatti overespresso in alcuni tumori e il suo ruolo sarebbe quello di deacetilare e quindi di disattivare proteine, come p53, p300 e Foxo, coinvolte nella riparazione del DNA e nella soppressione tumorale. L'ipotesi di lavoro è che nelle cellule tumorali l'attivazione delle Sirtuine in seguito ad attività fisica potrebbe innescare meccanismi in grado di bloccare o rallentare la formazione e/o la progressione del tumore. Anche per SIRT3 è stata dimostrata un'azione pro-e anti-tumorigenica. SIRT3 facilita i processi proapoptotici deacetilando proteine coinvolte nell'apoptosi e aumentando l'espressione di enzimi antiossidanti. Inoltre topi KO per SIRT3 presentano una maggiore instabilità genomica e sviluppano tumori. Allo stesso tempo dati contrastanti derivanti da altri studi indicano che i livelli proteici di SIRT3 sono aumentati nel tumore della mammella caratterizzato da linfonodi positivi. In altri studi è stata osservata una diminuzione dei livelli proteici di SIRT3 nel tumore della mammella. Anche SIRT5, SIRT6 e SIRT7 potrebbero avere un ruolo di prevenzione nell'insorgenza del cancro. Fino ad oggi pochi studi hanno studiato ed evidenziato la probabile connessione tra attività fisica, variazione dell'attività delle Sirtuine e la prevenzione o il rallentamento dell'insorgenza dei tumori.

Scopo di questo progetto è quello di verificare che l'attività fisica e/o la riabilitazione in pazienti oncologici sia in grado di migliorare la prognosi grazie all'attivazione delle Sirtuine. In particolare questo progetto si prefigge di:

- 1) Studiare se l'esercizio fisico è in grado di incrementare l'attività delle Sirtuine e di ridurre la produzione di ROS e RNS nei pazienti oncologici. Inoltre tali variazioni sono correlate all'espressione di markers tumorali specifici e alla progressione tumorale.
- 2) Studiare in vivo e in vitro se l'espressione delle Sirtuine e la loro attività sono importanti per facilitare l'apoptosi nelle cellule tumorali in seguito ad attività fisica e/o trattamento con chemioterapici.
- 3) Studiare i livelli di Sirtuine nelle biopsie tumorali dei pazienti e confrontarle con i dati dei follow-up in presenza e assenza di attività fisica.

Lo studio dell'attività delle Sirtuine e della loro espressione è effettuato su campioni di sangue ottenuti da pazienti oncologici prima e dopo 1 mese almeno di attività fisica moderata. Tali valori sono comparati con quelli ottenuti da pazienti oncologici che non svolgono attività fisica. Ad ogni paziente è prelevato sangue periferico (3-6ml). Dall'anello linfomonocitario sono estratti mRNA per analisi di real time-PCR e proteine per analisi in Western blotting delle varie Sirtuine e dei markers tumorali. Inoltre sono effettuati saggi di attività sirtuinica. I livelli di RNS e ROS sono misurati mediante saggi ELISA o citofluorimetrici con sonde specifiche. Per gli studi in vivo topi nudi in cui sono state iniettate cellule tumorali (MDA-MB231, PC3 e BCPAP) sotto cute e nella vena caudale sono lasciati a riposo o sottoposti ad esercizio fisico (corsa su treadmill ad una velocità costante (10m/min circa) per un periodo di circa 20 minuti per una settimana). Gli animali sono successivamente sacrificati per ottenere sangue e biopsie tumorali da cui estrarre mRNA e proteine per analisi in Real Time-PCR e WB. E' inoltre valutata nei due gruppi la dimensione del tumore primario e il numero delle metastasi in un periodo di tempo di 4-6 settimane. Questi valori numerici sono comparati con l'attività sirtuinica misurata nel sangue e nelle biopsie tumorali.

Le linee cellulari MDA-MB231, PC3, BCPAP, HeLa e SW48 sono transfettate per overesprimere o silenziare le diverse Sirtuine. I cloni ottenuti sono studiati per la loro capacità tumorigenica. Inoltre la resistenza agli stress dei vari cloni è testata trattando le cellule con specifici chemioterapici. La valutazione della capacità metastatica è effettuata misurando l'attività delle metalloproteasi, la capacità di migrazione e invasione. Lo studio di comparazione dell'attività delle Sirtuine con i valori di follow-up è effettuato misurando l'espressione e l'attività delle varie Sirtuine su micro dissezioni di biopsie ottenute con laser capture microdissection.

E' emerso che: a) l'attività fisica incrementa l'attività delle Sirtuine, riducendo la produzione di ROS e RNS; b) nelle colture cellulari l'overespressione/silenziamento delle Sirtuine incrementa/diminuisce la sensibilità ai trattamenti chemioterapici.

Ci si aspetta che anche nei pazienti oncologici l'attività fisica incrementi l'espressione proteica e l'attività delle Sirtuine e che abbassi i valori dei markers tumorali bloccando o rallentando l'invasione e la metastatizzazione e, in conclusione, aumenti il survival. Ci si aspetta inoltre che nelle biopsie e nel sangue le variazioni misurate nell'espressione delle Sirtuine nella loro attività correlino con outcomes positivi.

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

LINEA 4
Le disabilità dello sviluppo
e neuroriabilitazione pediatrica

AREA DI RICERCA DISABILITÀ DELLO SVILUPPO

Studio Elettroencefalografico (EEG) grafico in bambini con dislessia

Recentemente diversi autori hanno evidenziato nei bambini con disturbi specifici di apprendimento (DSA) anomalie EEG di aspetto epilettico, anche in assenza di crisi “manifeste” (Caplan et al. 2008). La verifica di questi elementi appare molto importante per la spiegazione di alcune manifestazioni legate ai DSA e in particolare alla dislessia, se consideriamo l'influenza disorganizzante su diverse funzioni superiori di crisi frequenti e/o prolungate, accompagnate ad alterazioni EEG. Le anomalie funzionali rilevabili con test neuropsicologici vengono descritte come disturbi cognitivi transitori (TCI) e messe in relazione con anomalie dell'attività elettrica. Diversi autori hanno discusso i potenziali vantaggi di una terapia antiepilettica a livello cognitivo, anche in assenza di crisi cliniche (Sirén A, et al. 2007, Dubois CM et al. 2004).

Scopo di questo lavoro è stato di verificare, in pazienti con diagnosi di dislessia, l'eventuale presenza di anomalie epilettiche come anche di caratterizzare pattern eeg-grafici caratteristici della popolazione studiata durante l'attività di lettura, scrittura e calcolo, e di verificare l'eventuale coincidenza tra gli errori che i bambini compiono durante l'attività e la presenza di anomalie nel tracciato.

La registrazione EEG dei bambini con DSA e dei bambini del gruppo di controllo è avvenuta nel corso di condizioni basali (Rest) e durante l'esecuzione di una serie di prove di valutazione del disturbo dislessico (Task).

- Prove per la valutazione della dislessia;
- Prova per la valutazione della scrittura e della competenza ortografica;
- Prova tratta dal protocollo per la valutazione delle abilità in ambito aritmetico di A. Biancardi.

Ciascuna delle tre condizioni è stata costituita da un numero sufficiente di campioni di eeg al fine di consentire l'applicazione degli algoritmi di calcolo e dei successivi tools statistici.

Questi dati sono stati correlati ad una corrispondente modulazione del ritmo alpha come variazione in potenza, coerenza spettrale e synchronization likelihood. Le registrazioni EEG sono state svolte in modalità continua durante tutto l'esperimento.

Sono stati selezionati 40 bambini con dislessia e 15 soggetti di controllo comparati per età e sesso.

Screening assessment:

- Registrazione elettroencefalografica in corso di REST e TASK
- Valutazione neuropsicologica strutturata WAIS, MMSE, MDB, BPRS, HAD,
- Processo di pre-selezione e pre-elaborazione dei dati
- Applicazione di tools statistici
- Rendering dei dati sotto forma di tabelle e di figure.

L'analisi statistica dei dati relativi ai pattern eeg-grafici caratteristici di questo tipo di patologia, mostra una differente strutturazione dell'elettrogenesi a livello delle aree visive occipitali.

La conferma di un'alterazione dell'elettrogenesi cerebrale nei bambini con dislessia e/o la loro caratterizzazione in termini quantitativi ha introdotto la questione del loro trattamento farmacologico.

Mappaggio dei sistemi sensori-motori nel disturbo autistico: uno studio Elettroencefalografico quantitativo.

In tutti i tipi di comunicazione (intenzionali o meno), chi trasmette e chi riceve deve condividere una comune comprensione di ciò che conta e la rappresentazione dei processi di produzione e percezione deve, in qualche punto, essere la stessa (Lieberman 1993). Il neurofisiologo e neuropsicologo italiano Rizzolatti ha osservato che la maggior parte dei neuroni dell'area frontale premotoria F5 e parietale ventrale della scimmia scaricano in correlazione con un'azione, piuttosto che con i singoli movimenti che la compongono. Una particolare sottopopolazione di questi neuroni scarica sia quando la scimmia manipola gli oggetti, ma anche quando la scimmia osserva l'esaminatore che fa lo stesso gesto (da ciò il nome di mirror-neurons, o neuroni specchio; Rizzolatti e Arbib 1998).

Questi neuroni sono estremamente selettivi e scaricano solo quando la scimmia osserva una ben specifica azione e non altre azioni. In alcuni casi la specificità riguarda addirittura il modo in cui viene eseguita l'azione.

Attraverso i mirror-neurons si formerebbe quindi nel cervello una rappresentazione fisica di quelle azioni.

La ricerca effettuata prevede lo studio dell'attività e della connettività corticale correlata all'attività basale in bambini autistici. In altre parole, l'ipotesi alla base della ricerca è che nel disturbo dello spettro autistico la connettività funzionale corticale sia alterata già in condizioni basali. Un disturbo dell'elettrogenesi si

tradurrebbe in un malfunzionamento dei sistemi neurali che costituiscono il substrato biologico della comunicazione e che sarebbe evidente anche in una condizione di riposo (rest).

16 bambini con disturbo dello spettro autistico di età compresa tra i 3 ed i 14 anni sono stati sottoposti a registrazione dell'EEG basale; un gruppo di 10 bambini sani, omogeneo per età e per sesso è stato coinvolto nella ricerca come controllo.

Le registrazioni EEG sono state svolte in modalità continua durante tutto l'esperimento secondo i seguenti parametri di registrazione:

- lobi auricolari interconnessi come riferimento elettrico;
- elettrodo di round posto tra Pz e Oz (va comunque bene qualsiasi posizione per il ground);
- almeno i 19 elettrodi del 10-20 come montaggio elettrodo;
- minimo 256 Hz di campionamento;
- filtri analogici passabanda anti-aliasing 0.1-60 Hz (no notch filtro durante la registrazione dei dati, a meno che non sia svolto solo in visualizzazione delle tracce EEG);
- EOG verticale per l'occhio destro e se possibile, anche EOG orizzontale;
- inizio della registrazione con 15 minuti di EEG a riposo ad occhi aperti e 15 minuti di EEG ad occhi chiusi da quando il tracciato si è stabilizzato.

Lo studio dei risultati forniti dall'analisi statistica dei dati elettrofisiologici e di quelli forniti dalle valutazioni cliniche (ADOS) ha consentito di individuare un pattern elettrogenetico caratteristico di questa giovane popolazione di individui con una differente distribuzione topografica dello spettro delle frequenze principali rispetto alla popolazione dei soggetti di controllo.

La conferma di un'alterazione dell'elettrogenesi cerebrale nei bambini con disturbo dello spettro autistico e la caratterizzazione di tale fenomeno in termini quantitativi ha introdotto la questione di un eventuale trattamento farmacologico come anche ha fornito un utile strumento che consentirà di valutare, da un punto di vista elettrofisiologico, l'efficacia delle terapie proposte.

Studio EEG grafico in bambini con X fragile.

La sindrome dell'X fragile (o sindrome di Martin-Bell o FRAX) è una malattia genetica umana causata dalla mutazione del gene FMR1 sul cromosoma X, mutazione presente in un maschio su 4000 e in una femmina su 6000. Circa 1 su 256 donne sono portatrici di X-Fragile e possono trasmetterlo ai loro figli. Circa 1

su 800 maschi è portatore di X-Fragile; le loro figlie saranno, a loro volta, portatrici del gene. Si contende con la sindrome di Down il primato come causa genetica più comune di ritardo mentale (si hanno comunque casi, anche in Italia, di soggetti affetti da X fragile che hanno frequentato l'università). I maschi portatori di un gene FMR1 con una significativa espansione della tripletta CGG presentano i sintomi della malattia, visto che normalmente possiedono una sola copia del cromosoma X. Le femmine, invece, possiedono due copie del cromosoma X e pertanto hanno una probabilità doppia di possedere almeno un allele funzionante. Le donne portatrici di un gene FMR1 espanso su di uno solo dei due cromosomi X possono presentare alcuni sintomi della malattia o essere normali. A parte il ritardo mentale di grado variabile da severo a moderato, altre evidenti caratteristiche della sindrome sono il volto allungato, grandi orecchie, grossi testicoli (macrorchidismo), e basso tono muscolare. Alcuni individui affetti dalla sindrome dell'X fragile rientrano inoltre nei criteri diagnostici dell'autismo. La mutazione e metilazione del gene FMR1 porta all'abolizione della produzione della proteina per cui il gene FMR1 codifica, detta FMRP (fragile X-mental retardation protein). FMRP è una proteina legante gli RNA (RNA-binding protein) espressa soprattutto nei testicoli e nel cervello, i tessuti più colpiti dalla sindrome. Anche se non esiste ancora una cura per la sindrome, c'è la speranza che una migliore comprensione delle sue cause possa portare a nuove terapie. Al momento, la sindrome può essere trattata attraverso una terapia del comportamento.

La ricerca valuta l'attività e la connettività corticale correlata all'attività basale in bambini e adolescenti con sindrome dell' X fragile.

L'ipotesi alla base della ricerca è che in questa cromosomopatia la connettività funzionale corticale sia alterata già in condizioni basali.

15 bambini e adolescenti con sindrome dell'X fragile di età compresa tra i 6 ed i 18 anni sono stati sottoposti a registrazione dell'EEG basale. Un gruppo di 10 bambini sani, omogeneo per età e per sesso è stato coinvolto nella ricerca come controllo. Le registrazioni EEG sono state svolte in modalità continua durante tutto l'esperimento secondo i seguenti parametri di registrazione:

- lobi auricolari interconnessi come riferimento elettrico;
- elettrodo di round posto tra Pz e Oz (va comunque bene qualsiasi posizione per il ground);
- almeno i 19 elettrodi del 10-20 come montaggio elettrodo;
- minimo 256 Hz di campionamento;
- filtri analogici passabanda anti-aliasing 0.1-60 Hz (no notch filtro durante la

registrazione dei dati, a meno che non sia svolto solo in visualizzazione delle tracce EEG);

- EOG verticale per l'occhio destro em se possibile, anche EOG orizzontale;
- inizio della registrazione con 15 minuti di EEG a riposo ad occhi aperti e 15 minuti di EEG ad occhi chiusi da quando il tracciato si e' stabilizzato.

Lo studio dei risultati forniti dall'analisi statistica dei dati elettrofisiologici e di quelli forniti dalle valutazioni cliniche ha consentito di individuare un pattern elettrogenetico estremamente caratteristico di questa giovane popolazione di individui con una peculiare distribuzione topografica dello spettro delle frequenze principali rispetto alla popolazione dei soggetti di controllo. Un disturbo dell'elettrogenesi si tradurrebbe in un malfunzionamento dei sistemi neurali che costituiscono il substrato biologico delle funzioni cognitive superiori. La conferma di un'alterazione dell'elettrogenesi cerebrale nei bambini con cromosomopatia X fragile e la caratterizzazione di tale fenomeno in termini quantitativi ha fornito un utile strumento che consentirà di valutare, da un punto di vista elettrofisiologico, l'efficacia delle terapie cognitivo-comportamentali proposte come anche l'uso di farmaci.

Lo studio sulla percezione multistabile nelle persone con Sindrome di Down ha cambiato target in corso di acquisizione dei dati divenendo uno studio sul controllo cognitivo del movimento nella Sindrome di Down.

L'inibizione di risposte inappropriate permette di modellare il comportamento motorio in accordo con il contesto in cui un soggetto agisce ed è una funzione esecutiva essenziale. L'inibizione di comportamenti motori è stata scarsamente studiata in individui con Sindrome di Down (DS). Si è provato, utilizzando una countermanding task, il controllo inibitorio in un gruppo di pazienti DS e in un gruppo di pazienti con disturbi dello sviluppo di eziologia non genetica, appaiati per età mentale del movimento. La ricerca è stata svolta in collaborazione con il Dipartimento di Fisiologia e Farmacologia dell' Università la Sapienza di Roma.

16 bambini con disturbo DS di età compresa tra i 8 e 16 anni sono stati sottoposti a registrazione dei tempi di reazione nel corso di una countermanding task; un gruppo di 10 bambini sani, omogeneo per età e per sesso è stato coinvolto nella ricerca come controllo.

Si è riscontrato che la durata del processo di arresto, il tempo di reazione, rispetto uno stimolo di arresto (SSRT), non era statisticamente differente nei due gruppi

studiati. Allo stesso tempo, la funzione inibitoria normalizzata risultava più bassa nei pazienti DS indicando un scarso controllo inibitorio. Sono stati interpretati i risultati ottenuti sulla base delle differenze anatomiche esistenti nel cervello di individui adulti affetti da DS e più specificamente come una possibile alterata interconnessione funzionale tra reti fronto-striatali e fronto-cerebellari durante il controllo.

LINEA 5

Modelli organizzativi e gestionali
delle disabilità in riabilitazione

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Valutazione e misura in riabilitazione: quali outcome utilizzare?

La ricerca riabilitativa nel panorama scientifico attuale necessita di un nuovo e specifico paradigma; infatti la Medicina Riabilitativa deve prevedere un passaggio dall'approccio biofisico a quello bio-psico-sociale. I sistemi di valutazione tradizionali mostrano alcuni limiti specie per quanto attiene la misura dell'outcome. Di fatto le scale che sono utilizzate non sono veri strumenti di precisa misura, ma sistemi di valutazione e categorizzazione di quanto si osserva. Vi è la necessità di costruire delle nuove variabili di outcome e la necessità di misurare realmente il lavoro riabilitativo sia a livello clinico che di ricerca.

La Rasch Analysis ed il Rasch Model possono essere possibili soluzioni alle problematiche della misurazione delle variabili. L'obiettivo è stato quello di iniziare questa trasformazione prendendo in considerazione l'analisi dell'equilibrio, i limiti degli attuali sistemi di valutazione con scale e la costruzione tramite la Rasch di un nuovo strumento che sia veramente in grado di misurare (UBS).

Si è utilizzata la Rasch analisi come strumento di lavoro per analizzare le scale.

Si sono analizzate tre scale molto utilizzate in riabilitazione per valutare l'equilibrio: la Berg Balance Scale, la Tinetti Scale e la Fullerton Advanced Balance Scale. Si sono isolati i limiti in termini matematici. Si è poi ricostruita una sola nuova scala con capacità psicometriche buone e con la caratteristica di essere veramente una misura numerica la Unified Balance Scale (UBS Scale).

La UBS è stata validata ed ha capacità di unidimensionalità valutando un solo ambito delle dimensioni dettate dall'ICF, inoltre ha la caratteristica che ha una progressione precisa degli items dal più semplice al più complesso consentendo così di individuare esattamente la situazione clinica di equilibrio della persona che si sta valutando, inoltre consente di dare punteggi cui corrisponde in maniera precisa il livello di capacità della persona confrontabile in termini matematici precisi con le valutazioni precedenti e delle altre persone valutate con le stesse modalità.

AREA DI RICERCA PARKINSON E DISTURBI DEL MOVIMENTO

Intervento psicologico di gruppo con i pazienti Parkinsoniani e i loro Caregiver

Il decorso clinico e psicologico della malattia di Parkinson e di tutti i disturbi neurodegenerativi, per le persone colpite ma anche per i caregiver e i diversi professionisti coinvolti è molto complicato e per questo richiede un gruppo specializzato di professionisti capace di affrontare le diverse situazioni che si presentano.

Appare dunque indispensabile che le persone malate e i loro caregiver acquisiscano una buona conoscenza delle caratteristiche del disturbo:

- Migliorare la qualità di vita aiutando le persone a ottenere benefici che vanno oltre a quelli provenienti dai farmaci.
- Imparare ad affrontare in modo adeguato e proattivo lo stress, le disabilità e le limitazioni psicologiche e sociali.

Secondo uno studio dell'OMS sul "global burden of disease", il 35% del sovraccarico di tutte le malattie è causato dai disturbi neurologici ad esse associati.

"L'educazione alla salute è un intervento educativo multidimensionale progettato utilizzando una combinazione di metodi come l'insegnamento, il counseling, e alcune tecniche cognitive comportamentali, e mira a migliorare le conoscenze e i comportamenti di salute del paziente." (Delphi Group "Terminologia dell'Educazione del Paziente", 1985).

Il Parkinson è una malattia che coinvolge l'individuo nella sua interezza, dunque non si tratta solo di un disturbo del sistema motorio, ma invade anche l'area psichica (spesso compaiono sintomi quali depressione, ansia, apatia, abulia, turbe del pensiero, allucinazioni, deterioramento cognitivo). Quando arriva, colpisce non solo il malato ma anche le persone che gli stanno accanto, che si prendono cura di lui.

L'ambiente che circonda la persona con la malattia di Parkinson svolge un ruolo essenziale ma spesso difficile da gestire per le persone che ci si trovano, domande come "occorre sistematicamente aiutare e stimolare il paziente o al contrario lasciarlo vivere al ritmo della malattia?" si ripresentano costantemente.

È necessaria una presa in carico multidimensionale, che rispecchi quindi il livello di complessità di fronte al quale ci si trova.

In quest'ottica il lavoro dello psicologo nei confronti dei malati di Parkinson e dei loro caregiver è mirato a supportare i partecipanti nell'affrontare in modo adeguato

e proattivo lo stress, le disabilità e le limitazioni psicologiche e sociali ed ottenere benefici che vanno oltre quelli provenienti dai farmaci.

Lo studio si propone di promuovere un miglioramento della qualità di vita nelle persone con malattia di Parkinson e nei loro caregiver attraverso il sostegno psicologico di gruppo.

Lo studio si articola in 2 momenti:

1. momento psico-teorico: introduzione alla malattia di Parkinson. Questa sessione fornisce le informazioni sui contenuti, sulla struttura degli incontri e sulla malattia di Parkinson, tenendo in considerazione le conoscenze di base dei partecipanti.

2. momento psico-pratico (abilità psicologiche nel gestire la malattia di Parkinson) :

- autosservazione: permette ai partecipanti di acquisire un'abilità fondamentale per proseguire le varie fasi del programma riabilitativo; si cerca di insegnare ai pazienti a prestare attenzione a loro stessi e a riconoscere i vari stati emotivi e fisici presenti in diverse situazioni;
- gestione dello stress: aiuta a capire meglio il fenomeno stress, e a gestirlo nelle varie situazioni;
- gestione dell'ansia e della depressione : spiegarne le cause e proporre delle soluzioni;
- capacità di autoregolazione;
- strategie di fronteggiamento grazie al potenziamento delle risorse possedute per far fronte alle difficoltà dovute alla malattia di Parkinson;
- attivazione e creazione di momenti di condivisione e risoluzione dei problemi.

Sono stati inclusi nello studio 5 Pazienti con diagnosi di Parkinson (1 donna, 4 uomini) e i 5 loro caregiver.

La valutazione cognitiva e psicologica dei partecipanti al gruppo avviene attraverso la somministrazione di test cognitivi e psicologici:

- WAIS-R Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised: Si basa sull'integrazione dei più attuali costrutti sull'intelligenza, configurandosi come il Test più attendibile statisticamente nel panorama testistico italiano per la valutazione dell'intelligenza nell'adulto. la WAIS-R consta di 11 subtest, di cui 6 compongono la Scala Verbale (Informazione, Comprensione, Ragionamento aritmetico, Analogie, Memoria di cifre e Vocabolario) e 5 la Scala di Performance (Associazione simboli a numeri, Completamento di figure, Disegno con i cubi, Riordinamento di storie figurate e Ricostruzione di oggetti); insieme, gli 11 subtest costituiscono la Scala Totale.
- Hamilton: scala di valutazione per la depressione.
- Non motor symptoms scale: scala di valutazione dei sintomi non motori nei pazien-

ti Parkinsoniani

- PDQ39: questionario per valutare la qualità di vita nei pazienti Parkinsoniani
- Caregiver Burden Inventory: strumento di valutazione del carico assistenziale, in grado di analizzarne l'aspetto multidimensionale, elaborato per i caregiver di pazienti affetti da malattie neurodegenerative.

In base all'osservazione dei risultati dei test si verifica un peggioramento in particolare nelle abilità di performance (funzioni esecutive), condizione tipica della malattia di Parkinson.

Nei caregiver non è stata rilevata nessuna sensibile modificazione.

I partecipanti, dal punto di vista dello stato depressivo e della qualità della vita, secondo i test effettuati, mostrano un leggero peggioramento mentre nel resoconto verbale i pazienti riportano un miglioramento sottolineato da una forte coesione di gruppo, e una maggior consapevolezza della malattia.

Durante gli incontri i partecipanti si sono mostrati particolarmente interessati e coinvolti, atteggiamento confermato dalla puntualità e continua presenza al gruppo da ognuno di loro.

Il benessere deriva dal trattamento in atto (la condivisione e la possibilità di esprimersi in un contesto adeguato) che non modifica in modo definitivo il proprio vissuto che deve essere continuamente sostenuto.

Il deterioramento cognitivo non aiuta il sostegno; la complessità della malattia, per i suoi aspetti fisici, cognitivi e psicologici, prevede la continuità del trattamento per poter realmente contribuire a mantenere delle condizioni di vita dignitose.

In conclusione, un sostegno di gruppo acquista valore e senso solo se continuato nel tempo in quanto fonte di supporto, confronto e stimolo vista l'innestabilità della malattia. Non interviene sulla cronicità della stessa ma incide sulla qualità della convivenza con essa, sia per i pazienti che per i caregiver.

AREA DI RICERCA APPROCCI DI SISTEMA E MALATTIE NON TRASMISSIBILI

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

Con il progressivo invecchiamento della popolazione si assiste ad un cambiamento degli obiettivi delle cure mediche in età geriatrica. La valutazione della qualità delle cure e la misurazione di indicatori di sicurezza ed efficacia è sempre più riconosciuta fra gli strumenti prioritari di pianificazione sanitaria e ottimizzazione assistenziale. L'attenzione crescente per questo approccio ha portato alla sperimentazione di vari modelli organizzativi e alla ricerca di strumenti mirati ad ottenere cure adeguate per i pazienti in età geriatrica.

La popolazione anziana è infatti caratterizzata da una specifica eterogeneità dovuta alla multimorbilità (spesso con carattere di cronicità), alla disabilità, alle problematiche socio-assistenziali. Ciò richiede l'utilizzo di strumenti in grado di valutare l'anziano nella sua globalità e complessità, oltre alla personalizzazione dell'intervento al fine di dare una risposta adeguata ai bisogni clinico-assistenziali del singolo individuo.

La valutazione multidimensionale, oltre ad evidenziare i problemi prioritari, clinici e assistenziali, del paziente in età geriatrica, è uno strumento fondamentale nella valutazione della terapia farmacologica con l'obiettivo di far emergere, riconoscere e prevenire potenziali problemi farmaco-correlati, come le reazioni avverse e le interazioni tra farmaci, riducendo i rischi legati all'uso inappropriato dei farmaci e di conseguenza gli eventi negativi.

L'IRCCS San Raffaele Pisana è impegnato in diversi progetti di ricerca che in modo complementare permettono di validare indici di appropriatezza delle cure e di qualità della vita. La validazione di questi indici ne permette l'applicazione nella pratica clinica in diversi setting assistenziali, di tipo territoriale, ospedaliero e residenziale. In particolare, il Gruppo di Epidemiologia Clinica e Molecolare è coinvolto in quattro studi che hanno come obiettivo il miglioramento della qualità di vita e della qualità di cura nei pazienti anziani di età > ai 65 anni. Tale obiettivo si raggiunge attraverso l'implementazione di una strategia basata sull'utilizzo di strumenti di valutazione multidimensionale e attraverso la ricerca e validazione di indicatori di qualità di cura in grado di ridurre gli eventi avversi (rischio di ospedalizzazione, la disabilità e la mortalità).

Si intende:

- creare un sistema di valutazione multidimensionale e di indicatori di qualità di assistenza in grado di ridurre gli eventi avversi (rischio di ospedalizzazione, disabilità e mortalità);
- migliorare la prescrizione farmacologica nei pazienti anziani;
- migliorare la qualità di vita dei pazienti in età geriatrica.

AREA DI RICERCA ORGANIZZAZIONE E GESTIONE DEI SERVIZI

La valutazione dei processi della figura professionale del dirigente medico

Obiettivo del progetto è il miglioramento della gestione della qualità assistenziale, attraverso il monitoraggio delle attività.

I processi di valutazione, secondo criteri ed indicatori valutati e condivisi, misurano capacità clinico-organizzative, nonché gestionali-operative e costituiscono l'unità di misura del Governo Aziendale. Da un lato garantiscono il miglioramento del percorso assistenziale, dall'altro forniscono indicazioni importanti per lo sviluppo professionale dei dirigenti.

La scheda di valutazione sviluppata nel 2010 è stata rivista e attualmente si compone come segue:

SCHEMA DI VALUTAZIONE 2011

Nome e Cognome	
Struttura	
Reparto/Direzione di Appartenenza: NEUROMOTORIA	
Numeri posti letto	

	OBIETTIVO	PERFORMANCE	DELTA
1. Occupazione posti letto	100%	MI/4	MI
2. Appropriately ricoveri	100%	61ffl 13	
3. Dimissione in soglia		27.7ffl4.5	
≤ 60 gg	100%	(1) 6%	
4. Osservanza procedure aziendali		(14) 87%	
4.1 Gestione rifiuti sanitari	100%	(7) 43%	
4.2 Gestione farmaci e Carrello delle emergenze	100%	47.2ffl11	
4.3 Registro carico e scarico Stupefacenti	100%	1.6ffl0.4	
4.4 Verifica cartelle cliniche	100%		
4.5 Prescrizione farmaci Sisweb*	Mese:	Mese:	Mese:
5.1 Liste d'attesa	SI NO		
8. Formazione			
8.1 Proposte pervenute		n.	
8.2 Corsi attivati		n.	
8.3 Crediti ECM ottenuti		n.	

* Indice calcolato in base alla media del numero di variazioni di terapia legate a nuovo ingresso.

Risultati ottenuti:

- Estensione del sistema di valutazione, come da risultati attesi, a nuovi parametri per il monitoraggio delle attività;
- Monitoraggio costante e diffusione delle “buone pratiche”, come strumento virtuoso, soprattutto per il miglioramento dell'indicatore Appropriatelyzza dei ricoveri, in coerenza con le disposizioni legislative regionali;
- Organizzazione di incontri per la condivisione dei dati riconducibili alle varie attività.

Il progetto continuerà anche nel 2012.

Risultati attesi:

- Estensione del monitoraggio a tutte le specialità/reparti e ad altre figure dirigenziali;
- Estensione del sistema di valutazione a nuovi parametri per il monitoraggio delle attività (ad es. Appropriatelyzza prescrittiva);
- Stesura di progetti di ricerca su temi più generali quali Governo Clinico e Qualità;
- Pubblicazioni su riviste nazionali ed internazionali.

Cartella clinica informatizzata

La realizzazione del progetto relativo alla cartella clinica informatizzata si colloca nel quadro più ampio dell'informatizzazione quale strumento di supporto aziendale, allo scopo di migliorare la qualità assistenziale, anche attraverso la ricerca e lo sviluppo di nuove tecnologie.

Tale approccio consente di ottimizzare l'uso delle risorse attraverso la definizione chiara dei processi condivisi, l'attribuzione trasparente delle responsabilità e la gestione automatizzata delle pratiche assistenziali.

L'obiettivo finale è quello di creare una cartella clinica elettronica che consentirà la gestione corrente dell'assistenza e la possibilità di realizzare ricerca collaborativa di alto livello, avendo un numero elevato di reparti che condividono lo stesso strumento.

Materiali e metodi:

Cartella Riabilitativa, strumento elaborato per realizzare l'informatizzazione del prodotto

Risultati ottenuti:

- Attivazione cartella clinica informatizzata presso il reparto Hospice;

- Realizzazione della gestione della cartella clinica medica in collaborazione con gli operatori sanitari;
- Formazione degli operatori sanitari all'uso dello strumento;
- Sperimentazione della cartella clinica informatizzata presso i reparti di Neuromotoria e Cardiologia Riabilitativa.

Il progetto continuerà nel 2012.

Risultati attesi:

- Realizzazione del progetto presso tutti i reparti;
- Verifica dell'efficacia del Piano Riabilitativo;
- Analisi sui dati epidemiologici raccolti;
- Azioni correttive, laddove necessarie, per il miglioramento dello strumento.

L'antibioticoterapia: appropriatezza della prescrizione e della gestione in riabilitazione

La terapia antibiotica rappresenta un importante argomento di discussione in ambito assistenziale sia perché costituisce una voce di spesa significativa all'interno delle strutture sanitarie, sia perché l'utilizzo improprio degli antibiotici rappresenta la causa della selezione dei geni di resistenza nei batteri. Ciò implica che una prescrizione ed una gestione inappropriata si ripercuotano negativamente in primis sulla salute del paziente e secondariamente sul budget aziendale.

In questo ambito il seguente progetto di ricerca ha l'obiettivo di monitorare la prescrizione e gestione dell'antibiotico attraverso la creazione di una scheda di valutazione ad hoc.

Gli obiettivi specifici del presente progetto sono:

1. valutare l'attuale uso dell'antibioticoterapia;
2. migliorare la prescrizione e la gestione dell'antibiotico lì dove emerge essere inappropriata;
3. creare un protocollo comune e condivisibile per tutte le strutture.

La ricerca si articola nelle seguenti fasi:

1. creazione di una scheda di valutazione per le infezioni e l'antibioticoterapia;
2. identificazione, per ogni reparto, di un medico che si occupa di compilare la scheda;
3. compilazione della scheda e raccolta dopo 6 mesi;
4. analisi dei dati raccolti e produzione di raccomandazioni sul corretto uso degli antibiotici.

Nel corso del 2011 le attività svolte sono state:

1. lavorazione delle schede raccolte nel periodo gennaio-marzo 2010 e la creazione di un database informatizzato;
2. inserimento dati;
3. analisi statistiche di primo livello;
4. riunione con il gruppo di lavoro degli infettivologi;
5. analisi statistiche di secondo livello.

L'indagine multicentrica sulle terapie antibiotiche, coordinata dall'IRCCS San Raffaele Pisana è stata svolta in 6 strutture. I pazienti a cui sono stati somministrati antibiotici sono risultati 502. Le diagnosi di accettazione presenti con una frequenza >1.5% sono risultate essere: BPCO (3.2%), BPCO riacutizzata (5.6%), broncopolmonite (2.8%), emorragia cerebrale (2.4%), frattura del femore (5%), ictus cerebrale (3%), ictus ischemico (2.6%), insufficienza respiratoria (2.6%), morbo di Parkinson (1.8%), polmonite (3.6%), scompenso cardiaco (5.6%). I più frequenti microrganismi responsabili di infezioni sono risultati: e.coli (38.8%), klebsiella (14.7%) ed enterococcus (11.6%).

Nel 52.5% dei pazienti è stata effettuata una terapia antibiotica empirica (cioè prima di avere i risultati dell'antibiogramma), in alcuni casi con più di un antibiotico (26.1% due antibiotici, 3.4% tre antibiotici, 0.3% quattro antibiotici). Nel 55.6% dei soggetti è stata effettuata una terapia antibiotica dopo antibiogramma, in alcuni casi con più di un antibiotico (26.6% due antibiotici, 7.8% tre antibiotici, 2.1% quattro antibiotici, 0.3% cinque antibiotici).

Sono state prese in considerazione tre variabili di esito:

- risposta alla terapia antibiotica dopo antibiogramma,
- trasferimento in altra struttura,
- decesso.

In relazione ad esse sono stati individuati dei predittori di esito.

AREA DI RICERCA DI DIAGNOSTICA PER IMMAGINI

Correlazione quantitativa mediante TC multidetettore tra aterosclerosi carotidea e coronarica in pazienti con ictus recente in fase di stabilizzazione

E' noto che la patologia aterosclerotica e' una malattia sistemica e pertanto esiste una stretta correlazione tra i vari distretti arteriosi per quanto concerne la sua incidenza. Per quanto riguarda in particolare i pazienti con aterosclerosi carotidea affetti da ictus, il 25% presenta in anamnesi segni e/o sintomi riconducibili alla presenza di coronaropatia aterosclerotica (White 2005). In generale, gli studi retrospettivi di morbilità/mortalità in pazienti affetti da ictus dimostrano un discreto rischio di infarto miocardico acuto in fase precoce ed una significativa incidenza di morte cardiaca su base ischemica in fase tardiva. Studi autoptici in pazienti deceduti per ictus evidenziano un'incidenza di coronaropatia aterosclerotica pari al 70-75% e di stenosi coronariche/infarto miocardico del 35-40% (Gongora-Rivera 2007).

Sulla base di queste premesse scopo della presente ricerca, è quello di valutare non solo in termini qualitativi, ma anche quantitativi la correlazione aterosclerosi carotidea-coronarica applicando ad entrambi i distretti il cosiddetto "calcium coverage score" (CCS) (Brown 2008). Quest'ultimo, recentemente proposto in ambito coronarico, rappresenta la percentuale di parete vasale sede di aterosclerosi calcifica e si è già dimostrato un fattore predittivo più accurato dello score di Agatston e dalla massa di calcio ateromasico per quanto concerne gli end-points più importanti della coronaropatia ischemica (infarto miocardico e morte improvvisa). L'impiego della TC multidetettore in quest'ambito, peraltro senza necessità di mdc endovenoso, rappresenta la metodica di scelta per la visualizzazione delle placche ateromasiche calcifiche e per la valutazione quantitativa della parete vasale interessata dalla malattia aterosclerotica, rilievi non adeguatamente valutabili in RM sia a livello carotideo che coronarico.

Sono stati reclutati presso l'IRCCS San Raffaele Pisana 10 pazienti affetti da ictus recente in fase di stabilizzazione e 5 soggetti gruppo di controllo.

Tutti i soggetti sono sottoposti ad anamnesi, visita internistica, cardiologica e neurologica.

Gli esami sono effettuati utilizzando l'apparecchiatura TC Somatom Definition (Siemens, Erlangen Germany) installata presso l'Unità di Diagnostica per Immagini con un duplice stack di immagini ad elevata risoluzione (voxel 0.3 mm cubici) senza

somministrazione di mdc e.v. a livello carotideo (comune-interna) e coronarico mediante cardiosincronizzazione. A queste due serie di immagini vengono applicati i software di retroricostruzione 3D con particolare attenzione alla misura della percentuale di parete vasale coinvolta dal processo ateromasico calcifico.

Lo studio è ancora in corso e continuerà anche nel 2012 per consentire di raggiungere un numero più significativo di pazienti. Dai dati relativi ai primi pazienti si evince l'applicabilità del "calcium coverage score" in ambito carotideo e coronarico, l'esistenza di correlazioni tra CCS e severità soggettiva-oggettiva dell'ictus e tra CCS carotideo e CCS coronarico nei singoli pazienti.

Ciò può consentire di individuare l'esistenza di una sottopopolazione di pazienti affetti da ictus con elevato rischio di coronaropatia sintomatica sulla base dei valori combinati di CCS carotideo-coronarico che potranno essere sottoposti ad esame cardio-TC.

RICERCA FINALIZZATA

AREA DI RICERCA CARDIOVASCOLARE

Terapia fisica da sola o combinata a terapie specifiche nel trattamento delle cardiovasculopatie

Negli ultimi anni, studi sperimentali hanno suggerito che la terapia con cellule con potenzialità angiogenetica o mioblastica rappresenti una innovativa opzione terapeutica per patologie croniche quali la cardiopatia ischemica cronica, le arteropatie periferiche e la disfunzione ventricolare su base ischemica. Tuttavia, ad oggi, non vi è una chiara evidenza della efficacia della terapia cellulare sulla prognosi e sulla qualità di vita dei pazienti con scompenso cardiaco e vi sono ancora molti interrogativi da risolvere prima di poter proporre la terapia cellulare per il trattamento delle malattie cardiovascolari. Inoltre, mentre vi è evidenza che i pazienti con patologie cardiovascolari hanno bassi livelli di cellule progenitrici circolanti con potenzialità angiogenetica, numerosi studi che hanno utilizzato livelli elevati di fattori di stimolazione midollare, con l'obiettivo di mobilizzare le cellule progenitrici con potenzialità angiogenetica, hanno evidenziato un aumento di eventi cardiovascolari.

Scopo del presente progetto è quello di valutare se la terapia fisica da sola od in associazione a terapie volte ad aumentare il numero di cellule progenitrici endoteliali circolanti sia in grado di massimizzare il recupero funzionale dei pazienti con disfunzione ventricolare sinistra e/o arteropatia periferica, sottoposti a programmi di riabilitazione fisica.

Sono stati condotti studi ancillari del presente progetto con l'obiettivo di investigare:

- se esistano cellule postnatali totipotenti con capacità di differenziazione mioblastica o angiogenetica;
- se la riduzione dello stress ossidativo permetta un miglior homing cellulare e quindi una migliore ripresa funzionale cardiaca;
- se la immunità acquisita abbia un ruolo di modulazione nel recupero funzionale nella disfunzione ventricolare post-ischemica e nella arteropatia periferica;
- l'effetto della terapia cellulare durante rivascularizzazione miocardica sul recupero funzionale di pazienti sottoposti a cicli di riabilitazione fisica.

Sono stati arruolati 40 pazienti con disfunzione ventricolare sinistra ($FE < 35\%$) su base ischemica e 20 pazienti con arteropatia periferica, con età compresa fra 35 ed 80 anni. Tutti i pazienti hanno ricevuto terapia medica ottimizzata per 4 settimane precedenti l'inclusione nello studio.

I criteri di esclusione:

- patologie con prognosi < 3 anni o neoplasie con necessità di terapia antitumorale
- trapianto e terapia immunosoppressiva in atto;
- diagnosi di demenza secondo i criteri del DSM IV e/o disabilità funzionale che non permettono un'adeguata partecipazione al protocollo;
- patologie internistiche croniche associate ad aumento della diatesi trombotica
- pazienti sottoposti ad interventi di rivascularizzazione miocardica o ad interventi di chirurgia maggiore negli ultimi 3 mesi
- pazienti psichiatrici
- qualsiasi altra condizione patologica che, a giudizio dello sperimentatore, ne giustifichi l'esclusione dallo studio
- pazienti portatori di Pace maker e altre controindicazioni alla risonanza magnetica
- pazienti con scompenso cardiaco severo (classe NYHA III-IV)
- pazienti con valvulopatia mitralica e aortica di grado severo.

Dopo una visita volta a valutare l'esistenza dei criteri di inclusione, ogni paziente è stato inserito nello studio previa firma del consenso informato allo studio precedentemente approvato dal comitato etico di riferimento. Ogni paziente è stato valutato al suo inserimento nello studio durante il trattamento riabilitativo e alla fine dello stesso. I pazienti con disfunzione ventricolare sinistra su base ischemica e quelli con arteriopatia periferica sono stati suddivisi rispettivamente in tre gruppi principali per la valutazione della efficacia della terapia fisica da sola od in associazione a terapia per la mobilizzazione delle cellule progenitrici endoteliali: pazienti sottoposti a terapia riabilitativa e senza trattamento con G-CSF; pazienti sottoposti a terapia riabilitativa e trattamento con G-CSF; pazienti con normale follow-up clinico.

La randomizzazione dei pazienti è stata effettuata con uno schema 1:2:1 per i pazienti con disfunzione ventricolare sinistra, mentre i pazienti con arteriopatia periferica sono stati randomizzati a terapia riabilitativa o a terapia riabilitativa e trattamento con G-CSF.

Metodi di valutazione della capacità funzionale: la capacità funzionale è stata valutata all'inizio e alla fine dello studio tramite un test cardiopolmonare (calcolo del consumo massimo di ossigeno, MVO₂) e test del cammino (6 minute walking test 6MWT) per i pazienti con disfunzione ventricolare sinistra e treadmill test per la autonomia di marcia per i pazienti con arteriopatia periferica:

- mobilizzazione delle cellule progenitrici mediante G-CSF: i pazienti con disfunzione ventricolare sinistra sono stati selezionati per essere sottoposti a due diversi protocolli di mobilizzazione delle cellule:

- a) 1 microg/Kg una volta a settimana per 12 settimane
- b) 2 microg/Kg una volta a settimana per le prime 6 settimane dello studio.

Tuttavia, lo studio relativo alla somministrazione delle G-CSF è stato interrotto in seguito alla pubblicazione di studi scientifici che hanno riscontrato una maggiore incidenza di eventi cardiovascolari in pazienti sottoposti a mobilitazione delle cellule progenitrici endoteliali.

Trattamento riabilitativo: tutti i pazienti con disfunzione ventricolare sinistra sono stati sottoposti a trattamento riabilitativo in regime di ricovero consistente in due sedute giornaliere caratterizzate da esercizi calistenici per circa 30 minuti e riallenamento al ciclo ergometro a carico incrementale per un periodo di 12 settimane. I pazienti con arteropatia periferica sono stati sottoposti a trattamento riabilitativo che comprendeva esercizi al treadmill modulati in funzione della soglia ischemica.

Imaging del cuore del paziente mediante risonanza magnetica: il protocollo, suddiviso in quattro parti (morfologia, funzione, perfusione precoce e perfusione tardiva), è stato eseguito prima del trattamento (al tempo zero) e ripetuto con identici parametri di acquisizione al termine dello studio.

Valutazione del numero di EPC circolanti: dal sangue periferico dei pazienti che rispettavano i criteri di inclusione, sono state identificate le cellule progenitrici endoteliali. I prelievi sono stati effettuati al tempo 0, 2, 6 e 12 settimane per valutare tramite analisi citofluorimetrica eventuali variazioni nel numero di queste cellule nel corso dello studio.

Indicatori per la valutazione:

- a) 6 Minute Walking test: il 6-MWT è stato condotto secondo un protocollo standard tra le 10 del mattino e le 16:00. Si richiede ai pazienti di camminare in un corridoio lungo almeno 15 metri privo di ostacoli, incoraggiandoli a camminare più a lungo possibile ruotando di 180° alla fine del corridoio. Al termine del test, viene calcolata la distanza percorsa. Prima dell'inizio del test, al termine e dopo 3 minuti vengono misurate la frequenza cardiaca e la saturazione O₂ tramite pulsiossimetria. La fatica e la dispnea sono misurate tramite la scala di Borg.
- b) Test cardiopolmonare: questo test viene effettuato tramite un cicloergometro. Dopo una fase di riscaldamento di circa 1 minuto, il carico di lavoro viene incrementato di 20W ogni 2 minuti. Un monitoraggio elettrocardiografico continuo viene effettuato con ECG a 12 derivazioni ed ogni 2 minuti viene misurata la pressione arteriosa. Il consumo di ossigeno calcolato tramite il valore medio degli ultimi 20 secondi di esercizio viene espresso in mL · kg⁻¹ · min.
- c) Terapia riabilitativa: tutti i pazienti sono sottoposti a trattamento riabilitativo in regi-

me di ricovero che consiste in due sedute giornaliere caratterizzate da esercizi calistecnici per circa 30 minuti e riallenamento al ciclo-ergometro a carico incrementale per un periodo di 4 settimane per un totale di 11 sedute settimanali ognuna di 50 minuti circa. Durante la prima settimana di allenamento il carico di lavoro è modulato sulla base del raggiungimento del 70% della Fc massima teorica aumentando progressivamente il tempo di allenamento. La seconda settimana è dedicata all'incremento progressivo dell'intensità del lavoro fino all'80% della Fc massima basato sull'aumento del wattaggio dal momento che la durata dell'esercizio viene mantenuta costante.

d) Risonanza magnetica cardiaca: Questo protocollo, suddiviso in quattro parti, è eseguito in fase iniziale pre-trattamento e ripetuto con identici parametri di acquisizione in fase post-trattamento.

Morfologia: acquisizioni TSE-HASTE di tipo "black blood" secondo piani di scansione asse lungo ed asse corto non contigui T1-T2 pesate per lo studio dell'intensità di segnale del miocardio ventricolare sinistro, eventualmente integrate da acquisizioni TSE STIR pesate per lo studio dell'edema tissutale.

Funzione: acquisizioni balanced FFE (fast field echo) di tipo "bright blood" secondo piani di scansione asse lungo ed asse corto contigui per lo studio quantitativo della cinesi parietale globale e segmentaria del ventricolo sinistro e per la valutazione dei classici parametri di funzione ventricolare (volumi, FE, spessori, massa ecc), eventualmente integrate da acquisizioni GRE-tagged.

Perfusione precoce: acquisizioni Turbo-FLASH secondo piani di scansione asse corto non contigui (minimo 4 piani) di tipo first pass previa iniezione di mezzo di contrasto paramagnetico in bolo e.v. (0.1 mmol/kg) per lo studio qualitativo dell'ostruzione microvascolare.

Perfusione tardiva: acquisizioni GRE multishot inversion-recovery-prepared T1 pesate secondo piani di scansione asse corto contigui dopo circa 10-15 minuti dalla somministrazione e.v. del mdc paramagnetico per lo studio qualitativo-quantitativo della vitalità miocardica.

e) Cellule progenitrici endoteliali: Ai pazienti sono prelevati 9 ml di sangue periferico. Dopo lisi dei globuli rossi (mediante tampone contenente NH₄Cl), le cellule sono incubate con il substrato Aldefluor. Questo reagente è un substrato non tossico per l'enzima aldeide deidrogenasi che è ottimizzato per l'identificazione di cellule progenitrici che esprimono alti livelli di attività aldeide deidrogenasica. Dopo incubazione, le cellule sono successivamente marcate con anticorpi anti-CD34 e anti-CD133, marker rispettivamente delle cellule staminali in generale e di cellule progenitrici endoteliali. Al termine, il numero di EPC è valutato mediante analisi citofluorimetrica al FACScalibur.

Studio sull'effetto della terapia fisica sulla produzione di cellule progenitrici endoteliali:

È stato raggiunto l'obiettivo primario di studiare l'effetto della terapia fisica sulla capacità funzionale e sulla produzione di cellule progenitrici endoteliali circolanti.

Studio sulla valutazione delle proprietà di cellule postnatali totipotenti:

È stato raggiunto l'obiettivo secondario di studiare se alcuni sistemi di segnale intracellulare testicolare possano essere utilizzati nel testicolo come marker specifico per identificare e separare le cellule staminali germinali pluripotenti dalle cellule staminali germinali commissionate. Lo studio ha dimostrato che la PDGFR-beta è in grado di indirizzare la sopravvivenza e migrazione dei gonociti. Attualmente si sta verificando la capacità delle cellule pluripotenti di mantenere tale pluripotenzialità e saranno approntati esperimenti con lo scopo di indurre le cellule pluripotenti alla differenziazione in linee cellulari somatiche e in particolare di tipo cardiovascolare.

Studio su immunità acquisita e modulazione del recupero funzionale

La cardiopatia dilatativa post-ischemica e l'arteriopatia ostruttiva periferica sono strettamente correlate con l'invecchiamento e l'ipercolesterolemia, due fattori associati ad alterazioni della funzionalità del sistema immunitario. È stato recentemente utilizzato un modello murino di ischemia periferica (hindlimb ischemia) per descrivere il ruolo essenziale di cellule dell'immunità acquisita nello sviluppo del circolo collaterale, un importante meccanismo di compenso implicato nel recupero funzionale post-ischemico. In topi CD4 deficienti così come in quelli CD8 deficienti, la risposta infiammatoria e lo sviluppo del circolo collaterale sono compromessi.

La capacità di recupero del flusso sanguigno e della funzione dell'arto sono normalizzate, in topi CD4^{-/-} o CD8^{-/-}, dopo ricostituzione con i rispettivi subset cellulari deficienti. Tuttavia, non è noto quale sia il contributo di sottopopolazioni funzionali di cellule T CD4⁺ quali ad esempio cellule T effettrici helper 1, helper 2 o linfociti T regolatori CD4⁺CD25⁺foxp3⁺ (Treg).

L'obiettivo principale del progetto è quello di acquisire informazioni sull'azione esercitata dai linfociti T reg sullo sviluppo di vascolatura collaterale utilizzando il modello animale di legatura chirurgica dell'arteria femorale nel topo.

Pertanto lo studio è incentrato sul perseguimento dei seguenti obiettivi specifici:

- determinare il contributo positivo o negativo sulla risposta collaterale delle cellule T reg
- valutare l'effetto del trasferimento adottivo di cellule T reg o la loro deplezione come sullo sviluppo del circolo collaterale ed il conseguente recupero funzionale d'organo.

La medicina di genere come obiettivo strategico per la sanità pubblica: l'appropriatezza della cura per la tutela della salute della donna: San Raffaele Pisana Unità Operativa nel progetto dal titolo: Malattie metaboliche e salute della donna: studi patogenetici terapeutici innovativi

La disfunzione endoteliale è un primo passaggio nello sviluppo dell'aterosclerosi ed è associata con la progressione dell'aterosclerosi e con eventi cardiovascolari in uomini e donne. Anche se l'invecchiamento si associa in modo indipendente con un progressivo declino della vasodilatazione endotelio-dipendente in entrambi i sessi, la disfunzione endoteliale legata all'età è attenuata nelle donne in pre-menopausa, rispetto agli uomini di pari età. Tuttavia, non si osserva alcuna differenza nella funzione endoteliale tra i sessi dopo la quinta decade, il che suggerisce un effetto protettivo degli ormoni ovarici endogeni sulla funzione endoteliale nelle donne.

Diversi studi hanno dimostrato che la terapia sostitutiva estrogenica (ERT) o estroprogestinica (HRT) ripristina, almeno in parte, la compromissione della funzione endoteliale relativa alla cessazione delle mestruazioni. A dispetto di un vasta mole di evidenze che suggeriscono un effetto favorevole degli estrogeni da soli o in combinazione con progestinici sui marker surrogati di malattie cardiovascolari e sugli eventi cardiovascolari, recenti studi clinici randomizzati controllati (RCT) non hanno dimostrato una riduzione significativa degli eventi cardiovascolari con ERT e HRT in donne prevalentemente in tarda postmenopausa (PMW). È stato suggerito che tale discrepanza tra studi osservazionali e RCT possa dipendere dal tempo in cui si inizia la ERT o HRT e dai diversi effetti cardiovascolari degli ormoni ovarici nelle donne giovani ed anziane. Studi recenti hanno suggerito che l'effetto vascolare di ERT e HRT sia età-dipendente, tuttavia, non si sa se l'effetto vascolare degli estrogeni (E) sia legato puramente all'età o piuttosto alla durata della carenza degli E, e se la precedente esposizione alla ERT possa influenzare l'effetto vasodilatatore degli E nelle donne.

Lo scopo del presente studio è valutare l'effetto del tempo dalla menopausa e del precedente uso di ormoni sugli effetti acuti e cronici di E sulla funzione endoteliale in PMW.

La popolazione dello studio comprende 162 PMW, consecutivamente incluse, di età compresa tra i 46 e i 72 anni, afferenti alla clinica locale per la menopausa per una valutazione cardiovascolare di routine prima dell'inizio della ERT o HRT, in un periodo di diciotto mesi. È stata raccolta un'anamnesi medica completa e sono stati eseguiti esami fisici al fine di valutare il grado di rischio cardiovascolare. Ad ogni donna è chiesto di fornire informazioni dettagliate sul precedente utilizzo della terapia ormonale sostitutiva ovarica. Tutte le donne sono sottoposte a una completa valutazione cardia-

ca, comprendente un ecocardiogramma e un test da sforzo, se necessario.

Le pazienti sono incluse se in amenorrea da almeno 6 mesi e con livelli di ormone follicolo-stimolante (FSH) >40 mIU/mL e livelli di estradiolo-17 β <30 pg/ml. Solo le donne senza controindicazioni per la ERT o HRT, nessuna evidenza o sospetto di cancro e senza una storia di tromboembolismo venoso sono incluse nello studio. Prima della partecipazione, tutte le donne hanno dato consenso informato scritto per lo studio, precedentemente approvato dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele di Roma. Le donne con cardiopatia ischemica, malattia valvolare primaria, o malattie del miocardio sono escluse. Le donne vengono inoltre escluse se precedentemente in terapia con ERT o HRT o con modulatori selettivi del recettore degli estrogeni (SERM) che interrotto negli ultimi 6 mesi, o se hanno avuto una ovariectomia negli ultimi 3 mesi.

Dopo una valutazione basale di tutti i criteri di inclusione ed esclusione, le donne sono sottoposte allo studio della funzione endoteliale mediante dilatazione mediata dal flusso ("flow mediated dilation", FMD) dell'arteria brachiale e prelievo di sangue. La valutazione della funzione endoteliale è ripetuta entro 1 ora (> 40 <60 minuti) dopo la somministrazione acuta di estradiolo (1 mg s.l.) e dopo 3 mesi di ERT per via orale (estradiolo valerato 1 mg/die). Il prelievo di sangue è effettuato attraverso una linea venosa posizionata nel braccio controlaterale a quello in cui viene studiata la funzione endoteliale. La linea venosa è posizionata 15 minuti prima dello studio della funzione endoteliale ed è tenuta aperta da infusione continua di soluzione fisiologica fino alla fine dello studio. Il prelievo di sangue è eseguito al basale e alla fine di ogni studio della funzione endoteliale. I livelli plasmatici di E2 sono valutati con un Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) (MEIA) sul sistema AxSYM (Abbott Laboratories).

La funzione endoteliale è valutata con ultrasuoni ad alta risoluzione misurando i cambiamenti rispetto al basale del calibro dell'arteria brachiale durante iperemia reattiva. Gli studi sulla funzione endoteliale sono condotti secondo il protocollo descritto precedentemente. In breve, tutte le pazienti sono state studiate a digiuno in un ambiente tranquillo a temperatura controllata (22° -23° C). Gli studi della funzione endoteliale al basale e di follow-up sono condotti alla stessa ora del giorno + 1 ora per ogni paziente. Alle partecipanti è chiesto di evitare di bere bevande contenenti caffeina e di astenersi dal fumo per 12 ore precedenti lo studio. A seguito di un iniziale periodo di 15 minuti di riposo in cui le pazienti vengono collocate in posizione supina, le immagini dell'arteria brachiale del braccio dominante sono acquisite con una macchina ad ultrasuoni ad alta risoluzione Sonos 2500 (Hewlett Packard Sonos 2005) dotata di un trasduttore linear-array a 7,5-12,5 MHz. L'arteria viene scansionata su una sezione longitudinale di 3-5 cm sopra il gomito. Il diametro dell'arteria brachiale destra viene misurato a riposo, durante iperemia reattiva, dopo un periodo di 10 minuti di riposo, e 5 minuti dopo

la somministrazione di nitroglicerina sublinguale. Un laccio emostatico pneumatico viene posizionato intorno all'avambraccio prossimale dell'arteria bersaglio e viene gonfiato fino ad una pressione di 50 mmHg sopra la pressione sistolica dei pazienti, per 5 minuti. L'iperemia reattiva viene indotta dalla deflazione improvvisa del laccio. Per valutare la vasodilatazione endotelio-indipendente, viene somministrata nitroglicerina sublinguale (0,4 mg) e viene registrata una quarta scansione per 5 minuti.

Analisi dell'immagine: gli studi della funzione endoteliale sono eseguiti in ogni paziente dallo stesso ricercatore, che non è a conoscenza dei dati dello studio. L'analisi delle immagini è effettuata utilizzando un programma validato. Il diametro dell'arteria brachiale è misurato dall'interfaccia anteriore alla posteriore. Il diametro medio dell'arteria è calcolato dai 4 cicli cardiaci sincronizzati con il picco dell'onda R dell'elettrocardiogramma. Tutte le misurazioni sono effettuate a fine diastole. Il cambiamento di diametro è espresso come la variazione percentuale rispetto al diametro basale. La variabilità intra-osservatore nelle misure di diametro è di 0,38% - 0,26% (range: 0,1% -1,2%), che porta a un coefficiente di variazione del 1,26% e un coefficiente di ripetibilità dello 0,5% (21).

Dal gruppo di 162 donne consecutivamente afferenti al centro, 134 donne, di età compresa dai 46 ai 72 anni (età media 62 ± 6 anni), che soddisfano i criteri dello studio, sono state selezionate e inserite nella fase di screening dello studio. Ventotto donne non sono state incluse nello studio in quanto non disposte ad assumere ERT (15 pazienti) o per via di controindicazioni alla ERT (8 pazienti) o perché non soddisfano i criteri di inclusione (5 pazienti). Un totale di 6 donne non hanno completato lo studio. Delle 6 donne che non hanno completato lo studio, 1 è stata persa al follow-up a causa di un trasferimento in un'altra città, 4 perché erano state così consigliate dal medico di base e 1 a causa di tensione mammaria. I livelli basali di ormone follicolo stimolante erano di $68,2 \pm 11,2$ IU/L e i livelli plasmatici di 17β estradiol erano <30 pg/ml in tutte le donne. Diciotto pazienti soffrivano di ipertensione arteriosa e 26 pazienti erano ipercolesterolemiche; tutte le donne ipertese e ipercolesterolemiche sono state trattate al fine di raggiungere gli obiettivi terapeutici (pressione sistolica <140 mmHg, pressione diastolica <90 mmHg, colesterolo totale <200 mg/dl, colesterolo LDL <130 mg/dl, trigliceridi <150 mg/dl). Nove pazienti avevano diabete mellito di tipo 2, trattato con sola dieta o in associazione con antidiabetici orali, e tutte avevano livelli di HbA_{1c} $<7\%$. Tutte le pazienti assumevano farmaci in grado di influenzare la funzione endoteliale, da sei mesi o più prima dell'inizio dello studio, e non è stato effettuato alcun cambiamento significativo rispetto alla dose o al tipo di farmaco cardioattivo durante il periodo di studio. Nessuna paziente assumeva integratori a base di soia o erbe. Tra le 134 PMW incluse nello studio, 35 non avevano mai assunto ERT o HRT ("naïve alla terapia con estrogeni

esogeni”), mentre 18 avevano assunto ERT o HRT per meno di 3 mesi in passato e avevano interrotto la terapia da più di 24 mesi, e sono state classificate come “non users”, 81 pazienti avevano assunto ERT o HRT per almeno 6 mesi prima della loro inclusione nello studio (“past hormone users”). Coloro che avevano utilizzato gli ormoni in passato erano più anziane e avevano un tempo più lungo dalla menopausa (tabella 1).

La FMD basale totale era del $5,6 \pm 1,5\%$, con riduzione della FMD nelle donne di età > 60 anni rispetto a coloro di età compresa tra 50 e 59 anni ($4,9 \pm 1,3\%$ vs $6,6 \pm 0,9\%$, $p < 0,05$). La FMD è risultata inversamente associata al tempo dalla menopausa ($r = -0,67$, $p < 0,001$) e all'età ($r = -0,43$, $p < 0,05$) nelle “non-hormone users”, mentre non è stata trovata alcuna correlazione nelle “past hormone users”. Non è stata trovata alcuna correlazione significativa tra la FMD e il tempo dalla menopausa o l'età quando le “non-hormone users” venivano combinate alle “past hormone users”.

Sia la somministrazione sublinguale ed orale cronica di E hanno aumentato i livelli plasmatici di estradiolo in tutte le donne. I livelli plasmatici di estradiolo sono aumentati da $23,42 \pm 9,41$ pg/ml a $624,82 \pm 148,65$ pg/ml dopo la somministrazione acuta di estradiolo, e a $107,4 \pm 44,86$ pg/ml dopo la somministrazione cronica di estradiolo. L'analisi del diametro dell'arteria brachiale al basale prima dell'iperemia reattiva non ha evidenziato effetti significativi del trattamento sul diametro del vaso a riposo (Tabella 2). La FMD aumentava in seguito alla somministrazione di E sia acuta che cronica in tutte le donne (Tabella 2). Rispetto al basale, la somministrazione acuta con E migliorava la FMD del 64% mentre la terapia cronica con E migliorava la FMD del 72%. Non è stata rilevata alcuna differenza significativa nel grado di miglioramento della FMD dopo terapia acuta e cronica con E tra non-users e past-users. Tra le donne naïve agli estrogeni esogeni, la somministrazione di E migliorava la FMD in misura maggiore in coloro entro 5 anni dalla menopausa rispetto a coloro con più di 5 anni dalla menopausa (Figura 1). Tra le donne con più di 5 anni dalla menopausa, la terapia acuta e cronica con E aumentava la FMD maggiormente in coloro che avevano ricevuto ormoni in passato rispetto alle donne naïve agli estrogeni esogeni (Figura 2).

La vasodilatazione endotelio-indipendente dopo nitroglicerina sublinguale non risultava influenzata dalla somministrazione acuta o cronica di E.

E' stata trovata una correlazione inversa tra il miglioramento nella FMD dopo somministrazione sia acuta che cronica di E ed il tempo dalla menopausa nelle donne naïve agli estrogeni esogeni ($r = 0,56$ e $0,61$ rispettivamente, $p < 0,05$) ma non nelle past hormone users. Quando le past hormone users venivano raggruppate con le naïve agli estrogeni esogeni la correlazione scompariva ($r = 0,23$, $p = 0,52$).

Nelle donne naïve agli estrogeni esogeni, l'analisi univariata ha mostrato che sia il tempo dalla menopausa che l'età erano predittori di disfunzione endoteliale e del suo

miglioramento dopo la terapia con estrogeni. Nell'analisi multivariata solo il tempo dalla menopausa risultava una variabile indipendentemente associata sia alla compromissione della funzione endoteliale che al suo miglioramento con gli estrogeni.

In tutte le donne, l'analisi univariata ha mostrato che il tempo dalla menopausa ($p < 0,0002$), l'età ($p < 0,001$), i livelli basali di estradiolo ($p < 0,001$), il fumo di sigaretta ($p < 0,002$), l'uso passato di contraccettivi orali ($p < 0,002$) e l'indice di massa corporea ($p < 0,002$) erano variabili associate con ridotto miglioramento indotto dagli estrogeni della funzione endoteliale. Nelle donne naïve agli estrogeni esogeni, l'analisi univariata ha mostrato che sia il tempo dalla menopausa ($p < 0,0005$) che l'età ($p < 0,002$) erano predittori di miglioramento della funzione endoteliale dopo la terapia con estrogeni. Nell'analisi multivariata, il tempo dalla menopausa era l'unica variabile associata in modo indipendente con la compromissione della funzione endoteliale e il suo miglioramento con gli estrogeni in tutte le donne [2,8 (3,6-1,4), $p = 0,003$] e nelle donne naïve agli estrogeni [3,5 (5,1-1,7) $p < 0,0001$].

Dall'analisi multivariata, il tempo dalla menopausa è risultato essere un importante predittore significativo di miglioramento della funzione endoteliale dopo la terapia estrogenica, sia in tutte le donne che nelle donne naïve agli estrogeni esogeni [2,8 (3,6-1,4), $p = 0,003$ e 3,5 (5,1-1,7) $p < 0,0001$, rispettivamente]. Il tempo dalla menopausa e il miglioramento della funzione endoteliale erano inversamente correlati. I dati ottenuti con il presente progetto suggeriscono, dunque, che con l'aumento del tempo dalla menopausa la funzione endoteliale si riduce.

TABELLA 1
Caratteristiche cliniche al basale dei soggetti in studio (n=134)

	Tutte le donne (n=134)	Donne naïve agli estrogeni esogeni (n=53)	Donne che avevano ricevuto gli estrogeni in passato ("Past users") (n=81)
Età (anni)	62 ± 6	56.5 ± 4.5	66 ± 3*
Tempo dalla menopausa (anni)	13.8 ± 2.5	5 ± 2	16 ± 4*
Indice di massa corporea (kg/m ²)	26.2 ± 1.7	25.6 ± 1.4	27.1 ± 2.2
Fumo di sigaretta	12	7	5
Iperensione	18	10	8
Ipercolesterolemia	26	11	15
Diabete	9	4	5

Le donne naïve agli estrogeni esogeni erano più anziane e avevano un tempo più lungo dalla menopausa. * = $P < 0,05$.

TABELLA 2

Effetto della somministrazione acuta e cronica di 17 β estradiolo sulla funzione endoteliale nelle PMW

Diametro dell'arteria brachiale	Basale	Dopo somministrazione acuta	Dopo somministrazione cronica
Basal-1, mm	4.11 \pm 0.33	4.11 \pm 0.29	4.12 \pm 0.29
Iperemia, mm	4.34 \pm 0.63	4.49 \pm 0.62 [†]	4.51 \pm 0.78 [†]
FMD, %	5.6 \pm 1.5	9.3 \pm 0.6 [†]	9.6 \pm 1.3 [†]
Basal-2, mm	4.11 \pm 0.38	4.11 \pm 0.69	4.12 \pm 0.72
Nitroglicerina, mm	4.83 \pm 0.62	4.82 \pm 0.59	4.83 \pm 0.56
Estradiolo 17 b (pg/ml)	23.42 \pm 9.41	624.82 \pm 148.65	107.4 \pm 44.86

FMD = "flow mediated dilation", dilatazione mediata dal flusso. I dati sono espressi come media \pm 1 DS. [†] = $p < 0,01$

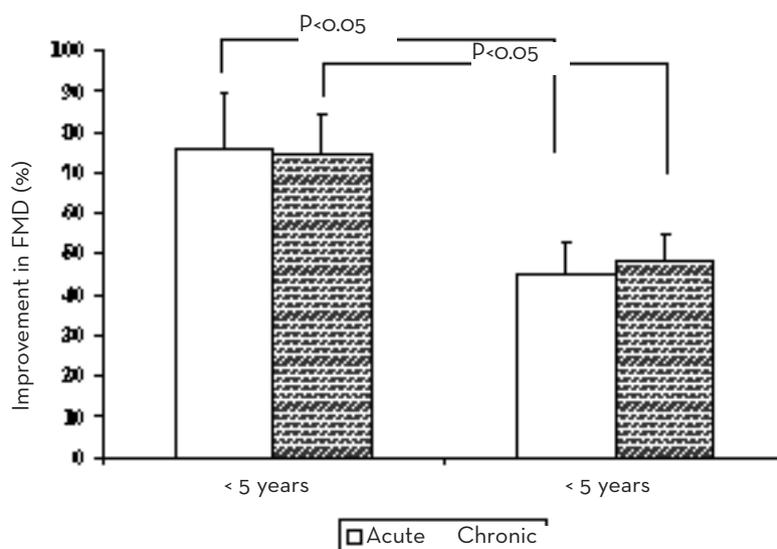
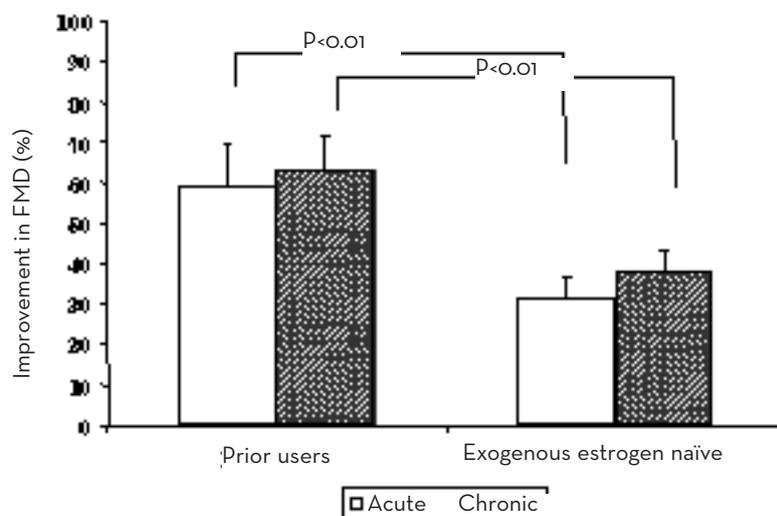


FIGURA 1

Miglioramento nella FMD dopo la somministrazione acuta e cronica di estradiolo nelle donne naïve agli estrogeni esogeni

La FMD migliorava di più nelle donne con <5 anni dalla menopausa rispetto alle donne con > 5 anni dalla menopausa.

**FIGURA 2**

Miglioramento nella FMD dopo la somministrazione acuta e cronica di estradiolo nelle donne con > 5 anni dalla menopausa

La FMD migliorava di più in coloro che avevano ricevuto gli estrogeni in passato rispetto alle donne naïve agli estrogeni esogeni.

Bando Giovani Ricercatori - Ricerca Finalizzata - Ministero della Salute

The Role of Vascular Smooth Muscle Cell Mineralocorticoid Receptors in Vascular Function and Disease - Anno 2008

E' stato studiato il ruolo del recettore mineralcorticoide (MR) nelle cellule muscolari nella regolazione della pressione arteriosa e nel danno vascolare. Sono utilizzati, a tal fine, approcci molecolari per lo studio dei meccanismi di regolazione genica da parte dei recettori mineralcorticoidi nelle cellule vascolari ed impiegati modelli animali per studiare il ruolo dei recettori mineralcorticoidi nella disfunzione vascolare e nelle prime fasi dell'aterosclerosi. Nel modello di danno vascolare, il trattamento con aldosterone (ligando principale di MR) determina un aumento dell'ispessimento vascolare e della proliferazione delle cellule muscolari lisce, mentre gli antagonisti di MR riducono tali effetti. Ciò dimostra il ruolo di MR nel promuovere il danno vascolare. Peraltro è stato recentemente sviluppato un modello murino knock out per MR limitatamente

alle cellule vascolari lisce. Tale modello è risultato protetto dagli effetti negativi dell'aldosterone sull'ispessimento vascolare, rispetto ai topi di controllo, dopo danno indotto da catetere metallico a livello dell'arteria carotide. Peraltro, all'età di tre mesi, tali topi mostrano livelli pressori significativamente più bassi rispetto ai topi di controllo, aprendo nuove interessanti prospettive terapeutiche per il trattamento dell'ipertensione arteriosa.

The role of endothelial mineralocorticoid receptors in vascular inflammation and atherosclerosis - Anno 2009

Il progetto è stato avviato nel mese di Dicembre 2011.

A new cardiopulmonary by-pass system that minimizes haemodilution, haemolysis and systemic inflammation. effects on organ damage and surgical outcome - Anno 2009

Lo scopo del presente progetto di ricerca è triplice:

1. confermare i risultati del precedente studio in uno studio multicentrico condotto su un numero maggiore di pazienti sottoposti a un ampio spettro di operazioni cardiache a cuore aperto,
2. valutare gli effetti dell'uso di EVADO sulla morbilità e la mortalità chirurgica, così come su una serie di indicatori di efficienza costi-efficacia,
3. condurre indagini di laboratorio volte a discernere i principali meccanismi biologici potenzialmente responsabili degli effetti benefici del sistema:
 - valutazione degli effetti sul processo di coagulazione
 - valutazione degli effetti sull'attivazione infiammatoria

Il Progetto è stato avviato nel mese di Dicembre 2011.

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Ricerca Finalizzata 2008

Valutazione e trattamento finalizzato al reinserimento lavorativo del disabile neurologico in età lavorativa in fase post-acuta

Il presente studio osservazionale ha lo scopo di individuare quali sono i fattori ricorrenti in fase post-acuta che impediscono il ritorno al lavoro, attraverso la valutazione di pazienti che non riprendono a lavorare nei sei mesi successivi la dimissione.

Obiettivo finale è quello di individuare un programma riabilitativo mirato al reinserimento lavorativo e sociale con particolare attenzione all'attività in Terapia Occupazionale, tale da consentire la realizzazione di un percorso di riqualificazione professionale che faciliti la ripresa del lavoro anche in presenza di importanti limitazioni funzionali.

Sono stati raggiunti due obiettivi primari:

- Definizione di appropriati sistemi di valutazione delle limitazioni delle attività e di verifica dell'outcome, con particolare riferimento alle problematiche del ritorno al lavoro.
- Definizione delle modalità per raggiungere l'ottimizzazione delle capacità residue delle persone afferenti alla Riabilitazione Neuromotoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana mirata anche al possibile reinserimento lavorativo.

È in fase di completamento il terzo obiettivo primario:

- La verifica nel follow-up delle persone reclutate all'ingresso con attività ancora lavorativa presente al fine di ottenere il dato di quante persone riprendono il lavoro e individuarne le cause che ne impediscono la ripresa.

Nel corso del 2011 sono stati inclusi nel progetto 51 pazienti con i seguenti criteri di inclusione:

- Menomazione e disabilità causata da cerebrolesione dipendente da ictus cerebrale, malformazione vascolare operata e non o forme espansive cerebrali di natura benigna;
- età compresa tra 18 e 65 anni;
- svolgimento di un'attività lavorativa nel periodo dell'evento lesivo.

Bando Giovani Ricercatori - Ricerca Finalizzata - Ministero della Salute***La riabilitazione con una stimolazione audio-video a 10 Hz modula i ritmi cerebrali e migliora le prestazioni cognitive e motorie in pazienti neurologici? Verso una applicazione clinica basata sull'utilizzo di Internet a casa da parte dei pazienti***

Il progetto ha durata triennale e coinvolge tre unità operative:

- IRCCS San Raffaele Pisana
- Università di Foggia
- Associazione Fatebenefratelli per la Ricerca di Roma.

L'obiettivo del progetto è quello di verificare se una riabilitazione a "10 Hz" (stimolazione audio-video a 10 Hz) sia in grado di modulare i ritmi elettroencefalografici (EEG) alfa (8-12 Hz) e migliorare le prestazioni cognitive e motorie in soggetti con malattia di Alzheimer (AD), con decadimento cognitivo lieve (MCI) e con deficit motori. Vengono reclutati 30 soggetti MCI, 30 pazienti AD, 30 pazienti con stroke e 30 soggetti anziani sani come gruppo di controllo. Ciascun gruppo è suddiviso in due omogenei sottogruppi ("10 Hz", placebo). I dati EEG vengono registrati durante l'esecuzione di un compito cognitivo-motorio (paradigma di Posner) prima e dopo la riabilitazione a "10 Hz" o il placebo. Il segnale EEG (0.3-70 Hz, frequenza campionamento 256 Hz) è raccolto da 19 elettrodi posizionati sullo scalpo secondo il Sistema Internazionale 10-20. Il movimento degli occhi viene registrato con l'elettroculogramma (EOG). Per un mese i soggetti verranno sottoposti giornalmente (20 minuti) alla riabilitazione a "10 Hz" (stimolazione audio-video a 10 Hz) o al placebo (stimolazione audio-video a 15 Hz). La stimolazione audio-video a 10 Hz consiste nel cambiamento di luminanza del monitor del computer (da nero a bianco) sincronizzato con un impulso sonoro a 2000 Hz della durata di 67 ms. Un software, realizzato presso l'IRCCS San Raffaele Pisana permette l'individuazione delle epoche EEG con artefatti oculari, muscolari, e di altro tipo. L'analisi spettrale con FFT (tecnica di Welch, finestra di Hanning) permette il calcolo dello spettro di densità di potenza dei ritmi EEG con risoluzione di 0.5 Hz. Vengono prese in esame due sottobande alfa: alfa basso (circa 8-10 Hz) e alfa alto (circa 10-12 Hz). La tecnica chiamata LORETA viene utilizzata per l'analisi delle sorgenti corticali EEG alfa. L'ANOVA (analisi della varianza) permette di valutare se la stimolazione audio-video a 10 Hz è in grado di modulare i ritmi cerebrali alfa e migliora le prestazioni cognitive e motorie in pazienti neurologici. Nel caso in cui le ipotesi sperimentali verranno confermate, si potrà applicare la stimolazione audio-video a 10 Hz per migliorare le prestazioni cognitive e motorie di pazienti neurologici in tutti i siti del Sistema Sanitario Nazionale. Grazie alla tecnologia a basso costo e di semplice utilizzo, i parenti dei pazienti potranno

no somministrare il protocollo riabilitativo direttamente a casa e aggiornare via internet l'unità clinica di riferimento con i risultati della sessione di riabilitazione. Poiché la malattia di Alzheimer rappresenta il disagio neurologico più comune nella popolazione anziana (il 60% delle demenze) e gli anziani rappresentano la parte di popolazione che cresce più rapidamente, questo tipo di procedura risulterebbe economicamente vantaggioso per il Sistema Sanitario Nazionale poiché ritarderebbe i tempi di ospedalizzazione dei pazienti con disordini neurologici oltre a non prevedere l'impiego di personale ospedaliero per la sua somministrazione.

Nell'anno 2011 si è ottenuta l'approvazione del Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana; si è sviluppato il software per il paradigma di Posner e per la riabilitazione a "10 Hz" (stimolazione audio-video a 10 Hz) e il placebo (stimolazione audio-video a 15 Hz). Sono state effettuate registrazioni di prova su un gruppo di soggetti giovani durante il paradigma di Posner e durante la stimolazione audio-video a 10 Hz e 15 Hz. I risultati ottenuti suggeriscono la possibilità di eseguire registrazioni EEG di buona qualità. Infine sono state effettuate riunioni con i primari dell'IRCCS San Raffaele Pisana per il reclutamento dei soggetti con stroke.

AREA DI RICERCA PARKINSON E DISTURBI DEL MOVIMENTO

Fattori predittivi nello sviluppo della malattia di Parkinson: analisi della variabilità dell'intervallo cardiaco R-R in familiari di pazienti affetti

La Malattia di Parkinson (PD) è un disordine neurodegenerativo caratterizzato dalla degenerazione dei neuroni dopaminergici nella sostanza nera compatta (SNc) associata a inclusioni proteiche intracellulari o corpi di Lewy. Si è notato che i corpi di Lewy sono più generalmente diffusi in tutto il sistema nervoso centrale e coinvolgono le vie olfattive, gli emisferi cerebrali, il tronco encefalico, il midollo spinale, il sistema nervoso autonomo periferico. Inoltre studi neuropatologici suggeriscono che la degenerazione del sistema nervoso autonomo periferico che coinvolge il cuore sia antecedente alla degenerazione dei neuroni dopaminergici della SNc. Disfunzioni del sistema autonomo e, in maniera specifica, denervazione dopaminergica cardiaca sono state descritte virtualmente in tutti i pazienti con Malattia di Parkinson. È stato stabilito che una ridotta variabilità nella frequenza cardiaca all'ECG è un fattore di rischio o addirittura una precoce manifestazione della Malattia di Parkinson e potrebbe rappresentare un semplice economico strumento di screening che potrebbe essere applicato alla popolazione generale per determinare un eventuale rischio di sviluppare la Malattia di Parkinson.

Lo studio si propone di verificare:

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

Si è inoltre in grado di individuare coorti di: a) familiari di primo grado aventi una ridotta variabilità della frequenza cardiaca; b) familiari di primo grado aventi una normale variabilità della frequenza cardiaca e c) gruppi di controllo correlati per sesso ed età. Queste tre coorti saranno utilizzate per successivi studi a lungo termine per determinare se vi è un maggiore rischio di sviluppare le classiche manifestazioni motorie del PD in coloro che presentino una variabilità nulla o ridotta nell'intervallo R-R.

In questo studio, viene effettuato un elettrocardiogramma di routine con misurazione

della variabilità dell'intervallo R-R su un gruppo di 2000 familiari di primo grado di pazienti con PD e su un gruppo di controllo correlato per età e sesso.

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

Nel corso del primo anno si sono finalizzate le modalità di esecuzione dello studio e si sono raccolti dati ed ECG relativi a 22 partecipanti fra casi e controlli.

ALTRA TIPOLOGIA DI RICERCA

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Unità Operativa del progetto: Nuove conoscenze e problematiche assistenziali nell'ictus cerebrale: un programma strategico di ricerca e sviluppo.

La presa in carico delle persone con ictus cerebrale: implementazione dei percorsi di cura integrati e degli strumenti di gestione. Obiettivo 2 dal titolo: Il percorso riabilitativo dopo ictus cerebri: sperimentazione ragionata della continuità terapeutica

Sono stati presi in esame i dati di cinque centri che hanno contribuito alla raccolta dei dati nella Regione Emilia e Romagna per i percorsi assistenziali in fase acuta. Sono state incluse le strutture che hanno raccolto un numero di persone significativo identificato in più di 50. Sono stati raccolti i dati di 2001 persone. Emerge una disomogeneità importante nella sede di ricovero: un Ospedale ricovera i pazienti quasi esclusivamente in un reparto di Geriatria, due Ospedali ricoverano in stroke unit, altri 2 ospedali utilizzano prevalentemente la Neurologia come Unità Operativa di ricovero in acuto (uno per il 59% e l'altro per il 80%). Vi è poi una significativa disomogeneità nelle età medie (range 68,1-83,6 anni) ed anche la gravità clinica valutata con la classificazione di Bamford (TACI, PACI, LACI, POCI) evidenzia incidenze delle varie sindromi significativamente diverse nei vari ospedali e con le scale per le capacità di controllo del tronco (Trunk Control Test) e delle Attività di vita quotidiana (ADL - Barthel Index) mostrano differenze significative nelle loro mediane tra i vari ospedali. Questi 4 elementi (età, sindromi cliniche, controllo del tronco e ADL) con le loro differenze statisticamente tra i pazienti che accedono ai 4 ospedali testimoniano una forte selezione di ingresso nei reparti di afflusso in emergenza.

Anche gli indicatori di percorso utilizzati mostrano forti disomogeneità di comportamento e quindi di organizzazione nei 5 ospedali. La distanza tra ingresso in ospedale e presa in carico da parte del team riabilitativo ugualmente è significativamente disomogenea (range 2,3-5,0 giorni) ed anche la lunghezza della degenza in acuto (LOS) è significativamente disomogenea (range 11,6-16,9 giorni).

In conclusione dai dati emerge l'utilità del protocollo di valutazione adottato che può dare suggerimenti di approccio clinico ed organizzativo importanti:

- Omogeneizzare i criteri clinici di ricovero nei reparti per acuti per le persone con ictus;
- Implementare la precocità della presa in carico riabilitativa in fase acuta da parte del team Riabilitativo;
- Individuare anche come obiettivo aziendale la riduzione dei tempi medi di degenza nelle strutture per acuti che accolgono le persone con ictus.

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

Il Progetto è stato approvato e le attività avranno inizio nel mese di Gennaio 2012.

Malattie Rare

Casi di Paralisi Sopranucleare Progressiva (PSP)

Lo studio si propone di analizzare clinicamente una casistica di 40 pazienti affetti da PSP, dedicando particolare attenzione all'analisi dei sintomi "non motori" grazie alla Non Motor Symptoms Scale, al Non Motor Symptoms Questionnaire e alla PSP Scale. Sono stati inclusi nella valutazione tutti i pazienti con diagnosi di probabile di PSP, senza limitazione dell'età di esordio, con fascia età: 40-80 anni, ricoverati presso il reparto di riabilitazione neuromotoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana.

La PSP è una rara patologia neuro-degenerativa a carattere cronico-progressivo. Si colloca nella famiglia delle malattie "Parkinsoniane", in quanto la maggiore caratterizzazione clinica è quella dei sintomi extrapiramidali comuni alla malattia di Parkinson. I sintomi sono però prevalentemente assiali, e si associano ad instabilità posturale, sintomi bulbari, paralisi dei movimenti di sguardo, disturbo delle funzioni esecutive. L'andamento della malattia è generalmente piuttosto rapido e con progressivo coinvolgimento di più organi e sistemi. La prevalenza della PSP è di 5-6 casi su 100.000 sulla popolazione generale, l'età tipica di esordio è tra i 50 ed i 65 anni, con un range tra i 40 e gli 80. I sintomi iniziali spesso sono molto simili a quelli della malattia di Parkinson, ed è molto comune una erronea diagnosi con sottostima della patologia. Il reperto clinico più caratteristico è quello della paralisi sopranucleare dei movimenti di sguardo, soprattutto verticali, e delle precoci cadute a terra "sine causa". Non sempre all'esordio, ma sicuramente nel corso della malattia, i pazienti affetti da PSP sviluppano un grave disturbo dell'eloquio e della deglutizione. Questi problemi sono legati al danno neuronale a carico del tronco dell'encefalo e alla successiva degenerazione delle connessioni con i gangli della base e la corteccia.

Vengono riconosciute tre varianti di PSP:

1. PSP-P o PSP-parkinsonismo: pazienti con una sindrome bradicinetica asimmetrica, talora con associata distonia che all'inizio della malattia presentano una relativa risposta alla levodopa.
2. Richardson's Sindrome: forma classica in cui oltre al parkinsonismo si associano disturbi della motilità oculare, disartria e disfagia.
3. Pure Akinesia with gait freezing (PAGF) : rara forma di PSP caratterizzata solo da difficoltà nell'iniziare il movimento o nel girarsi, talora con associate micrografia e apofonia. Tali sintomi possono essere presenti per 4 o 5 anni prima che gli altri segni di malattia compaiano.

Scopo di questo progetto è:

- analizzare la frequenza e la tipologia dei sintomi non-motori (con particolare riguardo all'aspetto cognitivo e della depressione) presenti nella popolazione di paziente affetti da PSP, mediante l'utilizzo di scale di valutazione e questionari;
- condurre una valutazione clinica dei pazienti, verificando la frequenza dei vari sottotipi nella popolazione osservata;

Da un punto di vista clinico, la valutazione è effettuata tramite la somministrazione della "Progressive Supranuclear Palsy Rating Scale and Staging System". Questa scala prevede la valutazione di tutti gli aspetti della malattia (anamnesi, esame mentale, bulbare, movimenti oculari, motricità segmentale, deambulazione. Range 0-100) e una stadiazione riassuntiva (range 1-5). I dati sono riassunti nella tabella 1.

Da un punto di vista neuropsicologico la valutazione è effettuata attraverso la somministrazione del test cognitivo Montreal Cognitive Assessment (MoCA) e della scala di Hamilton per la depressione.

Il Moca è un test che valuta le seguenti funzioni cognitive: esecutivo-spaziale (5 punti); linguaggio (6 punti); memoria (5 punti); attenzione (6 punti); astrazione (2 punti); orientamento (6 punti). Prevede la correzione per scolarità (1 punto se < 12 anni). Il massimo punteggio possibile è 30. Un punteggio uguale o superiore a 26 è considerato normale.

La Scala di Hamilton della Depressione (HAM-D) è stata ideata da Max Hamilton nel 1960 e destinata a valutazioni di tipo quantitativo in pazienti con un disturbo depressivo. La scala contiene 17 variabili, ciascuna da valutare in scale a 3 o 5 punti. Viene compilata alla fine di un'intervista non strutturata e il valore della Scala è determinato dalla somma dei punti delle singole variabili. Una persona non sofferente di depressione totalizza un punteggio pari a 5-6. Un punteggio di 16-18 indica la presenza di un disturbo depressivo che necessita già di una terapia antidepressiva. I pazienti raramente

totalizzano un punteggio superiore a 35 e un punteggio di 30 è indicativo di un grave stato patologico.

Nel corso dello studio, sono stati complessivamente sottoposti a valutazione 28 pazienti ricoverati nel reparto di riabilitazione neuromotoria negli anni 2010-2011: di questi, in 20 pazienti è stata confermata la diagnosi di possibile PSP e completata la valutazione testistica; per 4 soggetti a causa dell'importante deficit cognitivo presente è stato possibile effettuare solo la PSP-scale; per gli altri 4 è stata invece modificata la diagnosi di accettazione da PSP in Degenerazione cortico-basale.

Gli studi effettuati hanno evidenziato delle caratteristiche omogenee, con un'età di malattia compresa tra 2,77 e 3,36, uguale distribuzione tra i sessi e conferma dell'età di esordio della PSP tra 50-65 anni. Dalla osservazione clinica mediante la PSP Scale è stata confermata la suddivisione della popolazione osservata in sottotipi: PSP classica (11 pazienti) e PSP-P (9 pazienti) con una frequenza approssimativa del 50%. Non sono stati osservati pazienti con PAGF, probabilmente per il ritardo con cui i pazienti sono inviati a visita specialistica e diagnosticati.

Dai risultati emersi attraverso l'esecuzione del MOCA, le aree maggiormente compromesse risultano essere quelle della memoria differita (19/20 pazienti), quella del linguaggio con particolare riguardo alla fluenza verbale (17/20 pazienti) e quella visuo-spaziale/esecutiva (16/20 pazienti). L'estrema lentezza nell'elaborazione delle informazioni e il marcato deficit delle funzioni esecutive e visuospatiali trovano conferma in letteratura e si conferma dato distintivo del tipo di deterioramento cognitivo caratteristico della PSP.

Dai risultati analizzati nella scala Hamilton per la depressione non emerge differenza nelle due sottopopolazioni studiate (PSP P media 13,22; PSP Classica media 12,09). In conclusione si può affermare che tutti i pazienti sono risultati affetti da una depressione di lieve entità. Inoltre i pazienti affetti da PSP risultano maggiormente apatici e tristi rispetto ai pazienti parkinsoniani che appaiono più ansiosi e affetti da depressione più grave.

La frequenza dei sintomi non motori (Grafico 1 e 2) effettuata mediante il questionario dei NMS non ha mostrato differenze sostanziali tra i due gruppi per la maggior parte dei sintomi presi in considerazione. I pazienti con PSP classica hanno mostrato una prevalenza di sintomi quali scialorrea, disfagia, stipsi e tristezza. Tutti i pazienti (11/11) hanno riportato cadute al contrario del gruppo con PSP-P in cui le cadute sono state riportate solo da 5 pazienti. La frequenza dei sintomi non motori osservati differisce invece sostanzialmente da quelli riportati da pazienti con Malattia di Parkinson idiopatica (riportati in letteratura) che lamentano più frequentemente iposmia, sogni

vividi e sonnolenza diurna, ansia e depressione, stipsi e disfunzione erettile.

La gravità dei sintomi non motori (Tabella 2 e 3), ha mostrato le seguenti differenze: nei domini attenzione/memoria, gastrointestinale e sonno/affaticamento la gravità dei sintomi osservati è risultata di gran lunga maggiore nel gruppo con PSP Classica. Nel dominio cardiovascolare/cadute la gravità dei sintomi osservati è risultata invece più evidente nella PSP P.

TABELLA 1
Caratteristiche Cliniche dei Pazienti

	DOB	SEX	DD	PSP scale	PSP stage	DEP	MOCA	NMSS	RMN
Pazienti PSP CLASSICA									
1	1939	M	2007	58	5	17	10	82	SI
2	1938	F	2005	41	3	20	5	84	NO
3	1935	M	2006	34	2	19	25	142	SI
4	1935	M	2005	35	3	8	16	140	SI
5	1944	M	2002	34	3	8	23	26	NO
6	1934	F	2003	55	5	12	21	36	SI
7	1926	F	2008	40	3	8	12	91	SI
8	1945	M	2011	34	2	8	26	59	SI
9	1930	F	2011	49	5	10	17	96	SI
10	1938	M	2003	44	4	12	16	118	SI
11	1940	M	2006	35	2	11	24	106	SI
Pazienti PSP-P									
12	1951	M	2007	38	2	21	15	116	SI
13	1943	F	2011	37	3	14	21	104	SI
14	1946	F	2010	12	2	14	26	76	SI
15	1937	M	2005	23	2	8	23	67	SI
16	1939	F	2011	21	3	8	14	28	SI
17	1926	F	2008	24	3	14	15	22	SI
18	1935	F	2008	53	5	24	11	131	SI
19	1941	F	2009	25	4	12	26	27	SI
20	1940	M	2010	12	1	4	25	40	SI

TABELLA 2
Risultati della Scala dei NMS nella PSP CLASSICA

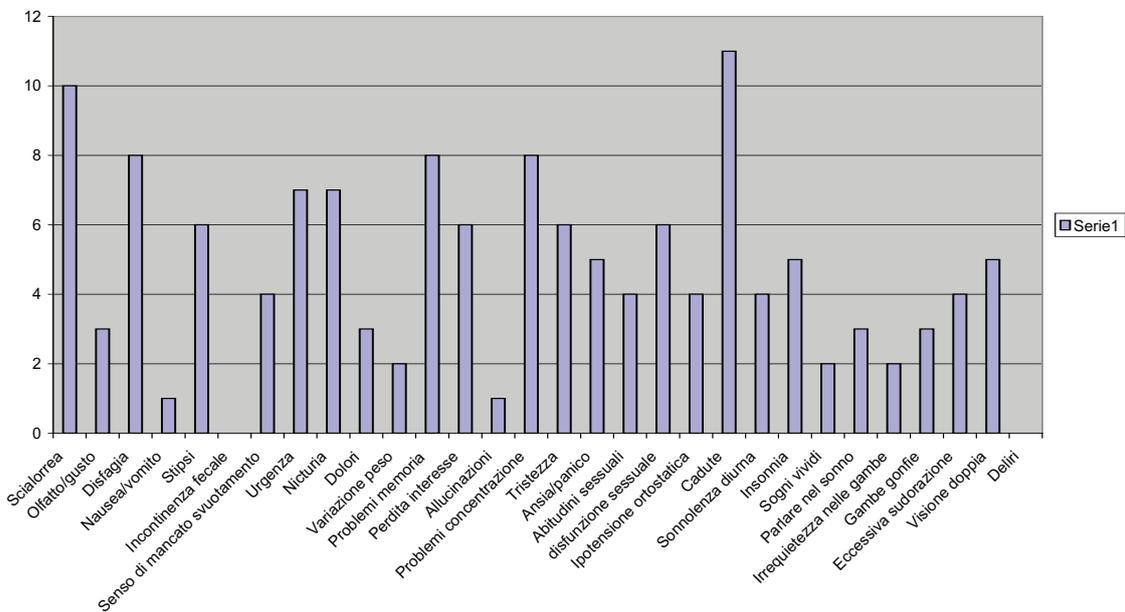
			cardiovasc/ cadute	Sonno/ affaticamento	Umore/ cognizione	Percezione/ allucinazione	Attenzione/ memoria	Gastrointestinale	Vie urinarie	Funz sessuali	varie
1	1939	M	0	15	27	0	12	9	2	9	8
2	1938	F	8	10	26	0	14	6	14	0	6
3	1935	M	0	20	46	12	36	18	9	0	1
4	1935	M	12	26	17	8	15	22	24	14	12
5	1944	M	0	1	12	0	0	10	1	0	6
6	1934	F	0	12	4	12	0	5	1	0	2
7	1926	F	8	12	10	8	15	18	12	0	8
8	1945	M	0	0	6	0	0	9	24	20	0
9	1930	F	0	5	3	4	22	16	36	0	0
10	1938	M	0	36	21	0	13	12	27	0	9
11	1940	M	0	9	44	0	12	14	3	24	0
Media			2,54	13,27	19,63	4	12,63	12,63	13,90	6,09	4,72

TABELLA 3
Risultati della scala dei NMS nella PSP-P

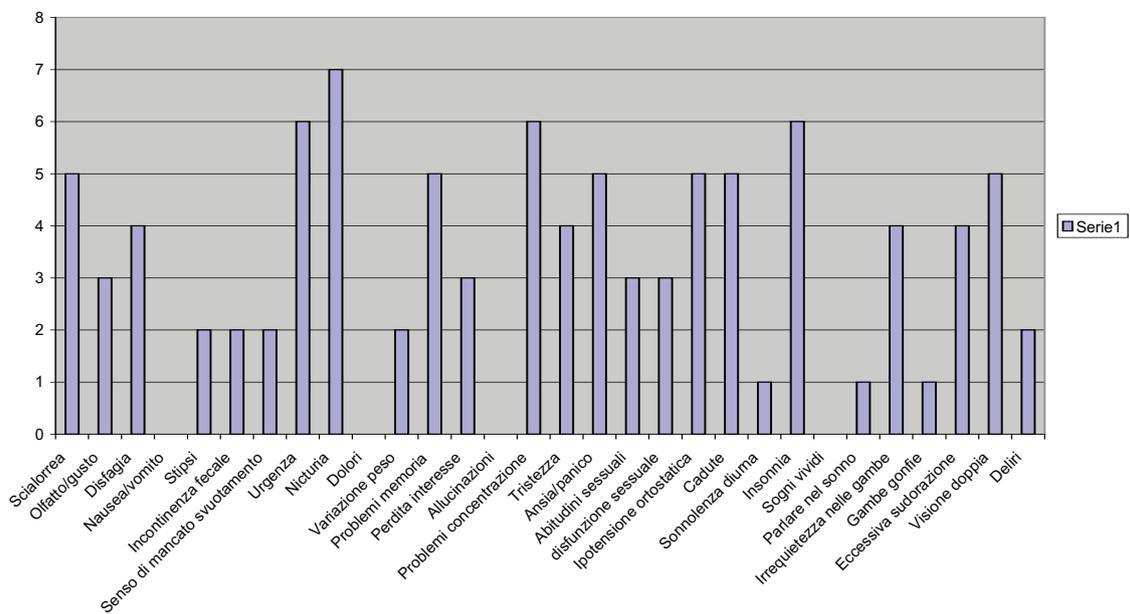
			cardiovasc/ cadute	Sonno/ affaticamento	Umore/ cognizione	Percezione/ allucinazione	Attenzione/ memoria	Gastrointestinale	Vie urinarie	Funz sessuali	varie
12	1951	M	0	0	52	0	16	0	36	12	0
13	1943	F	8	24	12	12	24	10	0	0	14
14	1946	F	0	17	20	8	1	4	12	13	1
15	1937	M	12	4	1	8	1	6	13	12	10
16	1939	F	0	0	0	0	2	2	20	0	4
17	1926	F	1	4	4	0	4	8	1	0	0
18	1935	F	24	0	49	1	15	24	0	0	18
19	1941	F	8	9	8	0	1	0	9	0	0
20	1940	M	3	4	4	0	1	12	16	0	0
Media			6,22	6,88	16,66	3,22	7,22	7,33	11,88	4,11	5,22

GRAFICI 1 E 2

PSP NMS Quest



PSP.P NMS Quest



AREA DI RICERCA CEFALEA E DOLORE NEUROPATICO

Ricerca indipendente con sponsorizzazione

Studio epidemiologico sul dolore neuropatico in Italia (NeuP-Italy). Prevalenza e caratteristiche del dolore neuropatico nella neuropatia diabetica, neuropatie traumatiche e post chirurgiche, sclerosi multipla e ictus - Centro Coordinatore: Dipartimento di Scienze Neurologiche - Università degli Studi di Roma "La Sapienza"

Il gruppo neuroscienze e dolore della Società Italiana di Neurologia ha promosso uno studio osservazionale di rilevazione di prevalenza del dolore neuropatico in quattro patologie neurologiche: neuropatia diabetica, neuropatia focale (post-traumatica e postchirurgica), stroke e sclerosi multipla.

Sono stati coinvolti 24 centri, selezionati in base alla riconosciuta esperienza e competenza nelle patologie oggetto di studio e nel dolore neuropatico.

L'obiettivo dello studio è stimare la prevalenza di dolore neuropatico nei pazienti con neuropatia diabetica, neuropatia focale (plessopatia post-traumatica), stroke e sclerosi multipla e definire le caratteristiche qualitative del dolore, attraverso l'utilizzo di questionari specifici.

L'obiettivo secondario consiste nell'individuare possibili fattori di rischio nello sviluppo di dolore neuropatico nelle quattro patologie indicate.

Le informazioni di prevalenza e caratteristiche di dolore neuropatico in corso di neuropatia diabetica, neuropatia focale (post-traumatica e postchirurgica), stroke e sclerosi multipla sono molto scarse. I principali studi epidemiologici si sono dedicati al dolore in corso di neuropatia diabetica (Veves et al., 2008) e sclerosi multipla (Solaro et al., 2004). Pochi sono invece i dati relativi alla prevalenza di dolore neuropatico associato a stroke (Andersen et al., 1995) e a neuropatia focale traumatica o postchirurgica (Macrae, 2001). Negli studi presenti in letteratura la diagnosi di dolore neuropatico non è stata fatta utilizzando strumenti specifici e spesso non sono stati riportati i criteri utilizzati per escludere il dolore non neuropatico. Inoltre, il dolore neuropatico non è stato scomposto nella sue diverse manifestazioni qualitative (dolore spontaneo o provocato) né sono state unanimemente individuate variabili cliniche (età, sesso, durata di malattia, etc.) associate ad un maggiore o minore rischio di sviluppo di dolore neuropatico nelle quattro patologie in oggetto.

La diagnosi e la valutazione delle diverse caratteristiche qualitative di dolore neuropatico si fondano su questionari specificamente ideati per questi scopi. I questionari

attualmente più utilizzati e già validati in italiano sono il DN4 e il Neuropathic Pain Symptom Inventory (NPSI). Il DN4 è un questionario somministrato dal medico che include 10 diversi item ricavati sia dall'intervista al paziente sia dalla visita clinica.

L'NPSI è un questionario autosomministrato che include 12 item, che hanno il compito di definire le caratteristiche qualitative del dolore neuropatico. E' noto, infatti, che il dolore neuropatico si manifesta secondo diverse caratteristiche qualitative. Il dolore può essere spontaneo o provocato, e a loro volta queste due forme possono manifestarsi secondo diverse caratteristiche.

Ogni centro coinvolto si dedica ad una sola patologia. Lo studio prevede l'arruolamento consecutivo di pazienti con diagnosi di neuropatia diabetica, neuropatia focale (post-traumatica e postchirurgica), stroke e sclerosi multipla. La diagnosi viene formulata dal neurologo sulla base dei dati relativi alla visita clinica e agli esami strumentali giudicati opportuni nel singolo paziente. Deve essere poi individuata la presenza di dolore attraverso la variabile dicotomica SI/NO. Se presente si deve acquisire una misura di intensità di dolore nelle ultime 24 ore, attraverso l'NRS (numerical rating scale, 0 - nessun dolore, 10 - il dolore più forte immaginabile).

Successivamente il dolore deve essere distinto in neuropatico o nocicettivo attraverso il DN4 che deve essere somministrato nel contesto della visita clinica. Nel caso in cui il punteggio del DN4 sia uguale o superiore a 4 (punteggio che indica la presenza di dolore neuropatico), allora il paziente compila l'NPSI.

Il dolore nocicettivo deve poi essere definito entro opportune categorie (articolare, vascolare, etc.).

Viene analizzata la prevalenza del dolore neuropatico e le diverse caratteristiche qualitative del dolore. Per ogni patologia vengono poi individuati particolari variabili (età, sesso, durata di malattia, severità di malattia) da correlare alla comparsa, intensità e caratteristiche qualitative di dolore neuropatico.

Dal mese di maggio all'IRCCS San Raffaele Pisana sono stati screenati 90 pazienti affetti da ictus cerebrale e ne sono stati arruolati 43.

AREA DI RICERCA CARDIOVASCOLARE

Unità Operativa del progetto: La telesorveglianza nella gestione dello scompenso cardiaco sul territorio

Lo scompenso cardiaco è una sindrome a crescente impatto epidemiologico ed è la causa più frequente di disabilità. Nonostante i progressi della farmacologia, il peso sociale e personale della malattia è ancora elevato, caratterizzato da sintomi invalidanti, frequenti ospedalizzazioni, ridotta tolleranza allo sforzo, grave deterioramento della qualità di vita ed elevati tassi di mortalità. Pertanto si rende necessario un intervento integrato multidimensionale per garantire una stabilità clinica più adeguata e persistente, per ridurre le riospedalizzazioni e limitare i costi gestionali della malattia. Il progetto si prefigge di sviluppare un modello gestionale multidimensionale integrato per la cura globale e la continuità assistenziale del paziente con scompenso cardiaco cronico, attraverso l'applicazione di programmi strutturati e di sistemi avanzati e diversificati di telesorveglianza, gestiti congiuntamente in ambito ospedaliero e territoriale.

Inoltre, il progetto si prefigge di:

- sviluppare una strategia globale di cura e continuità assistenziale per il paziente con scompenso cardiaco cronico;
- realizzare un programma multifattoriale integrato e flessibile di continuità assistenziale attraverso un collegamento organizzato ed efficiente tra ospedale e territorio con percorsi e controlli programmati;
- realizzare una rete di servizi telematici differenziati (telemonitoraggio cardiorespiratorio domiciliare, telenursing, telecounseling, teletraining);
- identificare nuovi algoritmi di stratificazione prognostica ;
- definire gli indicatori di risultato più appropriati, con particolare riferimento al recupero clinico e funzionale e alla prevenzione delle disabilità e riospedalizzazioni;
- stabilire un sistema di indicatori di processo utile a valutare il reale grado di implementazione del modello sia a livello ospedaliero, che territoriale;
- realizzare proposte formative specifiche per operatori sanitari, medici di medicina generale e operatori dei servizi domiciliari orientate alla corretta ed efficiente applicazione dei programmi e dei percorsi e degli strumenti di telesorveglianza adottati nel modello gestionale.

Sono stati arruolati 44 pazienti ed i dati basali sono riportati nella tabella 1.

Il protocollo prevede, dopo la fase di ottimizzazione della terapia farmacologica ed impostazione del training fisico in regime ospedaliero, la fase di telesorveglianza al domicilio, dove oltre al follow-up strutturato viene eseguito, supervisionato per via telematica un rialle-

namento all'esercizio fisico, attraverso training con cicloergometro ed esercizi callistenici, secondo il protocollo definito.

A ciascun paziente è stato consegnato per il periodo dello studio un cicloergometro professionale ed un ECG recorder monotraccia (cCard gGuard).

Si prevede di raggiungere l'arruolamento di 50 pazienti nel braccio di tele-sorveglianza.

TABELLA 1

Popolazione di studio (n=39)

Età media	74 ± 6
Femmine	19
BMI	26,8 ± 4,6
Eziologia dello scompenso:	
- Ischemica	19
- valvolare	10
- ipertensiva	6
- idiopatica	3
- alcolica	1
Epoca comparsa sintomi:	
- > 48 mesi	39
N. pazienti con defibrillatore	1
N. pazienti con pacemaker bi ventricolare	8
Comorbidità:	
- Broncopneumopatia cronica ostruttiva	10
- Diabete	10
- Insufficienza renale cronica	8
- Patologie neurologiche	2
Classe NYHA	
- II	23
- III	16
LVEF (%)	34 ± 3,9
Walking test (metri)	324 ± 27
Picco di VO ₂ (ml/Kg/min)	10.2 ± 4.6
Ve/VCO ₂	31 ± 5
WATT	650 ± 10
PAS (mm Hg)	133 ± 20
PAD (mm Hg)	84 ± 8
Terapia (n. pazienti):	
- Beta-Bloccante	36
- Ace-Inibitore/satanico	37
- Diuretico (Furosemide)	35
- Antialdosteronico	15
- Statine	27
- Antiaggreganti	25
- Anticoagulante	14
- Antiaritmico	13
- Nitrati	4

Ministero degli Affari Esteri Bando Italia- USA***The role of endothelial mineralocorticoid receptors in vascular inflammation and atherosclerosis*****Fondazioni Bancarie**

Fondazione Roma

Type 2 Diabetes Mellitus: Role of Inflammation and Innate Immunity in The Pathogenesis of Endothelial Dysfunction and Atherosclerosis

Nell'ambito del progetto triennale finanziato dalla Fondazione Roma dal titolo "Type 2 Diabetes Mellitus: Role of Inflammation and Innate Immunity in The Pathogenesis of Endothelial Dysfunction and Atherosclerosis". Il Laboratorio di Immunologia Molecolare e Cellulare ha partecipato quale Unità Operativa svolgendo il primo anno di attività dello studio del ruolo dei recettori Toll like 2 e 4 nel processo infiammatorio alla base dello sviluppo di vascolatura collaterale. Tale processo rappresenta un meccanismo di compenso fisiologico in risposta alla stenosi od occlusione arteriosa che permette il recupero della perfusione tissutale a valle del sito di stenosi od occlusione. Lo sviluppo di vascolatura collaterale o risposta collaterale avviene come conseguenza dell'istaurarsi di un processo infiammatorio che vede protagoniste cellule del sistema immune innato (monociti macrofagi e cellule natural killer) e dei linfociti T. Lo studio intende valutare il coinvolgimento dei recettori Toll-like (TLR) durante l'attivazione in particolare delle cellule dell'immunità innata che svolgono un ruolo essenziale quali effettori del rimodellamento della matrice extracellulare e vascolare alla base della risposta collaterale all'ischemia. Il progetto si avvale dell'utilizzo del modello murino di legatura chirurgica dell'arteria femorale.

Comunità Europea

7° Programma Quadro

SICA: Studio della valutazione delle co-morbidity determinanti un peggioramento dello Scompenso Cardiaco

Lo scompenso cardiaco cronico (CHF) rappresenta una delle principali cause di morbilità e mortalità. I pazienti affetti da CHF presentano numerose co-morbidity, quali diabete, obesità, ipertensione arteriosa, dislipidemia ed alterazioni del metabolismo glucidico. Inoltre, soprattutto negli stadi avanzati della malattia i pazienti con CHF possono sviluppare cachessia, che rappresenta un fattore prognostico infausto.

Lo scopo di questo progetto consiste nella descrizione dettagliata dei pazienti con CHF e le sopramenzionate co-morbidity al fine di identificare nuove strategie terapeutiche e migliorare gli outcome di morbidity e mortalità di questi pazienti.

Il progetto SICA-HF, articolato in 16 progetti di ricerca clinici e pre-clinici (WorkPackages [WPs]), intende valutare l'impatto che queste co-morbidity determinano nei pazienti con CHF, a livello clinico, vascolare, cellulare e molecolare.

Lo studio fa parte di un grande progetto collaborativo che coinvolge la Comunità Europea e la Russia (totale 11 centri oltre il coordinatore) ed ha ricevuto un finanziamento dalla Comunità Europea nell'ambito del "7th Framework Programme".

Lo studio, prospettico, multicentrico, multinazionale, longitudinale, ha come obiettivo il reclutamento di 1.600 pazienti con scompenso cardiaco a causa di varie eziologie comuni, indipendentemente dalla frazione di eiezione ventricolare sinistra, e con o senza comorbidity all'ingresso nello studio. Inoltre, > 300 pazienti con diabete mellito tipo 2 senza CHF e 150 soggetti sani servono come gruppi di controllo. Il progetto prevede che almeno il 50% dei pazienti arruolati siano di sesso femminile e che l'età media dei gruppi sia omogenea.

I partecipanti sono sistematicamente studiati ad intervalli annuali fino a 48 mesi. Tutti i soggetti vengono caratterizzati al basale, mentre i pazienti con CHF sono valutati ulteriormente dopo 4-6 mesi, 16-18 mesi e, ove applicabile, ogni anno, in base alla durata del progetto.

Ulteriori indagini sono focalizzate sui meccanismi cellulari e subcellulari e sulle cellule progenitrici endoteliali, in sottogruppi selezionati.

La peculiarità di questo progetto consiste nella valutazione pre-clinica e clinica dei pazienti reclutati, dato che campioni ematici e tissutali dei pazienti vengono valuta-

ti sia dal punto di vista clinico che mediante analisi in vitro, su modelli cellulari ed animali presso i laboratori di ricerca coinvolti nello studio.

Ricerca sponsorizzata da privati

Valutazione comparativa degli effetti sulla funzione endoteliale del trattamento con nebivololo e idroclorotiazide vs irbesartan e idroclorotiazide in pazienti con ipertensione arteriosa neo-diagnosticata: studio ninfe (nebivololo, irbesartan nella funzione endoteliale)

Vi è evidenza che irbesartan, un antagonista del recettore AT₁ dell'angiotensina, migliora la funzione endoteliale e la rigidità arteriosa nei pazienti ipertesi. Nebivololo, un beta-bloccante beta-1 selettivo, riduce la resistenza vascolare sistemica e stimola il rilascio di ossido nitrico esercitando effetti positivi sulla funzione vascolare. Tuttavia, vi è assenza di studi comparativi sugli effetti vascolari dei beta-bloccanti di terza generazione e bloccanti del recettore AT₁. Lo scopo di questo studio monocentrico, randomizzato, controllato, in doppio cieco, a gruppi paralleli è stato quello di verificare l'ipotesi di non-inferiorità di nebivololo ad irbesartan, in associazione con idroclorotiazide, sulla funzione endoteliale, la rigidità arteriosa e i parametri emodinamici centrali in pazienti affetti da ipertensione arteriosa che non assumevano farmaci.

Sessantacinque pazienti sono stati randomizzati a ricevere irbesartan/idroclorotiazide (150mg/12.5mgday) o nebivololo/idroclorotiazide (5mg/12.5mgday) per 8 settimane. La funzione endoteliale, la velocità dell'onda di polso, l'indice di aumento aortico (augmentation index), la pressione arteriosa centrale e brachiale sono stati misurati al basale e alla fine dello studio.

La pressione sistolica e diastolica centrale, così come la pressione arteriosa brachiale, diminuiscono significativamente e in misura simile dopo entrambi i trattamenti. Alla fine dello studio sono stati rilevati simili cambiamenti nella funzione endoteliale tra i due gruppi. Si è osservata una significativa riduzione di velocità dell'onda di polso, della pressione arteriosa centrale e dell'indice di aumento aortico corretto per la frequenza cardiaca in entrambi i gruppi di trattamento al termine dello studio, senza differenze significative tra i gruppi.

I risultati di questo studio confermano quindi l'ipotesi di non-inferiorità del trattamento a breve termine con nebivololo rispetto al irbesartan, entrambi in associazione con idroclorotiazide, sulla funzione endoteliale, la rigidità arteriosa e i parametri emodinamici centrali in pazienti ipertesi.

AREA DI RICERCA APPROCCI DI SISTEMA E MALATTIE NON TRASMISSIBILI

**Bando INAIL - Istituto Nazionale per l'Assicurazione contro gli Infortuni sul Lavoro
- Anno 2010**

Valutazione di biomarker di instabilità genetica, danno ossidativo e lesioni precoci in sangue, cellule esfoliate dalla mucosa boccale ed esalato bronchiale di lavoratori a rischio-amianto

Il progetto è incentrato sulla comparazione di una batteria di biomarcatori in personale addetto alla bonifica di amianto, in soggetti non esposti ad amianto e in soggetti sottoposti a esposizione intensa ad amianto nel passato.

Il disegno dello studio prevede di comparare una batteria di biomarcatori di instabilità genetica (micronuclei), di danno ossidativo (addotti della malondialdeide al DNA, 8-idrossi-deossiguanosina, 8-isoprostano, leucotriene B₄), e di lesioni precoci (mesotelina, PDGF, HGF, bFGF e VEGF) in soggetti esposti ad amianto e controlli. Il progetto prevede inoltre di comparare i livelli dei biomarcatori ottenuti nei linfociti con quelli rilevati nelle cellule esfoliate da mucosa boccale. Ci si propone di verificare la fattibilità dell'utilizzo di esalato bronchiale per l'analisi di 8-isoprostano, leucotriene B₄ per rilevare l'esposizione ad amianto.

Vengono confrontate con un disegno di studio di tipo cross-sectional la frequenza di un set di biomarcatori di esposizione ed effetto biologico precoce 200 addetti alla bonifica di amianto (gruppo 1), 200 soggetti mai esposti ad amianto appaiati per sesso, età e per abitudine al fumo (gruppo 2) e 200 soggetti sottoposti a esposizione intensa ad amianto nel passato (gruppo 3).

Nel 2012, ci si attende di reclutare almeno due terzi dei soggetti previsti, una volta ottenuta l'approvazione dei Comitati etici. Si prevede inoltre di realizzare almeno la metà dei saggi di laboratorio. Si organizzerà un incontro di medio termine con tutti i partner per valutare i progressi e i risultati preliminari.

Fondazione Buzzi

Chemoprevenzione nei pazienti esposti all'asbesto

Nella versione originale di questo progetto, presentato alla Fondazione nel corso del 2009, il disegno di studio proposto prevedeva l'effettuazione di un trial randomizzato di fase IIb finalizzato a confrontare la frequenza di micronuclei (MN) e di altri endpoint secondari nei linfociti periferici del sangue di soggetti, precedentemente esposti ad asbesto, in soggetti trattati con N-acetilcisteina (NAC) versus placebo. La presenza di alcune importanti criticità, discusse nei precedenti report ha reso necessario un downgrading del progetto, rivalutando con studi in vitro i meccanismi di alcune condizioni di azione dell'esposizione ad asbesto e dell'effetto di NAC sui diversi endpoint considerati per lo studio. In particolare, vista la tipologia dei soggetti target per il trattamento chemiopreventivo - cioè lavoratori esposti ad asbesto in passato - si è reso necessario valutare la persistenza dei danni di instabilità genetica e di tipo ossidativo in situazioni in cui l'esposizione ad asbesto risaliva a molti anni addietro. In parallelo, l'effetto antiossidante e di protezione dall'instabilità genetica della NAC - ampiamente dimostrato in caso di esposizioni recenti - richiede una conferma sugli effetti di esposizioni pregresse. Anche la capacità dei principali polimorfismi genetici interessati da questi meccanismi di modificare l'attività genotossica dell'asbesto è da testare in queste condizioni di esposizione. L'interesse per un potenziale ruolo dei polimorfismi genetici tiene anche in considerazione la possibilità di identificare tramite questa informazione sottogruppi di soggetti particolarmente suscettibili al danno indotto da esposizione ad asbesto, o particolarmente sensibili all'effetto della NAC, da proporsi quindi in modo elettivo per un trattamento chemiopreventivo con questo agente.

Lo studio interventistico proposto inizialmente, NAC vs. placebo, prevedeva l'utilizzo come endpoint di effetto di vari biomarcatori di danno al DNA e di instabilità genetica, per cui - considerando la carenza di dati disponibili in letteratura riferiti ad esposizioni non recenti - il presente studio è stato quindi reindirizzato alla valutazione della sensibilità del saggio del MN e del saggio della cometa (come marcatore di danno e riparo del DNA) della suscettibilità ai mutageni in popolazioni umane con pregressa esposizione a fibre di asbesto.

Sono stati ottenuti i linfociti di 10 soggetti esposti in passato ad asbesto e di 10 controlli. I linfociti sono stati trattati in vitro con esposizione ad agenti in grado di indur-

re danno ossidativo e danni del DNA. Le cellule sono state trattate anche dopo aggiunta di NAC. Sono stati misurati sia la frequenza di micronuclei che di danno al DNA tramite il comet assay.

Allo scopo di raggiungere gli obiettivi previsti dopo il ridimensionamento del progetto sono stati ottenuti linfociti di sangue periferici di ex-esposti ad asbesto e di un gruppo di controlli sani sono stati trattati in vitro con agenti genotossici in grado di indurre rotture sulla singola e doppia elica del DNA e danno ossidativo (challenge assay). A completamento di questa fase di assessment degli eventi genetici associati all'esposizione remota a fibre di asbesto in popolazioni umane è stata affiancata allo studio del danno cellulare e molecolare la valutazione dei profili di espressione genica in questi soggetti.

AIRC - Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro

Micronucleus assay in buccal exfoliated cells to measure DNA damage and predict cancer in healthy subjects

Lo studio del danno al DNA nelle cellule esfoliate della bocca è una metodica minimamente invasiva per il monitoraggio di popolazioni esposte ad agenti genotossici. La presenza di micronuclei (MN) e altre anomalie nucleari all'interno di queste cellule ha dimostrato di essere associata a difetti genetici del genoma, quali invecchiamento accelerato, danni genotossici e alcune malattie di tipo degenerativo.

Per identificare le principali lacune nella conoscenza di questi marcatori, e realizzare un largo progetto di validazione del marcatore una nuova iniziativa, è stata lanciata nell'ambito del progetto internazionale HUMN, il progetto HUMNxl ('XL' per designare la cellula esfoliata).

Un invito ad aderire al progetto è stato inviato insieme ad un questionario a tutti i laboratori che hanno pubblicato lavori sul saggio del micronucleo nelle cellule della bocca. Nel complesso, 188 messaggi sono stati consegnati e 58 laboratori di 25 paesi hanno accettato di partecipare.

Il questionario è stato progettato per raccogliere informazioni metodologiche in relazione alle prestazioni del laboratorio di analisi e per valutare l'entità e il tipo di dati epidemiologici che vengono regolarmente raccolti. I risultati forniscono una panoramica dei metodi più comunemente utilizzati per la raccolta delle cellule buc-

cale e di preparazione del vetrino, colorazione, i criteri di punteggio ed una valutazione dei dati epidemiologici, demografia, background genetico, sesso, stato di salute, occupazione, l'esposizione, stile di vita e abitudini alimentari. La valutazione di questi dati è stata oggetto di una analisi pooled che ha permesso di quantificare l'impatto sulla frequenza di MN di aspetti legati allo stile di vita, all'occupazione, alla presenza di malattie. La valutazione di dati fra un largo numero di laboratori ha permesso di quantificare il ruolo di vari passaggi del protocollo analitico.

Altri studi previsti dal protocollo iniziale includevano la conduzione di studi di validazione e di standardizzazione. A questo fine è stato condotto uno studio di validazione inter-laboratori, che coinvolge laboratori esperti della tecnica e laboratori interessati a mettere a punto il saggio nelle proprie strutture. Al momento sono state completate le operazioni di raccolta dei dati e di misurazione delle frequenze di MN in campioni provenienti dall'ospedale universitario della Università di Medicina di Vienna, analizzati in parallelo a Vienna, Adelaide (Australia) e Genova. Le frequenze di MN una volta completati gli studi di calibrazione saranno valutate anche da altri laboratori meno esperti per quantificare lo scarto dovuto allo scoring e permettere la definizione di criteri di scoring più universali.

Il principale obiettivo raggiunto nel corso del 2011 è stata la realizzazione di un dataset internazionale di dati pooled provenienti dagli studi originali di oltre 30 laboratori. I risultati dello studio pooled hanno evidenziato il ruolo dei principali fattori predittivi del danno al DNA, oltre ad aver costituito la base per la conduzione dello studio di coorte storica, che leggerà la frequenza di MN nelle cellule esfoliate di soggetti sani con il loro rischio di ammalarsi di tumore. È stato inoltre avviato lo studio di validazione che permetterà di confrontare i risultati dello scoring fra diversi laboratori, sia con esperienza nel campo che inesperti.

Nel corso del 2012 è previsto il completamento dello studio di validazione, con l'analisi statistica dei risultati e l'identificazione dei principali criteri di standardizzazione per ottenere uno scoring omogeneo fra laboratori. Verrà inoltre completata la raccolta dei soggetti eligibili per lo studio di coorte storica.

Centro Studi PAC (Persone ad Alta Complessità)

Il Gruppo di Epidemiologia Clinica e Molecolare dell' IRCCS San Raffaele Pisana è coinvolto in quattro studi che hanno come obiettivo il miglioramento della qualità di vita e della qualità di cura nei pazienti anziani di età maggiore o uguale a 65 anni. Tale

obiettivo si raggiunge attraverso l'implementazione di una strategia basata sull'utilizzo di strumenti di valutazione multidimensionale e attraverso la ricerca e validazione di indicatori di qualità di cura in grado di ridurre gli eventi avversi (rischio di ospedalizzazione, la disabilità e la mortalità).

La ricerca di indicatori di qualità di cura nel paziente anziano è stata condotta attraverso la partecipazione ai seguenti progetti, in qualità di unità operativa.

Studio valutativo su efficacia di un intervento di formazione finalizzato al miglioramento della prescrizione farmacologica in pazienti anziani in politerapia

Lo studio è un trial clinico controllato randomizzato a cluster che si prefigge di valutare se un intervento di formazione, mirato all'apprendimento di nozioni di valutazione multidimensionale e di conoscenza dei rischi iatrogeni legati all'uso di farmaci inappropriati, sia in grado di ridurre il rischio di ospedalizzazione, la mortalità, la disabilità e le reazioni avverse dei farmaci in pazienti in 2 setting assistenziali (RSA, ospedale) in un periodo di 12 mesi. Lo studio è stato approvato dal Gruppo di Lavoro-Ricerca e Sviluppo (GdL-RS) dell'AIFA. Nel corso del 2011 è stato completata la stesura del protocollo e sono state avviate le procedure per l'approvazione del comitato etico.

Effetto di un intervento integrato di e-learning basato sulla valutazione geriatrica multidimensionale nel migliorare la qualità della prescrizione farmacologica nei pazienti anziani ospedalizzati

Lo studio della durata di 1 anno, è stato condotto su 8 Centri, reclutando un totale di 80 pazienti. Scopo principale dello studio è stata la valutazione di un programma integrato di educazione clinica mediante e-learning, con nozioni di valutazione multidimensionale in aggiunta ad elementi di farmacologia geriatrica e appropriatezza prescrittiva. Obiettivo dello studio era valutare se tale programma fosse in grado di ridurre la prescrizione di farmaci potenzialmente inappropriati o le interazioni farmacologiche negli anziani ospedalizzati rispetto ad un gruppo di controllo a cui sono state rilasciate solo nozioni di base di farmacologia geriatrica generale e, come obiettivo secondario, valutare l'impatto di tale intervento sulla durata della degenza ospedaliera, sulla mortalità, sulle riospedalizzazioni e istituzionalizzazioni e sul miglioramento della qualità della prescrizione farmacologica durante un follow up di 12 mesi. Il Gruppo di Lavoro-Ricerca e Sviluppo (GdL-RS) dell'AIFA, a Dicembre 2011, ha espresso un giudizio positivo al proseguimento del progetto complessivo.

A seguito di tale parere dell'AIFA, si terrà un nuovo kick off meeting in cui saranno

stabiliti nuovi obiettivi dello studio ed i reparti da coinvolgere nello studio.

Effetto di valutazione e management geriatrico sulla qualità della prescrizione farmacologica in anziani istituzionalizzati

Lo studio coinvolge 476 pazienti assistiti presso le RSA disposte sul territorio nazionale dei 10 centri partecipanti di età superiore-uguale ai 75 anni. L'obiettivo è valutare se un management geriatrico, basato sulla valutazione multidimensionale e sullo sviluppo di piani di cura individuali, possa ridurre il numero di prescrizioni inappropriate e di interazioni farmacologiche in una popolazione di anziani istituzionalizzati e, come obiettivo secondario, la riduzione delle reazioni avverse ai farmaci, della disabilità, della mortalità e il miglioramento della qualità di vita. Lo studio ha una durata complessiva di 36 mesi che prevede una fase di pre-arruolamento (12 mesi) e che si è concluso con lo svolgimento di un corso formale, una fase di reclutamento dei pazienti nelle RSA partecipanti allo studio (12 mesi) e una fase di follow-up dei pazienti (12 mesi). La popolazione in studio verrà randomizzata in due gruppi di trattamento ciascuno di 238 pazienti. I pazienti del gruppo di intervento verranno valutati e gestiti secondo un approccio multidimensionale geriatrico mediante l'utilizzo di una apposita scheda raccolta dati a 300 item l'InterRAI-Long Term Care Facility (InterRAI-LTCF), mentre i pazienti del gruppo di controllo verranno valutati e gestiti secondo i metodi tradizionali. Nel corso del 2011 lo studio, approvato dal comitato etico di tutte le istituzioni coinvolte e' stato avviato con la raccolta dati di circa 50 pazienti

Assistenza residenziale per gli anziani: costruzione e validazione di un sistema di sorveglianza quality e equity oriented

Il progetto coinvolge 17 RSA presenti in 2 regioni del Centro e Sud Italia. Sono state condotte le prime fasi di identificazione e di selezione di indicatori quality e equity oriented in RSA e la validazione di un set integrato di indicatori di struttura, di processo e di esito ad elevata fattibilità di rilevazione e trasferibilità di sistema. Il progetto prosegue con l'applicazione di questi indicatori nelle strutture selezionate. E' stato avviato nel settembre 2010 e ha una durata di 2 anni; ha come obiettivo generale la definizione concettuale e operativa di un sistema di sorveglianza quality ed equity oriented in RSA e la validazione di un set integrato e multi-dimensionale di indicatori di struttura, processo ed esito ad elevata fattibilità di rilevazione e tra-

sferibilità di sistema. Ciascuna Unità Operativa ha l'obiettivo di selezionare gli indicatori di varie aree di interesse; l'area di interesse riguarda gli aspetti di personalizzazione e umanizzazione, assistenza di tipo alberghiero, riabilitativo, sociale e relazione con i familiari.

Nel 2011 è stata effettuata la selezione degli indicatori di qualità assistenziale rilevanti ed elaborati nel corso del 2012. È prevista, inoltre, una ulteriore rilevazione a 6 mesi di distanza con l'obiettivo di valutare la fattibilità e l'eventuale modifica dei processi assistenziali indagati.

AREA DI RICERCA BIOTECNOLOGIE AVANZATE

Ricerca Oncologica

Programma Integrato di Oncologia: RFPS-2006-7-342220 - “Biotechnology strategies to improve rehabilitation outcome of fragile cancer patients”

Nel corso degli ultimi 20 anni, grazie all'avanzamento delle tecnologie biomediche, si è verificato un incremento del tasso di sopravvivenza dei pazienti oncologici. Questo, però, ha comportato un aumento del numero di pazienti fragili e, di conseguenza, ha spostato alcuni campi di interesse su elementi tipo la qualità di vita (QoL), la necessità di servizi di riabilitazione e terapia fisica, o la ricerca di biomarcatori predittivi dell'outcome clinico. I pazienti fragili affetti da tumore sono caratterizzati da un rapido declino delle condizioni fisiche e mentali, dovuto principalmente allo sviluppo di depressione, fatigue e cachessia. La cachessia neoplastica è una sindrome debilitante che incide gravemente sulla maggior parte dei pazienti affetti da tumore in stato terminale. Tuttavia, contrariamente a quanto ritenuto in passato, la cachessia non rappresenta un evento finale, ma può essere considerata il risultato di una serie di disfunzioni metaboliche a carico del tessuto adiposo e muscolare che insorgono precocemente durante la progressione neoplastica. Diversi biomarcatori sono stati proposti quali possibili mediatori di cachessia, ma al momento attuale non esiste un biomarcatore in grado di fornire informazioni sull'outcome clinico del paziente cachettico. Inoltre, non esiste alcun trattamento farmacologico in grado di reintegrare le alterazioni metaboliche presenti nella cachessia, ma sono disponibili solo terapie sintomatiche.

Sulla base di tali considerazioni, obiettivo principale di questo progetto è stato quello di far luce sui meccanismi molecolari legati alla depressione, alla fatigue ed alla cachessia in pazienti fragili oncologici sottoposti a procedure riabilitative, al fine di: (a) ottenere nuovi profili molecolari da utilizzare nella diagnosi e/o nella prognosi della cachessia neoplastica; (b) sviluppare strategie innovative per il recupero funzionale del tessuto muscolare; (c) monitorare la risposta farmacologica e sviluppare strategie terapeutiche personalizzate durante la fase di riabilitazione di pazienti fragili oncologici.

Grazie alla collaborazione tra le varie unità operativa e con gruppi di ricerca ad esse afferenti, è stato reclutato un ampio numero di pazienti oncologici, i cui campioni biologici sono conservati presso la BioBIM dell'IRCCS San Raffaele e la cui disponibilità ha permesso l'esecuzione di alcuni studi specifici al fine di individuare patterns biomolecolari correlabili allo sviluppo di neoplasia, alle sue variabili clinico-patologiche o alla predittività della risposta al trattamento.

Per quanto riguarda il primo punto, sono stati eseguiti studi sull'instabilità dei microsatelliti nell'iniziazione e progressione del cancro al fine non solo di migliorare le conoscenze sulle basi molecolari dell'instabilità genetica in tumori gastrointestinali, ma anche di individuare parametri predittivi di progressione della malattia. Sono state, inoltre, eseguite: 1) analisi di associazione tra il gene BHD e la predisposizione al cancro; 2) analisi mutazionali del gene K-ras, con la dimostrazione sperimentale della possibilità di mutazioni concomitanti negli esoni 1 e 2 dell'oncogene; 3) analisi mutazionale del gene APC, con la dimostrazione sperimentale di una variante nell'esone 4 che non comporta splicing aberrante di APC, ma che potrebbe causare una erronea interpretazione dello screening molecolare di APC; 4) validazione di un nuovo approccio metodologico per discriminare la configurazione due alleli del gene MTHFR (cis o trans) e la loro influenza sui livelli circolanti di omocisteina.

Per quanto riguarda lo studio di marcatori biomolecolari correlati alle variabili clinico-patologiche, è proseguito lo studio dell'assetto pro-infiammatorio che caratterizza il paziente neoplastico, la cui natura e significato sono oggetto di studio in considerazione del ruolo che l'infiammazione gioca nel determinismo delle alterazioni metabolicofunzionali che accompagnano la progressione neoplastica ed influenzano la qualità di vita (QdV) del paziente oncologico. A questo proposito, sono molto promettenti alcuni risultati preliminari che dimostrano come la risposta infiammatoria dell'ospite alle cellule tumorali sia in grado di influenzare vari sistemi, in particolare quello emostatico-coagulativo, predisponendo il paziente all'insorgenza di tromboembolismo venoso (TEV), una delle cause principali di morbidità e mortalità nel paziente con cancro. A tale proposito, gli effetti dell'introduzione diagnostica di nuovi test coagulativi sono al momento in studio nei laboratori del DMLBA dell'IRCCS San Raffaele. I risultati fin qui ottenuti dimostrano che tali marcatori coagulativi potrebbero rappresentare uno strumento utile nel monitoraggio di individui a rischio, in cui un'anticipazione diagnostica e/o l'applicazione di eventuali programmi di tromboprofilassi potrebbero prevenire l'insorgenza di comorbidità e migliorare la qualità di vita di pazienti oncologici.

Per quanto riguarda, infine, il monitoraggio della risposta farmacologica e lo sviluppo di strategie terapeutiche personalizzate, il gruppo ha incentrato l'interesse sui polimorfismi del VEGF e sull'espressione fenotipica di questo importante fattore neoangiogenetico. In particolare, è stata effettuata un'analisi del ruolo dei polimorfismi della regione 5' UTR del promoter del VEGF nella predittività della risposta al trattamento con bevacizumab, un anticorpo monoclonale umanizzato anti-VEGF, in pazienti con carcinoma coloretale metastatico. I risultati ottenuti in questo ultimo studio sono di particolare interesse, in quanto rappresentano la prima dimostrazione sperimentale che il genotipo -1154 GG configura un rischio di progressione di malattia circa 4 volte supe-

riore rispetto ai genotipi GA+AA, probabilmente dovuto ad un'aumentata attività del promoter e conseguente iperproduzione di VEGF in pazienti con carcinoma coloretta-
le metastatico.

Ricerca indipendente con sponsorizzazione

Valutazione pre-clinica dell'espressione di ERCC1, BRCA1 e MMR1 in pazienti affetti da tumore del polmone non a piccole cellule per migliorare la risposta alla chemioterapia di I Linea

E' uno studio spontaneo no profit in collaborazione con l'Università degli Studi di Roma Tor Vergata concernente la valutazione/validazione di un test di biologia molecolare quale potenziale test diagnostico applicativo di laboratorio per il trattamento mirato e personalizzato di pazienti con carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC). Lo studio si pone all'interno di un progetto più ampio del Dipartimento che riguarda la determinazione di test per la valutazione dell'efficacia di trattamenti farmacologici e dei potenziali effetti tossici in modo predittivo con conseguente miglioramento della qualità di vita del paziente stesso e di una potenziale razionalizzazione dei costi da parte del SSN. Obiettivo primario dello studio è quello di ottimizzare la risposta alla chemioterapia di I linea in pazienti affetti da NSCLC, personalizzando il trattamento chemioterapico sulla base dei livelli somatici di espressione dei geni:

- ERCC1 [Excision-Repair Cross-Complementing 1, coinvolto nel meccanismo del Nucleotide Excision Repair (NER), ed i cui livelli influiscono sull'azione di composti a base di platino]
- BRCA1 [Breast cancer 1, un componente del sistema di riparo dei DSB (Double-Strand Breaks), la cui attività contrasta quella di agenti che danneggiano il DNA (cis-platino e bleomicina) e potenzia l'effetto dei farmaci antimicrotubulari (paclitaxel e vinorelbina)]
- RRM1 (Ribonucleotide Reductase 1, enzima coinvolto nella sintesi e nel riparo del DNA, la cui aumentata espressione è associata alla resistenza all'azione della gemcitabina), coinvolti nella riparazione del DNA. Sono stati reclutati presso l'unità di Oncologia Medica del Policlinico di Roma Tor Vergata 39 pazienti affetti da carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC). Sono stati considerati diversi criteri di inclusione quali la diagnosi istologica, lo stadio di avanzamento del tumore (IIIB e IV), l'età del paziente (18-75 anni), la presenza di lesioni misurabili in base ai criteri RECIST, la decorrenza da precedenti trattamenti di chemioterapia (almeno 12 mesi) o radioterapia (4 settimane). Biopsie polmonari ottenute da tutti i pazienti reclutati

sono state sottoposte ad estrazione dell'RNA, retrotrascrizione ed amplificazione mediante real-time PCR. La determinazione dei livelli di espressione dell'RNA messaggero dei diversi marker molecolari ha permesso di identificare livelli elevati di espressione di tutti e tre i geni in studio nel 54% dei pazienti, mentre bassi livelli di espressione dei 3 marcatori molecolari erano riscontrabili nel 8% dei casi. Nel rimanente 38% dei casi i livelli di espressione genica si alternavano in maniera variabile. Nel complesso, i risultati ottenuti hanno permesso di impostare un trattamento chemioterapico individualizzato per ogni paziente. Il follow-up clinico è tuttora in corso al fine di valutare gli effetti sulla risposta al trattamento (efficacia/tossicità). Lo studio è stato parzialmente sponsorizzato dalla ditta Sanofi-Aventis SpA a beneficio esclusivo della copertura delle spese aggiuntive derivanti dalla sperimentazione.

Valutazione/validazione di nuovi anticorpi monoclonali diretti contro antigeni tumore-associati

E' uno studio spontaneo no profit in collaborazione con l'Università degli Studi di Roma Tor Vergata e parzialmente sponsorizzato dalla ditta Neogenix Oncology Inc. a beneficio esclusivo della copertura delle spese aggiuntive derivanti dalla sperimentazione. Il progetto ha lo scopo di testare l'applicabilità diagnostica di alcuni anticorpi monoclonali (16C-3, e NPC-1C) in grado di riconoscere proteine specifiche (ad es. MUC5AC) che sono iper-esprese in alcuni tipi di tumori solidi. A tale scopo, nel corso dell'anno 2011 sono stati analizzati 376 campioni tissutali provenienti da pazienti con diversi tipi di tumore (colon-retto, stomaco, mammella) e 50 soggetti sani, di età compresa tra 32 e 83 anni, adeguatamente conservati nella BioBIM afferente al DMLBA dell'IRCCS San Raffaele Pisana. Su ogni campione sono stati eseguiti studi di immunoistochimica per la valutazione del pattern (citoplasmatica vs membranosa) e della intensità (debole vs. moderata vs. forte) di colorazione. I risultati ottenuti dimostrano che gli anticorpi NPC-1C e 16C3 riconoscono in maniera specifica gli antigeni bersaglio in percentuali elevate (70-80%) dei casi di carcinoma del colon-retto o gastrico. In particolare, l'espressione antigenica era di media ed alta intensità in circa il 40% e 60% dei casi, rispettivamente. Al contrario, nel caso del carcinoma della mammella l'antigene era espresso solo nel 23% dei casi. Questi dati preliminari sono stati presentati al Congresso Annuale dell'ASCO 2011 e suggeriscono che questi due anticorpi possono essere considerati come potenziali biomarcatori per la diagnosi e monitoraggio dei tumori gastrointestinali (J Clin Oncol, 2011).

RICERCA TRASLAZIONALE

Laboratorio di Neurobiologia Molecolare e Cellulare

Bando ISS-Istituzioni USA

Innovative immunotherapeutic strategies in Alzheimer's disease by intracellular antibody technology

La malattia di Alzheimer (MA) è la prima causa di demenza tra la popolazione anziana. Secondo l'ipotesi della "cascata amiloidogenica" il primo step nella patogenesi della MA è la generazione e l'accumulo del peptide beta amiloide (Abeta). Numerose evidenze sperimentali hanno dimostrato che l'accumulo intraneuronale degli oligomeri di Abeta rappresenta l'evento sinaptotossico per eccellenza. Questo evento precede la formazione di placche di Abeta extracellulare e si correla bene con lo sviluppo dei primi deficit cognitivi che caratterizzano la patologia. Di conseguenza, gli oligomeri intracellulari di Abeta sono degli importanti bersagli terapeutici per combattere la MA. Anche se non esistono ancora strategie profilattiche o terapeutiche efficaci contro la MA, negli ultimi anni l'immunoterapia si è dimostrato un approccio promettente. La maggior parte degli sforzi però si è finora concentrata sulla neutralizzazione o solubilizzazione delle fibrille di Abeta extracellulare mentre non sono ancora disponibili delle piattaforme terapeutiche per la neutralizzazione degli oligomeri intracellulari di Abeta. La tecnologia degli anticorpi intracellulari è una strategia "gene-based" che sfrutta la capacità delle forme anticorpali ricombinanti di riconoscere, in maniera altamente specifica, numerose conformazioni proteiche, inclusi gli oligomeri. Questa capacità, unita con la possibilità di essere veicolati verso differenti compartimenti subcellulari e quindi di bloccare o modulare la funzione di un target molecolare specifico, rendono gli anticorpi intracellulari una strategia unica per contrastare gli effetti neurotossici degli oligomeri intracellulari di Abeta. Inoltre, gli anticorpi intracellulari sono stati finora applicati con successo su diverse patologie neurodegenerative quali l'Huntington, il Parkinson e le malattie da prione.

L'obiettivo principale di questo progetto è quello di sviluppare nuove strategie immunoterapeutiche dirette contro le forme oligomeriche del peptide Abeta 1-42 utilizzando l'approccio degli anticorpi intracellulari ed ingegnerizzando gli stessi per veicarli verso i compartimenti subcellulari dove avviene la generazione e l'aggregazione dell'Abeta. Più specificatamente verranno realizzati i seguenti obiettivi specifici:

1. Generare anticorpi intracellulari specifici per le forme oligomeriche di Abeta 1-42 e diretti verso l'apparato secretorio ed i compartimenti sinaptici;
2. Caratterizzare le proprietà biochimiche e funzionali degli anticorpi intracellulari anti-Abeta 1-42 oligomerica utilizzando linee cellulari neuronali;
3. Determinare gli effetti sinapto- e neuroprotettivi degli anticorpi intracellulari anti-Abeta 1-42 oligomerica, veicolati mediante vettori adenovirali ricombinanti, utilizzando colture neuronali primarie trattate con l'Abeta 1-42 oligomerica.
4. Valutare in vivo gli effetti sinapto- e neuroprotettivi dei suddetti anticorpi utilizzando il modello murino di MA 5XFAD (mediante analisi biochimica e comportamentale).

Questo progetto permetterà di sviluppare una nuova strategia terapeutica specifica per le cosiddette malattie conformazionali, una classe di patologie in cui neutralizzare i conformeri tossici, mediante l'approccio degli anticorpi ricombinanti, sembra avere delle ottime prospettive future. Le conoscenze acquisite da questo studio permetteranno inoltre di sviluppare nuovi modelli in vitro ed in vivo per studiare la biologia dell'Abeta.

Laboratorio di Neurofisiologia Cellulare

Ministero della Salute-Bando Doping

Bando 2008 - Influenza sulle funzioni cellulari nervose e muscolari di dosi dopanti di EPO nell'uomo

L'eritropoietina umana ricombinante (EPO), una citochina ad attività eritropoietica, è una delle sostanze attualmente più studiate il cui impiego a basse dosi potrebbe portare notevoli benefici per la prevenzione e cura dei deficit neurologici in seguito a lesioni cerebrali di varia natura ed origine. Al contrario, questa sostanza usata a dosi dopanti nelle pratiche illecite sportive può avere effetti nocivi estremamente gravi per la salute dell'atleta. L'EPO riveste un ruolo importante nella fisiologia dell'eritropoiesi, è utilizzata in clinica per il trattamento di patologie anemizzanti, ed è usata nella sperimentazione clinica come neuroprotettivo ed anti-ischemico nonché è impiegata in pratiche dopanti (illecite) in numerose attività sportive dove è richiesta una attività fisica prolungata. Quando alte concentrazioni di EPO vengono somministrate sistematica-

mente, una bassa dose di EPO attraversa la barriera ematoencefalica, svolgendo un'azione neuroprotettiva a basse dosi nel liquor cefalorachidiano ma che diventa tossica nel caso si innalzino le concentrazioni. Lo studio dei meccanismi cellulari e molecolari alla base dell'effetto neuroprotettivo dell'EPO e degli effetti neurotossici in cellule del sistema nervoso centrale in seguito ad induzione del danno ischemico sono uno degli obiettivi principali del presente progetto. L'approccio metodologico per il raggiungimento di questo obiettivo consiste nello studio degli effetti di questa citochina attraverso tecniche di elettrofisiologia, di fisiologia cellulare e molecolare applicato a modelli sperimentali costituiti da colture neuronali primarie, da fettine cerebrali acute od organotipiche umane o da roditore, e da modelli di ischemia nell'animale adulto (roditori). L'uso di tecniche elettrofisiologiche è in particolare volto a definire la possibile modulazione di recettori per neurotrasmettitori in sistemi cellulari animali o in fettine di lobo temporale di cervelli umani provenienti da pazienti operati per epilessia del lobo temporale resistente al trattamento farmacologico e da pazienti affetti da gliomi profondi con rimozione di tessuto corticale apparentemente sano.

Bando 2009 - Studio degli effetti tossici dell'EPO sulla funzionalità nervosa e muscolare dell'uomo

L'Eritropoietina umana (EPO), una citochina ad attività eritropoietica, è stata usata finora a scopo dopante prevalentemente nelle discipline sportive di endurance per i suoi effetti di incremento della massa eritrocitaria. Le prestazioni in queste discipline, dipendenti dalle capacità di trasporto dell'ossigeno nel sangue, risultano infatti migliorate in misura notevole dalla sua somministrazione. La somministrazione di EPO è stata adottata anche in atleti di discipline anaerobiche la cui performance non è quindi strettamente dipendente da qualità aerobiche, ma piuttosto da qualità muscolari, meccaniche e metaboliche. L'utilizzo di EPO in atleti di discipline di forza o di potenza si basa sull'ipotesi che la molecola, oltre a migliorare il grado di ossigenazione tissutale, svolge a livello muscolare anche un'azione trofica. Mentre i meccanismi molecolari coinvolti nella sua attività eritropoietica sono ben definiti, gli effetti dell'EPO su cellule del sistema nervoso e muscolare sono oggetto di intensi studi, in particolare sulla azione neuroprotettiva in seguito a stati infiammatori ed ischemia cerebrale e su disordini neurologici quali il morbo di Parkinson, la schizofrenia e l'epilessia. Gli obiettivi principali del progetto sono stati: 1) verificare se dosi crescenti di EPO, dalle fisiologiche alle dopanti, possono influenzare le risposte di recettori GABA e di recettori per il glutammato

di tipo AMPA sia umani che animali; 2) analizzare il ruolo neuroprotettivo dell'EPO a dosi fisiologiche e la modificazione di tale ruolo a concentrazioni dopanti, in modelli in vitro di eccitotossicità da glutammato (Glu) e di privazione di ossigeno e glucosio; 3) studiare gli effetti dell'EPO sul trofismo muscolare con particolare riferimento ai processi di miogenesi. Lo studio è condotto in vivo e in vitro utilizzando come modelli sperimentali soggetti sani sedentari o moderatamente attivi e colture di cellule satellite umane ottenute da biopsie del tessuto muscolare.

Laboratorio di Nutrizione Umana

Progetti sponsorizzati da privati

Progetto PSR UMBRIA 2007-2013 ASSE 1 Misura 124 - Cooperazione per lo sviluppo dei nuovi prodotti, processi e tecnologie nei settori agricolo e alimentare e in quello forestale “Introduzione di processi di frangitura e di gramolazione innovativi con l'obiettivo di ottenere oli extravergini di oliva con più elevati potenziali salutistici e condimenti preparati con lo stesso olio addizionato di estratti di pomodoro (licopene) allo scopo di creare dei nuovi prodotti salutistici”.

Laboratorio di Biochimica dell'Invecchiamento

Bando Giovani Ricercatori 2008

Study of the role of S-nitrosoglutathione reductase (GSNOR) in neuronal homeostasis and its implication in Parkinson's disease etiopathogenesis.

L'ossido nitrico è una molecola radicalica prodotta dall'enzima NO sintasi (NOS). Ha un'emivita brevissima e i suoi effetti biologici sono mediati spesso dai suoi metaboliti. Ad esempio, l'NO può reagire rapidamente con le tirosine proteiche (nitrazione) con i gruppi sulfidrilici delle cisteine e formare S-nitrosotioili (nitrosilazione) o con l'ossigeno all'interno della cellula e generare perossinitrito (ONOO) e N₂O₃, molecole altamente reattive che appartengono alla classe delle specie reattive dell'azoto (RNS). Elevate concentrazioni di NO possono danneggiare i compartimenti cellulari, alterare l'integrità del DNA e la fisiologia del mitocondrio, determinando una riduzione significativa del consumo di ossigeno e danno ai complessi mitocondriali. Questa condizione è

spesso definita stress nitrosativo e, in questi ultimi anni, si sta delineando sempre più il ruolo della S-nitrosilazione quale mediatore principale della segnalazione NO-dipendente. La concentrazione di NO bio-attivo non è controllata soltanto a livello della sua sintesi, ma anche attraverso la modulazione della sua degradazione catalizzata dalla S-nitrosoglutatione reduttasi (GSNOR). La GSNOR, conosciuta anche come alcool deidrogenasi di classe III è un enzima conservato filogeneticamente, la cui funzione principale è quella di ridurre completamente l'S-nitrosoglutatione (GNSO). Dato che il GSNO è in equilibrio con i nitrosotoli (SNO) proteici, la GSNOR controlla indirettamente anche i livelli delle proteine nitrosilate. Nonostante la GSNOR sia l'unica isoforma di alcool deidrogenasi espressa nel cervello di uomo, ratto e topo, ancora non ci sono evidenze circa un suo possibile coinvolgimento nelle patologie neurodegenerative, specialmente nel morbo di Parkinson (PD) in cui invece è stata trovata una forte associazione tra accumulo di proteine nitrosilate e insorgenza/avanzamento della malattia.

Pertanto, in questo progetto di ricerca si intende indagare il ruolo della GSNOR nell'omeostasi neuronale e nell'eziopatogenesi del PD, utilizzando, quali sistemi sperimentali elettivi, topi mancanti del gene codificante la GSNOR (GSNOR-KO, o $Adh5^{-/-}$) o cellule da essi derivanti, quali neuroni corticali primari. I risultati ottenuti in questo anno depongono a favore di un ruolo fondamentale della GSNOR quale regolatore non solo della funzionalità del mitocondrio, ma anche della sua capacità di riconoscimento e inglobamento in struttura vescicolari (autofagosomi) per la rimozione attraverso l'autofagia. In particolare, i dati evidenziano come i mitocondri di cervello e fegato di topi GSNOR-KO siano fortemente depolarizzati e frammentati, condizione che si associa ad un basso consumo di ossigeno e ridotta produzione di ATP. Sebbene questa situazione permanga operativa negli organi di topi GSNOR-KO, i mitocondri non vengono rimossi e riciclati attraverso il processo dell'autofagia, ma rimangono circoscritti al nucleo. Nel ricercare le cause che caratterizzano molecularmente una tale disfunzione, son state riscontrate evidenze che confermano come parkina, una ubiquitina-E3 ligasi che, in seguito a depolarizzazione mitocondriale, trasloca sulla membrana esterna dei mitocondri e modifica diverse proteine al fine di rendere il mitocondrio "pronto" alla degradazione, viene nitrosilata e quindi inattivata. Questo evento ne determina la rilocalizzazione nel citosol e la mancata rimozione dei mitocondri danneggiati. Vi sono inoltre indicazioni circa il fatto che un blocco del genere è anche correlato con alterazioni della dinamica mitocondriale che sembrano molto pronunciati nel cervello, nel fegato e anche nel muscolo scheletrico dei topi GSNOR-KO. In particolare sono state ottenute evidenze che descrivono come le proteine che mediano la fissione (Drp1, Fis1) mito-

condirale siano notevolmente più espresse di quelle che ne mediano la fusione (OPA1). Al contempo, le proteine pro-autofagiche LC3-II e Atg7 aumentano in associazione alla proteina p62/SQSTM1. Essendo quest'ultima substrato degli enzimi lisosomiali, un simultaneo aumento di LC3-II, Atg7 e p62/SQSTM1 è un'indicazione tipica, e per noi anche una conferma, che il flusso autofagico sia bloccato. Sebbene questo fenotipo molecolare e cellulare non si manifesta in topi giovani (12 settimane) con alterazioni locomotorie significative, i topi KO mostrano chiari segni di cachessia (23.7 ± 0.5g vs. 20.6 ± 0.3g in topi WT contro topi GSNOR-KO; n = 9, p < 0.001), e assenza completa di grasso bianco, ricapitolando fedelmente il fenotipo di topi Atg7^{-/-}. Con l'avanzamento dell'età, invece, i topi GSNOR-KO mostrano difficoltà nella deambulazione con performance al rotarod test notevolmente diminuita (riding time: 181 ± 25sec vs. 78 ± 53sec in WT and GSNOR-KO; n = 12, *p < 0.044), segno di alterato equilibrio e probabile impairment nervoso.

Laboratorio di Patologia Molecolare e Cellulare

Ricerca Oncologia-Programma Integrato di Oncologia

Trapianto di cellule staminali emopoietiche allo geniche nella terapia delle emopatie maligne e delle neoplasie solide

Le cellule ematopoietiche staminali sono comunemente impiegate nel trattamento delle emopatie maligne e dei tumori solidi. Le tecniche di isolamento e manipolazione possono influenzare l'espressione genica e il differenziamento di questo tipo cellulare in modo non del tutto chiaro. In particolare, il destino delle cellule staminali dipende da diversi tipi di segnali che provengono dal microambiente (citochine, fattori di crescita, interazioni cellulari). L'ipossia rappresenta un altro fattore che influenza una risposta genica complessa mediata dal fattore trascrizionale HIF-1^α. Questa risposta include anche l'attivazione di NF-κB e l'espressione da parte delle cellule staminali di geni pro-infiammatori normalmente osservata nei leucociti. HIF1^α regola anche l'espressione di recettori quali RAGE, P2X7 e alcuni Toll-like che legano molecole extracellulari (HMGB1, ATP/ADP, ribosomi, acidi nucleici, parti di membrane cellulari) che sono rilasciati quando la cellula è danneggiata. Questi recettori attivano un signalling che potenzia l'azione di NF-κB. L'effetto dei sopraelencati fenomeni sull'efficienza e sulla sopravvivenza delle cellule staminali ematopoietiche non è attualmente noto. Una

conoscenza più approfondita di questi eventi e della loro relazione temporale potrebbe essere utile per fermare i processi di degradazione e per recuperare e riparare quelle cellule che sono parzialmente danneggiate. In questo modo sarebbe possibile aumentare la vitalità delle cellule staminali da trapiantare per una migliore riuscita del trapianto stesso.

Lo scopo del progetto è stato quello di studiare:

- Quale tipo di attivazione genica pro-infiammatoria è presente nelle cellule staminali, Th1 o Th2.
- Quale dei due è più importante per scopi terapeutici.
- Se è possibile, prima del trapianto controllare l'attivazione dei geni proinfiammatori nelle cellule staminali mediante trattamento con citochine.
- Come questa risposta infiammatoria possa influenzare il rigetto del trapianto.
- Come queste cellule possano essere danneggiate dall'attivazione del processo apoptotico. Se questo danno possa essere rallentato o riparato.

La risposta a tale quesiti può suggerire come manipolare il fenotipo della cellula staminale per prevenirne il rigetto.

Risultati:

- 1) Sono stati studiati gli effetti dell'ipossia sull'espressione di geni target di HIF-1. Ci si è concentrati sia su geni classici come VEGF che su altri recentemente dimostrati essere HIF-dipendenti come MMP9 e NOS2. Tramite RT-PCR HT si è osservato un aumento dei livelli di mRNA di VEGF dopo esposizione di cellule staminali emopoietiche a 2 ore di ipossia. Ugualmente, sempre dopo 2 ore di ipossia, si è osservato un incremento dei livelli di mRNA di MMP9 e NOS2. Il legame tra ipossia, attivazione di HIF-1 α e trascrizione di questi geni target è stato dimostrato utilizzando uno specifico inibitore dell'attività di HIF-1 α chiamato Chetomin. Il chetomin durante il trattamento ipossico inibisce l'incremento dei livelli di mRNA di VEGF, MMP9 e NOS2. Inoltre si è osservato che l'ipossia determina sia un incremento della maggior parte dei geni pro-infiammatori studiati, sia un variazione del sistema CXCR4/CXCR4. Sono stati ottenuti dei cloni cellulari stabilmente silenziati per HIF-1 α in cui è stata confermata la forte diminuzione di espressione dei geni in questione. La maggiore espressione di CXCR4 nelle cellule emopoietiche aumenta la loro capacità di invasione e migrazione in presenza del rispettivo ligando, SDF-1 α . Inoltre l'inibizione sia di HIF-1 α (Chetomin) che di NF-kB (Partenolide) riduce fortemente l'invasione delle cellule in ipossia, indicando che tale recettore è sotto il doppio controllo di HIF-1 α e di NF-kB.

- 2) Le cellule staminali emopoietiche sono state trattate con citochine Th1 o Th2 e i livelli di espressione dei geni pro-infiammatori misurati tramite RT-PCR HT. Si è osservato che il mRNA del recettore di danno RAGE risulta down-regolato dalle citochine Th1 e up-regolato da quelle Th2. Un andamento simile è stato osservato per il mRNA dell'enzima inducibile NOS2 e per la superossido dismutasi SOD2. Al contrario, il recettore di danno P2X7R e i recettori Toll-like (TLR2, 3 e 4) risultavano inibiti sia da citochine Th1 che da Th2. Tuttavia, l'inibizione nell'espressione del mRNA era più marcata durante il trattamento con le citochine Th1 che Th2. Interessante è stata l'osservazione che i livelli di mRNA di due molecole di adesione, selectina E e la molecola di adesione intracellulare 1 (ICAM 1), risultano incrementate solo dopo trattamento con citochine Th2.
- 3) I risultati ottenuti hanno messo in evidenza il ruolo centrale della popolazione mitocondriale nel processo apoptotico delle cellule ematopoietiche staminali. Infatti, tramite il colorante mitocondriale JC1 si è osservato, in presenza di staurosporina, una rapida diminuzione del potenziale di membrana mitocondriale seguita da rilascio del citocromo c e attivazione della caspasi-3. A monte di tutto ciò si è osservata una ridotta fosforilazione e quindi ridotta attivazione delle chinasi AKT e ERK. Infine, il ruolo fondamentale di tali chinasi per la sopravvivenza cellulare è stato indagato usando sia attivatori di tali chinasi (IGF-1) che inibitori (H5 per AKT e PD98059 per ERK). Si è osservato che un'attivazione di AKT e ERK risulta aumentare la sopravvivenza cellulare, mentre, al contrario un'inibizione diminuisce tale sopravvivenza. In ipossia i processi di morte cellulare attivati sono necrosi e autofagia. L'attivazione dell'autofagia in cellule differenziate e staminali è stata misurata tramite Western blot per LC3. L'induzione dell'apoptosi è stata invece ottenuta tramite trattamento con staurosporina 0.5 M. I livelli di Bax e Bad per le proteine pro-apoptotiche e di Bcl-2 per le anti-apoptotiche sono stati misurati tramite Western blot. Il trattamento delle cellule staminali emopoietiche con citochine Th2 è risultato ridurre la percentuale di apoptosi incrementando i livelli di Akt e ERK1/2 chinasi. L'aumento di attività di tali chinasi è a sua volta importante poiché contribuisce a fosforilare e inattivare la proteina pro-apoptotica Bad.

COMITATO ETICO
E CLINICAL TRIAL CENTER

Nel 2011 il Comitato Etico ha espresso parere sulle ricerche presentate, riportate nella tabella che segue:

CLINICAL TRIAL	TOTALI	IN CORSO
Clinical trial sponsorizzati	7	34
Protocolli interni spontanei/No profit DM 17/12/2004	2	9
Studi osservazionali	9	14
Altre ricerche Ex art. 56, corrente, dispositivi medici	1	8

Il Clinical Trial Center nel 2011 ha presentato nuovi trials clinici sponsorizzati, ma anche studi di ricerca sui farmaci indipendenti (secondo il DM del 17/12/2004) e studi osservazionali. A seguire sono riportati i clinical trial sponsorizzati per area di ricerca.

Area di Ricerca Parkinson e Disturbi del Movimento

Trial Clinici Sponsorizzati:

- S187.3.004 Studio in aperto, di 12 mesi sull'efficacia e la sicurezza di Levodopa Carbidopa Gel Intestinale in Soggetti rispondenti a Levodopa con Malattia di Parkinson in stadio avanzato e gravi fluttuazioni motorie nonostante il trattamento ottimizzato con i Farmaci disponibili per la Malattia di Parkinson.
Sponsor: Abbott Healthcare Products B.V.
- ACP-103-015 Studio di estensione multicentrico, in aperto per esaminare la sicurezza e la tollerabilità di ACP-103 nel trattamento della psicosi nella Malattia di Parkinson.
Sponsor: Acadia Pharmaceuticals Inc.
- S308.2.008 Studio pilota multicentrico, randomizzato, in doppio cieco con controllo a Pramipexolo, per determinare l'efficacia e la sicurezza di Pardoprinox come terapia aggiuntiva a L-dopa nel trattamento di pazienti Parkinsoniani con fluttuazioni motorie e discinesia.
Sponsor: Solvay Pharmaceuticals
- 28850 Studio in aperto per determinare la sicurezza a lungo termine di Safinamide in pazienti affetti da Malattia di Parkinson.
Sponsor: Merck Serono SA
- TVP-1012/501 (ADAGIO Follow Up) Studio multicentrico, in aperto, di follow-up, per valutare gli effetti del trattamento a lungo termine con Azilect in soggetti affetti da malattia di Parkinson che abbiano partecipato allo studio ADAGIO.
Sponsor: Teva Pharmaceutical Industries Ltd
- 27938 Studio di estensione di fase III, in doppio cieco, controllato con placebo per valutare l'efficacia e la sicurezza a lungo termine di un dosaggio ridotto (50 mg/die) ed elevato (100 mg/die) di safinamide, come terapia aggiuntiva, in soggetti con Malattia di Parkinson idiopatica in fase precoce trattati con un dosaggio stabile di un singolo agonista di dopamina.
Sponsor: Merck Serono SA

- MSA-RAS-202 Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo per valutare l'efficacia, sicurezza e tollerabilità di rasagilina mesilato 1 mg in soggetti affetti da Atrofia Multisistemica sottotipo parkinsoniano (AMS-P).
Sponsor: Teva Pharmaceutical Industries Ltd
- IPX066-B09-06 Studio comparativo tra IPX066 e Carbidopa/Levodopa/Entacapone (CLE) nella malattia di Parkinson allo stadio avanzato.
Sponsor: Impax Laboratories Inc
- CAFQ056A2217 Studio in aperto per la valutazione della sicurezza, della tollerabilità e dell'efficacia di AFQ056 in pazienti con malattia di Parkinson con discinesie indotte dalla L-dopa.
Sponsor: Novartis Farma SpA
- PO5664 Studio di fase III, in doppio-cieco, controllato con farmaco attivo e con placebo, di definizione della dose sull'efficacia e la sicurezza di praladenant in soggetti affetti da malattia di Parkinson iniziale.
Sponsor: Schering Plough Research Institute
- PO4938 Studio di fase III, in doppio-cieco, double dummy, controllato con farmaco attivo e con placebo, della durata di 12 settimane sull'efficacia e la sicurezza di praladenant in soggetti affetti da malattia di Parkinson di grado da moderato a grave.
Sponsor: Schering Plough Research Institute
- PO6153 Studio di fase III, di estensione, in doppio-cieco, double dummy, controllato con farmaco attivo e della durata di 40 settimane di praladenant in soggetti affetti da malattia di Parkinson di grado da moderato a grave (Fase III, n. di protocollo PO6153).
Sponsor: Schering Plough Research Institute

Protocolli interni spontanei:

- Ropinirolo a rilascio prolungato e fluttuazioni motorie: studio per valutare il fenomeno del wearing off indotto dai dopamino agonisti a breve emivita.

Studi Osservazionali:

- DEEP CELC200AIT02 CELC200AIT03 Valutazione precoce del fenomeno di fine dose o wearing off nella Malattia di Parkinson.
Sponsor: Novartis Farma SpA
- SP0990 Studio prospettico, non interventistico sulla prevalenza Incidenza dei disturbi del Controllo degli impulsi e l'Associazione di sintomi neuropsichiatrici, processi cognitivi e qualità della vita nel Morbo di Parkinson - ICARUS.
Sponsor: UCB Pharma SpA
- 13842A Studio Epidemiologico Trasversale per valutare e descrivere il sintomo fatica in pazienti affetti da Malattia di Parkinson in Italia - Studio FORTE.
Sponsor: Lundbeck Italia SpA
- AVIRR-PD Fattori predittivi nello sviluppo della Malattia di Parkinson: analisi della variabilità dell'intervallo cardiaco R-R in familiari di pazienti affetti.
- FARIF-PD Studio caso-controllo sui fattori di rischio familiari e diagnosi precoce della malattia di Parkinson.

Altre ricerche:

- Protocollo per uso compassionevole di Safinamide (NW-1015).

Area di Ricerca Cefalea e Dolore Neuropatico

Trial Clinici Sponsorizzati:

- GAL-ALZ-3005 Studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, del trattamento a lungo termine (2 anni) con galantamina nella malattia di Alzheimer da lieve a moderata.
Sponsor: Janssen-Cilag International NV
- A0081186 Studio di 12 mesi, randomizzato, in doppio cieco, sull'impiego di Pregabalin in soggetti con sindrome delle gambe senza riposo.
Sponsor: Pfizer Inc
- MK0462-082-00 Studio clinico internazionale, randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo e a gruppi paralleli, per valutare la sicurezza e l'efficacia di Rizatriptan per il trattamento dell'emicrania in fase acuta in bambini ed adolescenti.
Sponsor: Merck Sharp & Dohme Corporation
- RGB113905 Studio in aperto, a dose flessibile, su retigabina a rilascio immediato come terapia aggiuntiva ad una specifica monoterapia con trattamenti antiepilettici, in paziente adulti con crisi parziali.
Sponsor: GlaxoSmithKline Research & Development Limited
- 113077 (ZOSTER-022) Studio clinico di fase III, randomizzato, con osservatore in cieco, controllato con placebo, multicentrico, per valutare l'efficacia profilattica, la sicurezza e l'immunogenicità del vaccino gE/AS01B di GlaxoSmithKline (GSK) Biologicals, somministrato per via intramuscolare con schedula a 0 e 2 mesi a soggetti adulti di 70 anni di età ed oltre.
Sponsor: GlaxoSmithKline Biologicals sa
- 110390 (ZOSTER-006) Studio clinico di fase III, randomizzato, con osservatore in cieco, controllato con placebo, multicentrico, per valutare l'efficacia profilattica, la sicurezza e l'immunogenicità del vaccino gE/AS01B di GlaxoSmithKline (GSK) Biologicals, somministrato per via intramuscolare con schedula a 0 e 2 mesi a soggetti adulti di 50 anni di età ed oltre.
Sponsor: GlaxoSmithKline Biologicals sa

- RTG113413: Studio Multicentrico, in aperto, a lungo termine, sulla sicurezza e tollerabilità di retigabina a rilascio immediato in pazienti adulti con crisi epilettiche parziali (estensione dello studio RGB113905).
Sponsor: GlaxoSmithKline Research & Development Limited

Area di Ricerca Riabilitazione Cardiovascolare - Scienze Internistiche

Trial Clinici Sponsorizzati:

- CL3-16257-083 SIGNIFY dal titolo: Effects of ivabradine in patients with stable coronary artery disease without clinical heart failure. A randomised double-blind placebo-controlled international multicentre study.
Sponsor: Institut De Recherches Internationales Servier (IRIS)
- CL2-44121-003 Valutazione degli effetti di 4 dosaggi orali di S44121 verso placebo sulla funzione cardiaca e sul parametro NT-proBNP in pazienti con scompenso cardiaco cronico e disfunzione ventricolare sinistra. Studio della durata di 12 settimane, randomizzato, in doppio cieco, a gruppi paralleli, controllato verso placebo, internazionale e multicentrico.
Sponsor: Institut De Recherches Internationales Servier (IRIS)
- CL2-44121-004 Valutazione degli effetti di 4 dosaggi orali di S44121 verso placebo sulla funzione cardiaca e sul parametro NT-proBNP in pazienti con scompenso cardiaco cronico e disfunzione ventricolare sinistra non trattati con beta-bloccanti. Studio della durata di 12 settimane, randomizzato, in doppio cieco, a gruppi paralleli, controllato verso placebo, internazionale e multicentrico.
Sponsor: Institut De Recherches Internationales Servier (IRIS)
- 14836 Studio controllato verso placebo, randomizzato, in doppio cieco, a dose fissa, multicentrico, di fase IIb per valutare l'efficacia e tollerabilità di Bay 58-2667 (50 µg/h, 100 µg/h, 150 µg/h) somministrato per via endovenosa, a pazienti con insufficienza cardiaca congestizia cronica scompensata da un evento acuto (ADHF) entro 12 ore dopo il ricovero in Ospedale. (Cateterismo Swan-Ganz non è richiesto).
Sponsor: Bayer HealthCare AG
- CL3-05985-018 Strategie anti-ipertensive Perindopril versus Valsartan/Amlodipina: efficacia e sicurezza in pazienti con ipertensione da lieve a moderata. Studio randomizzato, in doppio cieco, della durata di 6 mesi seguito da 8 mesi di follow-up in aperto con Perindopril arginina/Amlodipina.
Sponsor: Institut De Recherches Internationales Servier (IRIS)

- TAK-491CLD_307 Studio di fase 3, randomizzato, in doppio cieco, per la valutazione dell'efficacia e della sicurezza delle associazioni a dose fissa TAK-491 più clortalidone (40/12,5 mg e 40/25 mg) in pazienti affetti da ipertensione essenziale di grado 2 o 3, che non raggiungono la pressione sanguigna target con TAK-491 40 mg in monoterapia.
Sponsor: Takeda Global Research & Development Centre (Europe) Ltd (TGRD)
- CSPP100E2337 Studio randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo, a gruppi paralleli per determinare se aliskiren, aggiunto alla terapia convenzionale in pazienti con diabete mellito di tipo 2 e a rischio elevato di eventi cardiovascolari e renali, può ridurre la morbilità e la mortalità cardiovascolare e renale.
Sponsor: Novartis Farma SpA
- CLCZ696B2314 Studio multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, a gruppi paralleli, con controllo attivo per valutare l'efficacia e la sicurezza di LCZ 696 in confronto a Enalapril su morbilità e mortalità in pazienti con insufficienza cardiaca cronica e ridotta frazione di eiezione.
Sponsor: Novartis Farma SpA
- BI 1235.33 Studio prospettico in aperto, volto a valutare l'efficacia di Telmisartan/Amlodipina in un'unica pillola, in pazienti affetti da ipertensione essenziale non controllata dal precedente trattamento con inibitori del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterone in monoterapia. TEAMSTA - switch.
Sponsor: Boehringer Ingelheim

Area di Ricerca Approcci di sistema e malattie non trasmissibili

Trial Clinici Sponsorizzati:

- HZC102871 Studio di efficacia e tollerabilità della durata di 52 settimane per confrontare l'effetto di tre dosaggi di Fluticasone Furoato/GW642444 polvere per inalazione verso GW642444 sull'incidenza di riacutizzazioni in soggetti con broncopneumopatia cronico-ostruttiva (BPCO).
Sponsor: GlaxoSmithKline Research & Development
- PIRRI/CT/001 (Aiace) Somministrazione sublinguale di un lisato batterico polivalente (PMBL) in pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva moderata, grave o molto grave, come definita dalla classificazione GOLD: uno studio controllato di fase IV in doppio cieco, randomizzato, multicentrico internazionale.
Sponsor: Lallemand Pharma International
- CCD-0910-PR-0021 Studio di 12 settimane, multicentrico, multinazionale, randomizzato, in doppio cieco, double-dummy, a due gruppi paralleli per comparare l'efficacia e la sicurezza del Foster 100/6 (beclometasone dipropionato 100 µg piu' formoterolo 6 µg/dose) 2 spruzzi b.i.d., nei confronti di Seretide 500/50 (fluticasone 500 µg piu' salmeterolo 50 µg/dose), 1 inalazione b.i.d., in pazienti con BroncoPneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO).
Sponsor: Chiesi Farmaceutici SpA
- CQAB149B2348 Studio multicentrico di fase IIIB, randomizzato, in doppio cieco, doppio placebo, a gruppi paralleli, della durata di 52 settimane, per valutare l'efficacia di indacaterolo (150 µg o.d.) rispetto a tiotropio (18 µg o.d.) sulla funzione polmonare, sulla percentuale di riacutizzazioni e sui relativi outcomes in pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO).
Sponsor: Novartis Farma SpA
- BI 205.452 Studio multicentrico, randomizzato in doppio cieco, doppio fittizio, a gruppi paralleli, verso controllo attivo, volto a valutare l'efficacia e la sicurezza di Tiotropio ai dosaggi 2.5 o 5 microgrammi, in soluzione inalatoria, somministrato con

dispositivo Respimat in confronto a Tiotropio al dosaggio 18 microgrammi, in capsule per inalazione, somministrato con dispositivo HandiHaler.

Sponsor: Boehringer Ingelheim

Protocolli interni spontanei:

- OCK2 Studio clinico sulla somministrazione di Eparina sodica non frazionata nebulizzata in pazienti con BPCO in fase stabile.

Studi Osservazionali:

- REG.I.RE Studio Osservazionale trasversale per la valutazione dei dati epidemiologici di prevalenza ed incidenza dell'insufficienza respiratoria finalizzati alla corretta programmazione sanitaria ed all'ottimizzazione dell'impiego delle risorse economiche per il trattamento della malattia.
- ARC213 Studio Osservazionale sull'appropriatezza Terapeutica dei pazienti con BPCO MODerata (Studio OPTIMO).

Area di Ricerca Diagnostica per Immagini

Altre ricerche:

- MPCIS Indicatori biologici, radiologici e clinici associati alla sindrome clinicamente isolata e predittivi della conversione a sclerosi multipla: studio prospettico multiparametrico. MPCIS.

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 in Psicologia della Salute

Tirocinio Terapisti Occupazionali

Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"

Scuola di Specializzazione in Medicina Fisica e Riabilitazione

Scuola di Specializzazione in Geriatria

Convenzione per il tirocinio prativo per gli studenti che frequentato il Corsi di Laurea Magistrale Biotecnologie Industriali della Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali della Scuola Istruzione a Distanza-laD al fine di completare il percorso formativo accademico dei tirocinanti e di agevolarne la scelta professionale

Università Campus Biomedico

Scuola di Specializzazione in Neurologia

Scuola di Specializzazione in Radiodiagnostica

Università LUMSA

Master in Neuropsicologia

Libera Università degli Studi di Scienza Umane e Tecnologiche (LUDES)

Tirocinio di Formazione per i Fisioterapisti

Seconda Università degli Studi di Napoli

Facoltà di Psicologia

Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

Centro Interuniversitario IRIDE.

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

Facoltà di Scienze della Formazione

Altri Istituti

Istituto di Formazione in Analisi Transazionale, Istituto Auximon

Istituto Walden Associazione Italiana di Psicologia e Terapia Cognitivo Comportamentale

Scuola Internazionale di Ricerca e Formazione in Psicologia Clinica e Psicoterapia Psicoanalitica - S.I.R.P.I.D.I.

Centro Italiano di Psicologia Analitica - C.I.P.A

Scuola di Psicoterapia Strategica Integrata Seraphicum (SCUPSIS)

Istituto di Terapia Relazionale Integrata (ITRI)

Centro Studi Martha Harris (Psicoterapia Psicoanalitica, Modello Tavistock)

Istituto Italiano Psicoterapia Relazionale (I.I.P.R.)

Scuola Italiana di Ipnosi e Psicoterapia Ericksoniana (S.I.I.P.E.)

Scuola di Analisi Transazionale (SIFP)

Lo spazio psicoanalitico

Scuola Superiore di Specializzazione in Psicologia Clinica _SSSPC Università Pontifica Salesiana

Engim San Paolo

IDI - Istituto Dermopatico dell'Immacolata

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 "La 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 degli Studi di Roma "Tor Vergata":

Dipartimento di Medicina Interna nei settori della:

Cardiologia, con particolare riguardo alla diagnosi e cura dell'ipertensione arteriosa e allo studio del valore predittivo e diagnostico dei marker di funzione cardiovascolare

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

Ricerca specifica sul tema degli effetti metabolici ed autonomici del training fisico in pazienti cardiopatici anziani e con ridotta tolleranza allo sforzo.

Dipartimento di Biologia, Accordo di collaborazione scientifica sui meccanismi molecolari dell'invecchiamento.

Dipartimento di Neuroscienze.

Politecnico di Milano

Dipartimento di Bioingegneria, Collaborazione nel settore della valutazione funzionale e della riabilitazione motoria. Sviluppo dell'attività clinica e di ricerca dei laboratori di analisi della postura e del movimento.

Dipartimento di Chimica, Materiali ed Ingegneria Chimica "G. Natta" per la realizzazione di attività di ricerca, studio e formazione nel campo delle biotecnologie e di biomarker discovery.

Università Magna Grecia di Catanzaro

Attivazione progetti di ricerca nei seguenti campi: Area farmacologia di base, molecolare e clinica; area tossicologia; area chimica farmaceutica

Università degli Studi di Foggia

Dipartimento Scienze Biomediche, Accordo di collaborazione Scientifica per la realizzazione di attività di ricerca, studio e formazione nel campo della medicina riabilitativa

Collaborazioni internazionali

Imperial College of Science, Technology and Medicine, Londra, UK - Laboratorio di Fisiologia Vascolare comune e progetti di ricerca sugli effetti cardiovascolari degli ormoni.

Instrumentation Laboratori, Delaware, USA - Clinical Evaluation Program Agreement

Division of Cardiology, Department of Internal Medicine, Jikei University Tokio, Giappone - Collaborazione studi su recettori mineralocorticoidi.

Musashino Medical Center, University Tokio, Giappone - Collaborazione scientifica in ambito cardiovascolare.

Molecular Cardiovascular Research Institute-Tufts Medical Center, Boston, USA - Collaborazione per ricerca cardiovascolare.

Applied Cachexia Research, Charite Universitätsmedizin, Campus Virchow-Klinikum, Berlin-Germany - Collaborazione per ricerca cardiovascolare.

Neogenix Oncology Inc, Rockville Maryland, USA - Accordo di collaborazione ricerca.

University of Oxford - Accordo per la conduzione delle attività scientifiche per lo sviluppo di laboratori per studi di genomica funzionale di BPCO in area predittiva, preventiva e personalizzata delle pratiche mediche e riabilitative.

Diabetes Research Institute, University of MIAMI - Accordo di collaborazione scientifica per la ricerca e cura del diabete.

Plant Product and Human Nutrition Group, Institute of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow.

Institute for Molecular and Translational Therapeutic Strategies (IMTTS), Hannover Medical School, Germany.

University of Barcellona, Cooperation in collaborative research in the field of home care assistance and services (through tele-assistance and tele-rehabilitation) and systems biology of COPD.

SERVIZI BIBLIOTECARI

La biblioteca, specializzata nell'ambito biomedico ed economico-sanitario, collabora attivamente con tutte le biblioteche del proprio ambito disciplinare sul territorio nazionale. Partecipa all'Organizzazione delle biblioteche scientifiche promossa e finanziata dal Ministero della Salute (Bibliosan), al Catalogo Nazionale dei Periodici (ACNP) e al sistema per lo scambio di documenti NILDE e al Gruppo Italiano Documentalisti dell'Industria Farmaceutica e degli Istituti di Ricerca Biomedica (Gidif-Rbm).

I servizi bibliotecari si concretizzano nel reperimento di documenti non presenti in biblioteca, consulenza bibliografica, presentazione e guida all'uso di cataloghi, banche dati, riviste elettroniche, internet, riproduzione del materiale cartaceo e elettronico presente nonché archiviazione e consultazione della produzione scientifica dell'Istituto dal 1999 ad oggi.

A disposizione degli utenti si trovano anche i seguenti strumenti, materiali e risorse: banche dati: PubMed + LinkSource, Cinahl, Journal Citation Reports, Web of Science, BMJ BestPractice, Cochrane Library, ProQolid, Proquest, Biology Image Library (BioMedCentral), F1000 Medicine e F1000 Biology, OECD;

inoltre, più di 7.000 periodici scientifici di editori quali Elsevier ScienceDirect, Wiley, Nature, Springer ma anche New England Journal of Medicine, Stroke, Blood, Science e i più importanti periodici italiani d'ambito medico-sanitario: Assistenza Infermieristica e Ricerca, Educazione Sanitaria & Promozione della Salute, Sole 24 Ore Sanità, Mecosan, Medicina e Morale, Organizzazione Sanitaria, Panorama della Sanità, Psicoterapia cognitiva e comportamentale, Sanità Pubblica e Privata, Tecnica Ospedaliera etc.

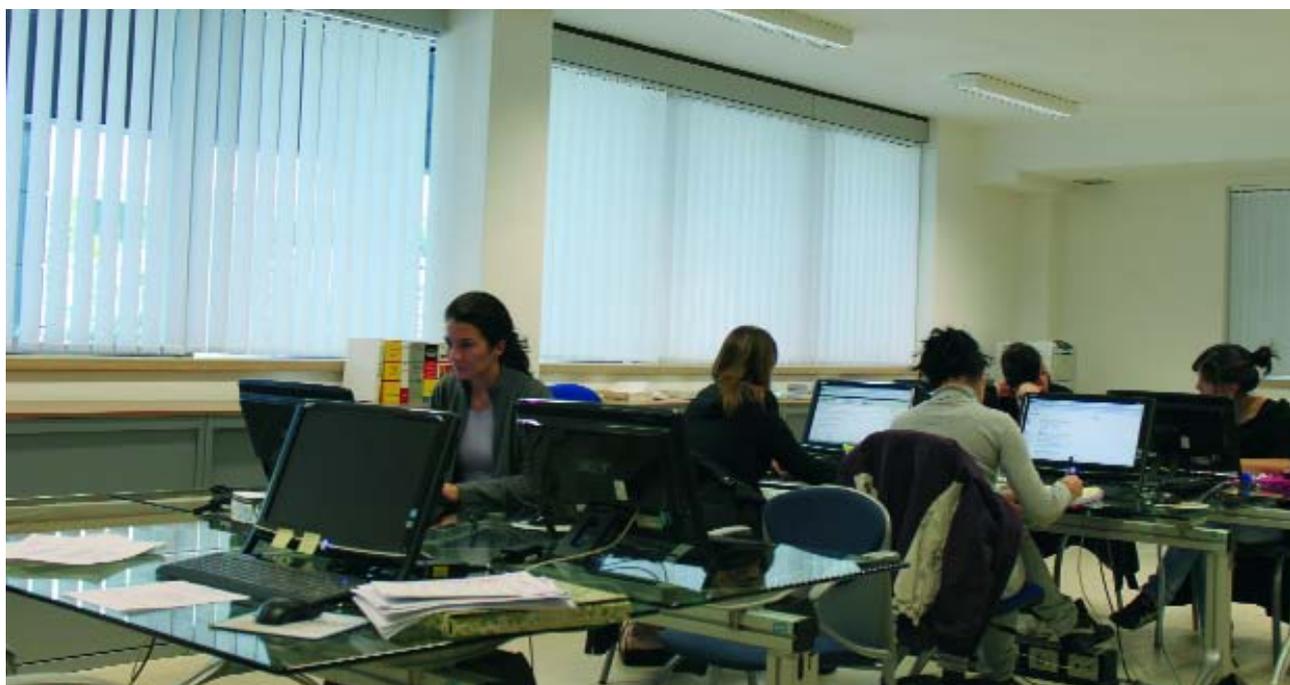
Tutti gli anni di periodici cartacei correnti e/o interrotti sono esposti a scaffale aperto e liberamente consultabili unitamente ad enciclopedie, dizionari, repertori;

strumenti per la gestione delle bibliografie (RefWorks);

oltre 1.000 testi di ambito clinico, sanitario e scientifico.

Le risorse sono accessibili a distanza, dall'interno dei computer della rete aziendale e da remoto.

Sul portale istituzionale www.sanraffaele.it, è presente una area dedicata ai servizi e alle risorse della biblioteca: <http://www.sanraffaele.it/contenuti/37/biblioteca>.



Biblioteca.

SCUOLE UNIVERSITARIE
E UNIVERSITÀ TELEMATICA

Scuole Universitarie

Nell'Anno Accademico 2011/2012 in collaborazione con l'Università degli studi di Roma "La Sapienza, sono stati attivati i seguenti corsi:

Corso di Laurea in Scienze Infermieristiche

Presidente Prof. Elisa Petrangeli

Vicepresidente Luca Poli

Corso di Laurea in Fisioterapia

Presidente: Vittorio Di Piero

Vice Presidente: Prof. Giuseppe Bruno

Università Telematica San Raffaele Roma

L'Università Telematica San Raffaele Roma, istituita con decreto del Ministro dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca dell'8 maggio 2006, è un Ateneo non statale, legalmente riconosciuto, che rilascia titoli di studio con valore legale in Italia e nell'Unione Europea. L'offerta didattica è erogata in modalità e-learning, attraverso l'utilizzo di internet e delle nuove tecnologie digitali. Gli studenti possono pertanto accedere alla piattaforma didattica in qualsiasi momento ed in qualsiasi luogo; anche coloro che per ragioni fisiche, geografiche o lavorative ne sarebbero esclusi. La lezione ex cathedra viene in sostanza sostituita da lezioni registrate e disponibili on line 24 ore su 24 e integrata con specifico materiale didattico: slide, materiale illustrativo, problemi e discussioni in linea. Le lezioni online sono integrate da attività seminariali e di laboratorio. Le prove finali relative ad ogni insegnamento sono da sostenersi in modalità frontale. Il corpo accademico, altamente qualificato, è composto da docenti ed esperti di chiara fama nazionale e internazionale, garantendo un alto livello qualitativo dell'insegnamento. L'efficacia del percorso didattico è garantita dalla presenza di tutor, figure adeguatamente formate per assicurare il proprio sostegno e supporto dal punto di vista della didattica, del metodo di studio, della tecnologia, dell'orientamento universitario e professionale e della spinta motivazionale. Grazie agli strumenti telematici i docenti e i tutor sono a disposizione degli studenti in qualsiasi momento per rispondere a domande e fornire chiarimenti. I corsi di laurea dell'Università Telematica San Raffaele Roma sono legati ai settori in cui il primato dell'industria italiana è testimoniato dall'alto livello qualitativo raggiunto dal "Made in Italy" ed è riconosciuto a livello internazionale: il design e la moda, l'alimentazione, lo sport. Il rapporto vitale con i settori industriali e sportivi di riferimento garantisce agli studenti una relazione proficua con il mondo produttivo e il mercato del lavoro anche attraverso la possibilità di accedere a stage professionalizzanti nelle realtà più qualificate. Esperti e professionisti del mondo dell'industria e dello sport assicurano un percorso di studio che valorizza l'apprendimento teorico e la formazione pratica.

L'offerta didattica dell'Università Telematica San Raffaele Roma, si articola in tre Facoltà per altrettanti corsi di laurea. In particolare:

1. Facoltà di Scienze Motorie - Scienze delle attività motorie e sportive

Il corso ha l'obiettivo di fornire competenze specifiche relative alla comprensione, alla conduzione e alla gestione di attività motorie a carattere educativo, adattativo, ludico o sportivo, finalizzandole allo sviluppo, al mantenimento e al recupero delle capacità motorie e del benessere psicofisico a esse correlato. I settori scientifici attivati all'in-

terno della laurea di primo livello tendono a dare una preparazione bilanciata dei tre aspetti professionali preminenti: educativo e rieducativo, sportivo e organizzativo-gestionale.

2. Facoltà di Agraria - Scienze dell'Alimentazione e della Gastronomia

Il corso si propone di formare una nuova figura professionale in grado di gestire tutti gli aspetti che riguardano la produzione ed il consumo del cibo, da quelli igienico-sanitari a quelli giornalistici e culturali; una figura poliedrica che sappia coniugare le conoscenze tecniche e scientifiche con quelle umanistiche, economiche e giuridiche; un professionista in grado di affrontare con competenza e creatività le sfide del settore alimentare del XXI secolo.

3. Facoltà di Architettura e design industriale - Moda e design industriale.

Il corso triennale è progettato per la fruizione in e-learning e concepito sulle esigenze del Sistema Moda/Design per rispondere alle nuove competenze, richieste dal mercato di domani, nei ruoli progettuali e di management creativo. L'offerta formativa post lauream, invece, si articola attualmente in Master di primo e secondo livello e Corsi di Perfezionamento.

La sede legale dell'Ateneo è sita a Roma, in via Val Cannuta, 247, all'interno del complesso della San Raffaele SpA, società che detiene la maggioranza delle quote dell'ente promotore dell'Università. Gli spazi complessivamente disponibili hanno una superficie totale di circa 1.800 metri quadrati divisi tra spazi per la didattica per gli studenti, per i laboratori e per la ricerca e per gli uffici amministrativi. La sede periferica di Milano, seconda sede d'esami dell'Ateneo, è sita in Via Francesco Daverio, 7 e dispone di aule, laboratori ed uffici amministrativi.

Inoltre, a breve si prevede l'istituzione di un Polo didattico nella città di Catania.

L'infrastruttura telematica ad uso degli studenti e del personale di Ateneo, si articola in quattro strumenti principali: le piattaforme didattiche, la segreteria didattica on-line, il servizio di posta elettronica e il sito internet d'Ateneo.

La piattaforma utilizzata per la quasi totalità delle attività didattiche di Unisanraffaele è una personalizzazione di Moodle (Modular Object-Oriented Dynamic Learning Environment, vedasi il sito ufficiale www.moodle.org), un sistema in grado di recepire contenuti didattici che prevede il tracciamento delle attività per garantire il rispetto di quanto prescritto dalla normativa universitaria in merito all'obbligo della frequenza. Le principali tipologie di contenuto didattico utilizzate dall'Università sono: (a) le videolezioni, nella forma di lezioni frontali in cui è presente sia l'immagine del docente che la presentazione PowerPoint. Il video della lezione è sincronizzato con le diapositive le

quali sono titolate e permettono di spostarsi da un punto all'altro della lezione; (b) le audio-lezioni nella forma di slide commentate da audio (rapid learning). In questo caso il docente dovrà inviare l'audio all'Università, la quale si occuperà di sincronizzare l'audio alle diapositive. Le tracce audio registrate dovranno essere una per ogni slide della presentazione. Al termine di una lezione costituita da 20 diapositive il docente dovrà produrre 20 piccole tracce audio autonome; (c) materiale testuale, file e directory: i docenti possono pubblicare file di diverso formato, singolarmente oppure organizzati in cartelle; (d) link - possono essere utilizzati link a siti o video di particolare interesse, sia interni che esterni alla piattaforma.

Le principali metodologie di comunicazione con gli studenti sono: (a) il forum di discussione - consente lo scambio di messaggi tra tutti gli utenti del corso o all'interno di opportuni sottogruppi; (b) i quiz - che consentono l'utilizzo di domande di diverso tipo (risposta chiusa, risposta aperta, di tipo numerico, a corrispondenza; (c) il glossario - consente di archiviare informazioni in modo strutturato: si può quindi utilizzare sia come glossario vero e proprio, sia come ambiente in cui inserire contributi. E' possibile assegnare valutazioni e commenti ai "termini" inseriti e creare alcuni link in modo automatico all'interno del corso; (d) il compito - tramite il compito è possibile predisporre un'area in cui lo studente può inviare documenti al docente (eventualmente vincolato da scadenze). I docenti possono essere avvisati via e-mail dell'avvenuta consegna e far avere allo studente una valutazione e commenti sul lavoro consegnato; (e) la chat - consente uno scambio sincrono di messaggi. Le chat possono essere lasciate sempre aperte, ad uso degli studenti, oppure aperte e chiuse a discrezione dei docenti. Ad esempio è possibile utilizzare la chat per il ricevimento studenti, oppure per una lezione on-line in cui ognuno porta i suoi contributi. E' possibile salvare le sessioni passate della chat in modo da rivederle in momenti successivi.

La Segreteria Didattica on-line ha il compito di fornire sia le funzionalità rivolte all'amministrazione universitaria (segreteria studenti) per la gestione del percorso dello studente dall'immatricolazione al conseguimento del titolo sia i servizi web a valore aggiunto rivolti al singolo studente.

L'attività scientifica e di ricerca dell'Ateneo comprende i seguenti prodotti della ricerca:

a) Pubblicazioni Scientifiche (Nazionali/Internazionali): pubblicazioni a carattere scientifico che abbiano: rilevanza accademica (a livello nazionale o internazionale) e diffusione nella comunità scientifica; ISBN/ISSN; carattere di scientificità: il carattere di scientificità è assicurato dal contenuto accademico della rivista e dal processo di sele-

zione e revisione degli articoli, nonché dall'esistenza di un comitato editoriale e scientifico; Impact Factor; ISI, etc.

Per pubblicazioni scientifiche si intendono anche: riviste accademiche stampate e online; annali universitari; capitoli in libri/report di ricerca; monografie e curatele internazionali e nazionali con processo di referaggio e editorial board; atti di convegni internazionali/nazionali che abbiano nel loro comitato organizzativo uno scientific board e che abbiano provveduto ad un referaggio double e blind prima dell'accettazione del contributo.

Pubblicazioni Divulgative (Nazionali/Internazionali).

b) Tutte le pubblicazioni non accademiche con ISBN/ISSN, che si rivolgono ad un pubblico più eterogeneo rispetto a quello accademico.

c) Convegni Scientifici: convegni 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. La scientificità è assicurata da un meccanismo di double blind review stabilito dal comitato organizzatore del convegno. I paper presentati sono pubblicati integralmente o in parte (abstract) nei conference proceedings o atti dei convegni, che possono avere ISBN/ISSN nonché possedere Impact Factor.

d) Partecipazioni a Convegni: si intende la partecipazione in qualità di relatore e/o di redattore del contributo a convegni nazionali o internazionali organizzati all'interno del proprio ambito scientifico di riferimento, nonché da associazioni di categoria o ordini professionali. Lo scopo di tali convegni è l'aggiornamento continuo e la partecipazione del ricercatore per permettere, attraverso una condivisione del proprio know how, il miglioramento delle conoscenze globali in relazione a determinati ambiti di riferimento.

e) Convegni/Seminari/Corsi: Si indica con questa dicitura l'insieme di attività a cui il ricercatore partecipa in qualità di partecipante/uditore, ai fini di un aggiornamento professionale/scientifico per il miglioramento della propria attività di ricerca/didattica attinente all'Ateneo. In particolare ci si riferisce a:

- seminari generici su tematiche di ricerca (con attestato di frequenza)
- corsi di approfondimento (con attestato di frequenza)
- scuole di metodologia della ricerca
- summer school
- intensive course

f) Partecipazione a varie attività nel campo della ricerca

In particolare ci si riferisce a:

- Partecipazione a editorial board di riviste nazionali/internazionali;
- Partecipazioni a 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.

ATTIVITÀ DI FORMAZIONE

CORSI

Nel 2011 il network San Raffaele ha organizzato ed è stato sede di 26 corsi ECM per un totale di 291 crediti.

DATA		TITOLO	LUOGO	NUMERO DI CREDITI ECM
Aprile	29	Dolore, depressione e qualità di vita nell'anziano	RSA San Raffaele Ostini	7
Maggio	18	International course: human motor control	Torre Rossa Park Hotel	11
	24	L'equipe multiprofessionale e le abilità di coping nel gruppo dedicato alla riabilitazione neuromotoria	San Raffaele Cassino	14
Giugno	14	Gestione del paziente respiratorio critico	San Raffaele Rocca di Papa	10
	15	Il dolore oggi: update legislativo e della letteratura	San Raffaele Rocca di Papa	6
	21	Gestione del paziente respiratorio critico	San Raffaele Pisana	10
	28	L'importanza delle scienze psicologiche in ambito ospedaliero	San Raffaele Sulmona	-
Settembre	2	Lesioni da decubito	San Raffaele Rocca di Papa	25.3
	13	Analisi e approfondimento delle prescrizioni a carattere cogente derivanti dalle normative vigenti sul D.Lgs 81/08 e sul D.Lgs 196/03 e standard volontari di gestione e di riferimento per lo sviluppo e l'implementazione di modelli organizzativi	IRCCS San Raffaele Pisana	39.2
	15	Percorsi diagnostico terapeutici assistenziali in riabilitazione neurologica	San Raffaele Rocca di Papa	25.2
	19	L'importanza delle scienze psicologiche in ambito ospedaliero	San Raffaele Sulmona	5.3
	27	L'equipe multiprofessionale e le abilità di coping nel gruppo dedicato alla riabilitazione neuromotoria	San Raffaele Cassino	21.4
Ottobre	6	Ictus cerebrale: applicazioni di nuove tecniche di imaging	IRCCS San Raffaele Pisana	7.2
	17	Approccio riabilitativo multidisciplinare nella gestione del paziente affetto da malattia di Parkinson	San Raffaele Cassino	8

DATA		TITOLO	LUOGO	NUMERO DI CREDITI ECM
	17	Gestione dei bisogni fondamentali e dei problemi relativi ai pazienti affetti da malattia di Parkinson	San Raffaele Cassino	8
	26	Formare gli operatori al colloquio e alla consulenza strutturata, nei confronti dei familiari e/o caregivers dei pazienti ricoverati	San Raffaele Cassino	10
Ottobre	27	Il paziente allettato: mobilizzazione, cura delle lesioni da decubito, nutrizione artificiale e gestione delle tracheostomie	San Raffaele Ostuni	10
	27	Formare gli operatori al colloquio e alla consulenza strutturata, nei confronti dei familiari e/o caregivers dei pazienti ricoverati	San Raffaele Cassino	10
	29	Traumatologia e riabilitazione nella medicina dello sport	San Raffaele Sulmona	3.3
Novembre	4	Ortesi dinamiche nel cammino del paziente	IRCCS San Raffaele Pisana	7
	4	Ortesi dinamiche nel cammino del paziente	IRCCS San Raffaele Pisana	7
	4	Ortesi dinamiche nel cammino del paziente	IRCCS San Raffaele Pisana	7
	19	Perdita di coscienza: percorsi diagnostici e terapeutici	San Raffaele Cassino	6
Dicembre	15	La comunicazione per la salute, specificità nel settino riabilitativo	San Raffaele Cassino	10
	15	Radiologia, odontostomatologia e maxillo facciale	IRCCS San Raffaele Pisana	5
	16	Infezione delle vie urinarie	San Raffaele Sulmona	4.5



IRCCS San Raffaele
Pisana

ATTIVITÀ ASSISTENZIALE

ATTIVITA' ASSISTENZIALE

L'attività assistenziale dell'IRCCS San Raffaele Pisana si inserisce nell'ambito di un'organizzazione strutturata in Dipartimenti, per un totale di 298 posti letto, con le seguenti Unità Operative (U.O.):

- Riabilitazione Neuromotoria
- Riabilitazione Pediatrica
- Cardiologia Riabilitativa
- Riabilitazione Respiratoria
- Medicina Interna

All'interno dell'IRCCS sono attivi i seguenti Laboratori e Servizi specialistici che offrono un fondamentale supporto alla clinica ed alla ricerca svolgendo un'attività trasversale agli obiettivi delle differenti UU.OO.:

- Laboratorio di Neurofisiopatologia
- Laboratorio per lo Studio delle Posture e del Movimento (Gait Analysis)
- Laboratorio di Bioingegneria per la Riabilitazione Robotica
- Laboratorio per lo Studio della Funzionalità Cardiaca
- Laboratorio per lo Studio della Funzionalità Respiratoria
- Laboratorio di Patologia Clinica e Biotecnologie Avanzate
- Servizio di Otorinolaringoiatria con Laboratorio di Audiologia/Audiologia Infantile, Foniatria con sistema di videoendoscopia per lo studio delle prime vie aeree e Deglutologia
- Servizio di Diagnostica per Immagini
- Servizio di Idrokinesiterapia, Terapia Occupazionale e Rieducazione Funzionale
- Centro Dolore Neuropatico
- Centro Cefalea
- Centro Malattie di Parkinson

DATI DI ATTIVITA'

Nel corso dell'anno 2011 il numero totale dei dimessi in regime di ricovero ordinario è stato di 3368, di cui 2438 pazienti per la Riabilitazione e 930 pazienti per l'U.O. di Medicina (tabella 1).

TABELLA 1
Dimessi IRCCS San Raffaele Pisana - anno 2011

Discipline	N° Dimessi regione	N° Dimessi fuori regione	Totale	Degenza Media
Medicina interna	907	23	930	6.85
Riabilitazione	2178	260	2438	37.71
Riabilitazione dh	1515	1191	2706	5.81*
	4600	1474	6074	18.77

* numero medio di accessi per paziente

Ricoveri ordinari

Analizzando i dati per ciascuna U.O. (tabella 2), si osserva che la maggior parte dei ricoveri è attribuibile all'U.O. di Riabilitazione Neuromotoria (1086 pazienti sul totale dei dimessi, di cui il 94.2 % residenti) e all'U.O. di Riabilitazione Cardiologica (799 pazienti sul totale dei dimessi, di cui il 91.5 % residenti nella Regione Lazio). Per le UU.OO. di Riabilitazione Respiratoria e di Riabilitazione Pediatrica l'ammontare dei pazienti dimessi è in termini percentuali rispettivamente del 15.7 % (382 di cui il 98 % residenti nella Regione Lazio) e del 7 % (171 di cui 29.7 % residenti nella Regione Lazio).

La degenza media dei pazienti dimessi dalle UU.OO. va da un minimo di 23 giorni circa per la Riabilitazione Pediatrica ad un massimo di 51 giorni per la Riabilitazione Neuromotoria, con una media totale di 37 giorni.

TABELLA 2
Ricoveri U.O. di Riabilitazione Anno 2011 - Degenza ordinaria

U.O. RIABILITAZIONE RICOVERI ORDINARI	Dimessi		Totale dimessi	Totale gg. Degenza	Deg. Media fuori regione	Deg. Media residenti	Deg. Media totale
	Fuori regione	Residenti					
R. Pediatrica	121	50	171	3953	20.21	30.14	23.12
R. Respiratoria	8	374	382	13868	22.50	36.60	36.30
R. Neuromotoria	63	1023	1086	55976	44.71	51.96	51.54
R. Cardiologica	68	731	799	18152	23.59	22.64	22.72
Totale	260	2178	2438	91949	27.10	38.98	37.71

Ricoveri in Day Hospital

Per quanto concerne l'attività di Day Hospital, ci sono stati 15713 accessi, per un totale di 2706 pazienti (tabella 3). Dei pazienti ricoverati in regime di day hospital il 44% proviene da regioni diverse dalla Regione Lazio.

TABELLA 3
Attività di DH - anno 2011

	N° Dimessi regione	N° Dimessi fuori regione	Totale	Totale accessi	Numero medio accessi/pz
Riabilitazione dh	1515	1191	2706	15713	5.81

Esaminando i dati più nel dettaglio (tabella 4), si evidenzia che, su un totale di 2706 pazienti, 2353 sono stati dimessi dal DH di R. Pediatrica, 190 dal DH di R. Neuromotoria e 163 dal DH di R. Cardiologica.

Il numero medio di accessi per paziente è di circa 5 giorni, andando da un minimo di 2 accessi circa per la Riabilitazione Pediatrica ad un massimo di 34 accessi per la Riabilitazione Neuromotoria.

TABELLA 4
Attività di DH per disciplina - anno 2011

Riabilitazione DH	DIMESSI			ACCESSI			Accessi Medi fuori regione	Accessi Medi residenti	Accessi Medi totale
	Fuori regione	Residenti	Totale dimessi	Fuori regione	Residenti	Totale accessi			
R. Pediatrica	1184	1169	2353	1882	3989	5871	1.59	3.41	2.50
R. Neuromotoria	5	185	190	167	6183	6350	33.40	33.42	33.42
R. Cardiologica	2	161	163	47	3445	3492	23.50	21.40	21.42
Totale	1191	1515	2706	2096	13617	15713	1.76	8.99	5.81

Dall'analisi dei dati SIO relativi alle MDC attribuite ai pazienti dimessi per l'anno (tabella 5) è possibile evidenziare come la maggior parte dei ricoveri sia legata a malattie e disturbi del Sistema Nervoso (il 29.42 % dei dimessi attribuiti alla MDC 1 "Malattie e disturbi del Sistema Nervoso") e, in secondo luogo, a patologie dell'Apparato Cardiocircolatorio (il 23.23 % dei dimessi attribuiti alla MDC 5 "Malattie e disturbi dell'Apparato Cardiocircolatorio").

TABELLA 5
Classificazione dei dimessi per MDC

Major Diagnostic Categories	ORD.	D.H	TOT.	%
MDC 1 Mal. e disturbi del sistema nervoso	947	840	1787	29.42 %
MDC 4 Mal. e disturbi dell' apparato respiratorio	606		606	9.98 %
MDC 5 Mal. e disturbi dell' app. cardiocircolatorio	1247	164	1411	23.23 %
MDC 8 Mal. e disturbi del sistema muscolo-scheletrico e del tessuto connettivo	437	49	486	8.00 %
ALTRI	131	1653	1784	29.37 %

PROVENIENZA DEI PAZIENTI

L'IRCCS San Raffaele Pisana conferma una ragguardevole capacità attrattiva con ricoveri provenienti da tutte le regioni italiane. Considerando la totalità dei ricoveri, ordinari e diurni, oltre il 24 % dei pazienti provengono da regioni diverse dalla regione Lazio (1474 su un totale di 6074 pazienti).

Attività Ambulatoriale

Nell'anno 2011 sono state erogate 219146 prestazioni di carattere ambulatoriale: 152268 è il numero di prestazioni registrato presso il Poliambulatorio di Via Giolitti e 66878 quello realizzato presso la sede centrale dell'IRCCS.

INNOVAZIONE ASSISTENZIALE

Centro Studi PAC (Persone ad Alta Complessità)

Il concetto di Medicina Personalizzata, Partecipatoria, Preventiva e Predittiva ("P4 Medicine"), fortificato nell'ambito della riabilitazione, ha costituito la base per la strutturazione di un Centro Studi PAC, che risponde a varie esigenze:

- Data Center Epidemiologico con la raccolta di dati clinici, epidemiologici, attraverso un sistema valicato da studi multicentrici a livello europeo e con un approccio di valutazione multidimensionale;
- Farmacoepidemiologia e appropriatezza della prescrizione farmacologica;
- La presa in carico della persona e il continuum assistenziale;
- (In)formazione delle figure professionali, dei pazienti e dei caregiver.

Dipartimento di Scienze Neurologiche, Motorie e Sensoriali - Parkinson e disturbi del Movimento

Adesione alla “ TERZA GIORNATA NAZIONALE DELLA MALATTIA DI PARKINSON” - Evento Nazionale in cui il Centro Clinical Trial Center ha aderito alla Terza Giornata Nazionale di Parkinson Promossa dalla LIMPE, con la collaborazione delle associazione dei Pazienti, al fine di offrire informazioni personalizzate e divulgazione scientifica a tutte le persone interessate, con l'obiettivo di diffondere la conoscenza della malattia e sensibilizzare l'importanza di una diagnosi precoce. Il CTC il giorno 26/11/2011, insieme ad altri 50 Centri Parkinson distribuiti in tutto il territorio Nazionale, ha fornito assistenza e informazione a tutte le persone interessate.

Dipartimento di Biotecnologie Avanzate e Bioimmagini

Implementazione della rete PACS con le sedi periferiche.

E' stato possibile accorciare i tempi di refertazione degli esami RM e TC e migliorare la qualità del servizio erogato, potendo disporre anche in remoto del teleconsulto e della second opinion del radiologo superspecialista.

Dipartimento di Pneumologia Riabilitativa

La gestione del paziente critico sottoposto ad intervento cardiocirurgico con complicanze respiratorie acute

E' proseguito il lavoro iniziato nel 2010 confermando ed implementando protocolli di alta complessità riabilitativa per quanto concerne la gestione del paziente sottoposto ad intervento cardiocirurgico con secondarie complicanze respiratorie che ne hanno causato l'intubazione oro-tracheale ed il supporto ventilatorio meccanico. Tali pazienti nella fase sub-intensiva sono stati gestiti al fine di ottimizzare gli scambi gassosi, iniziare un protocollo di weaning, e laddove possibile svezzamento dalla cannula tracheostomica. L'attività riabilitativa integrata di questi pazienti ha previsto anche specifici training di logopedia per il recupero di un'alimentazione autonoma. Nel biennio 2010-2011 più di 60 pazienti tracheostomizzati sono stati trattati.

INDIRIZZI UTILI

CONSIGLIO DI AMMINISTRAZIONE

Presidente	Carlo Trivelli
Amministratore Delegato	Antonio Vallone
Amministratore Delegato per le acquisizioni	Vincenzo Mariscotti
Direttore Generale	Alberto Bertolini

COLLEGIO SINDACALE

Presidente	Ennio Piermarini
Sindaco Effettivo	Roberto Rastelletti
Sindaco Effettivo	Paolo Stampatore
Sindaco Supplente	Francesco Bonifacio
Sindaco Supplente	Cinzia Rossi

COMITATO ETICO

Presidente	Prof. Davide Lauro
Medico Legale	Prof. Paolo Arbarello
Settore infermieristico	Dott.ssa Maria Fattori
Clinico	Prof. Carlo Bertolini
Farmacista	Dott.ssa Paola D'Antrassi
Esperto legale	Dott. Adolfo Teobaldo De Girolamo
Direttore scientifico	Prof. Massimo Fini
Medico Medicina generale territoriale	Dott. Claudio Giorgi
Esperto bioetica	Padre Antonino Sapuppo
Direttore sanitario	Dott.ssa Isabella Richichi
Farmacologo	Prof. Vincenzo Mollace
Farmacista	Dott.ssa Rita Salotti
Associazione pazienti	Sig.ra Lynda Vitali
Clinico	Dott. Graziano Onder
Biostatistico	Prof. Giovanni Capelli

IRCCS San Raffaele Pisana

Via della Pisana, 235

Direttore Generale

Paolo Rolleri

Tel. 06 52252408

Email:paolo.rolleri@sanraffaele.it

Direttore Sanitario

Isabella Richichi

Tel. 06 52252408

Email: direzione.sanitaria@sanraffaele.it

Servizi amministrativi della ricerca

Responsabile

Guido Poli

Tel. 06 52253012

Email:guido.poli@sanraffaele.it

Elisabetta De Sclavis

Tel. 06 52252421

Email: elisabetta.desclavis@sanraffaele.it

Via di Val Cannuta, 247

Direttore Scientifico

Massimo Fini

Tel. 06 52253406 Fax 06 52255668

Email:massimo.fini@sanraffaele.it

Vice Direttore Scientifico

Alfredo Cesario

Tel. 06 52253428 Fax 06 52255668

Email:alfredo.cesario@sanraffaele.it

Presidente Comitato Tecnico Scientifico

Giuseppe Rotilio

Tel. 06 52253404 Fax 06 52255668

Email:giuseppe.rotilio@sanraffaele.it

Segreteria Scientifica

Astrid van Rijn

Tel. 06 52253405 Fax 06 52255668

Email:astrid.vanrijn@sanraffaele.it

Segreteria di Direzione

Stefania Proietti

Tel. 06 52253406

Email: segreteriascientifica@sanraffaele.it

Segreteria Comitato Etico

Fabiola D'Angeli

Tel. +39 06 66130406 Fax 06 66130407

Email:fabiola.dangeli@sanraffaele.it

Biblioteca Valia Nikolova

Tel/Fax 06 52252466

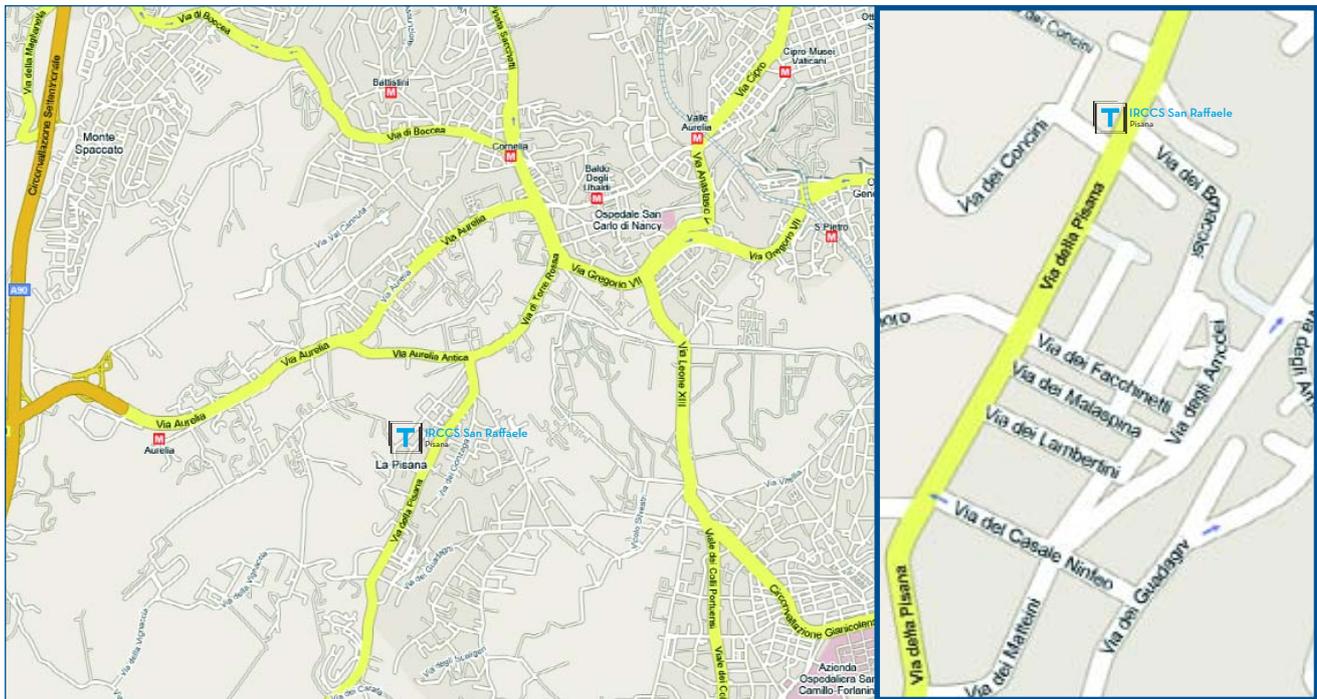
Email: biblioteca.pisana@sanraffaele.it

Editorial Office

Daniela Pernice

Tel. 06 52253404 Fax 06 52255668

Email:daniela.pernice@sanraffaele.it



in automobile
dal GRA
uscita 32 direzione centro

con i mezzi pubblici, linee atac
e principali fermate
linea 892
capolinea viale Valle Aurelia,
via Baldo degli Ubaldi,
via Aurelia Antica, via Bravetta, via della Pisana,
capolinea via degli Aldobrandeschi

linea 881
capolinea via Paola, via di Porta
Cavalleggeri, via Gregorio VII,
via Aurelia Antica, via Bravetta, via della Pisana,
capolinea via degli Avanzini

linea 808
capolinea Largo Capasso,
via Bravetta, via della Pisana,
via di Ponte Galeria, capolinea via Portuense

dalla stazione termini
linea 64
fino a via Paola
proseguire con il n. 881

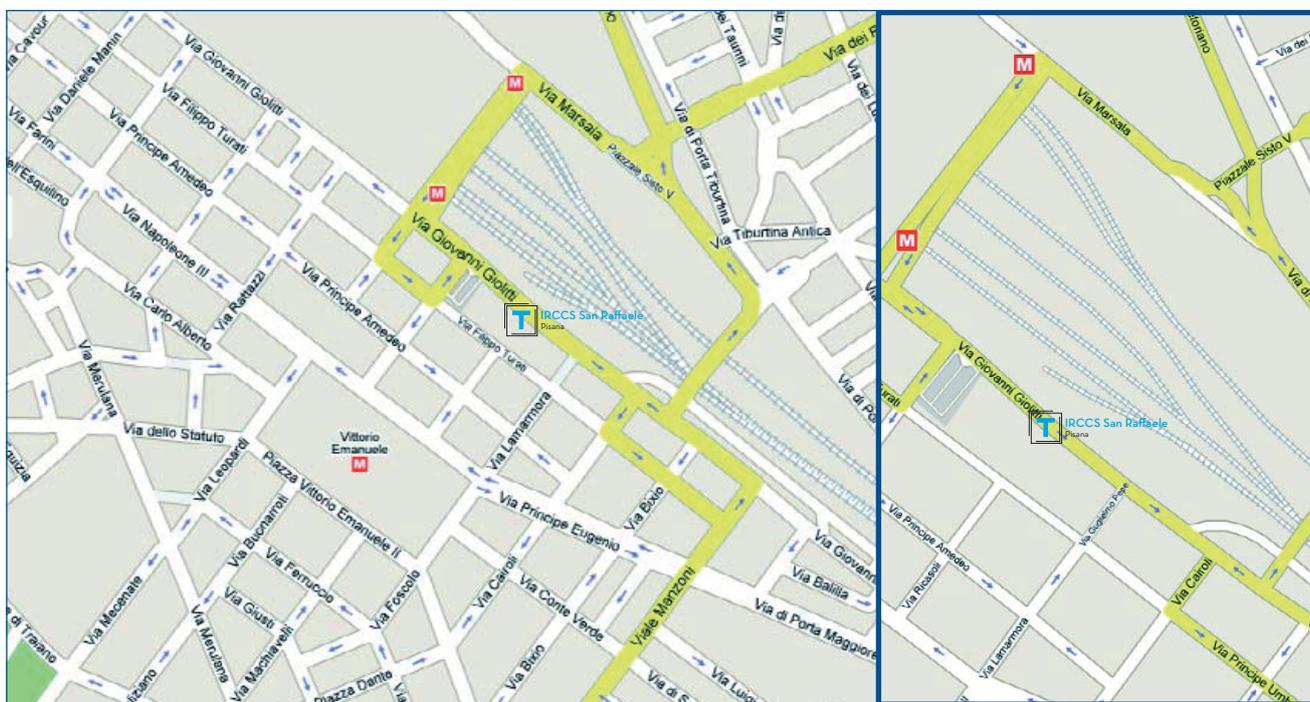
linea 40
express fino a via Paola
proseguire con il n. 881

metro A
stazione Baldo degli Ubaldi
proseguire con il n. 892

via della pisana 235
00163 roma
ph +39 06 52255225
ph +39 06 66058-1 ra
fax + 39 06 66058300

SAN RAFFAELE

TERMINI



in automobile

parcheggiare all'es parking
giolitti convenzionato con il San Raffaele Termini,
che si trova in via Giolitti 267

in metro

scendere alla fermata di Termini,
seguire l'indicazione "ai treni",
raggiungere l'uscita "deposito bagagli"
(dopo 2 tapis roulants), salire di un piano
per arrivare all'Ufficio Postale.

Alla vostra sinistra al 2° piano si trova
il San Raffaele Termini

in autobus

da p.zza dei Cinquecento
attraversare il corridoio interno,
arrivare al deposito bagagli
superando sulla destra l'UPIM
troverete un'insegna
indicante il centro diagnostico
San Raffaele Termini

via giolitti 16

00185 roma

ph +39 06 481631