

INDICE

1. Messaggio del Presidente

2. Report del Direttore Scientifico

3. Attività Scientifica

Comitato Scientifico

Pubblicazioni

Linee di Ricerca

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

3.2.2. Linea 2. Clinica della disabilità

3.2.3. Linea 3. Innovazione in medicina e riabilitazione

Ricerca Finalizzata

Altra tipologia di ricerca

Comitato Etico

Convenzioni e Collaborazioni istituzionali nazionali ed internazionali

Università telematica

4. Attività di formazione

Corsi ECM

5. Attività assistenziale

6. Indirizzi utili

ATTIVITA' SCIENTIFICA

COMITATO TECNICO SCIENTIFICO

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

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

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

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

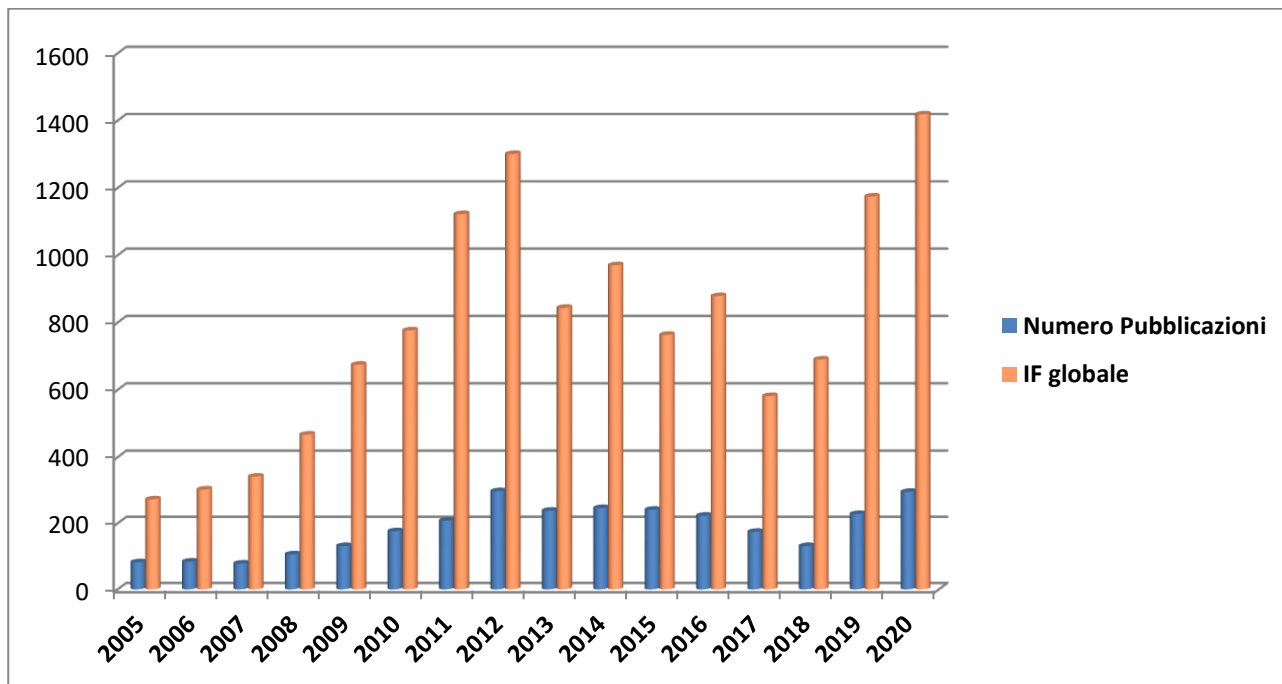
PRODUZIONE SCIENTIFICA

Nel 2020 l'attività scientifica dell'IRCCS San Raffaele è documentata da 295 pubblicazioni.

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

L'impact factor totale per gli articoli pubblicati nel 2020 è 1418,281

Le pubblicazioni sono espressione delle attività di ricerca clinica, traslazionale, di base e dell'eccellenza di assistenza svolte anche in collaborazione con altri gruppi di ricerca ed altre strutture.



Impact Factor totale degli articoli pubblicati dall' IRCCS San Raffaele Pisana nel periodo 2005-2020

PUBBLICAZIONI SU RIVISTE IMPATTATE

Linea 1

Raparelli V, Romiti GF, Spugnardi V, Borgi M, Cangemi R, Basili S, Proietti M; The Eva Collaborative Group.

Gender-related determinants of adherence to the Mediterranean Diet in adults with ischemic heart disease. Nutrients.

2020 Mar 13;12(3):759

Ferroni P, Zanzotto FM, Scarpato N, Spila A, Fofi L, Egeo G, Rullo A, Palmirotta R, Barbanti P, Guadagni F.

Machine learning approach to predict medication overuse in migraine patients.

Comput Struct Biotechnol J. 2020 Jun 12;18:1487-1496.

Santini D, Galvano A, Pantano F, Incorvaia L, Rizzo S, Vincenzi B, Castellana L, Giuliana G, Guadagni F, Toia F, Tonini G, Russo A, Badalamenti G, Bazan V.

How do skeletal morbidity rate and special toxicities affect 12-week versus 4-week schedule zoledronic acid efficacy? A systematic review and a meta-analysis of randomized trials.

Crit Rev Oncol Hematol. 2019 Oct;142:68-75.

Morelli C, Formica V, Riondino S, Russo A, Ferroni P, Guadagni F, Roselli M.

Irinotecan or Oxaliplatin: which is the first move for the mate?

Curr Med Chem. 2020 Oct 16. Epub ahead of print.

Cellai F, Bonassi S, Cristaudo A, Bonotti A, Neri M, Ceppi M, Bruzzone M, Milić M, Munnia A, Peluso M.

Chromatographic detection of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine in leukocytes of asbestos exposed workers for assessing past and recent carcinogen exposures. Diagnostics (Basel).

2020 Apr 21;10(4). pii: E239.

Fenech M, Holland N, Kirsch-Volders M, Knudsen LE, Wagner KH, Stopper H, Knasmueller S, Bolognesi C, El-Zein R, Bonassi S.

Micronuclei and disease -Report of HUMN project workshop at Rennes 2019 EEMGS conference.

Mutat Res. 2020 Feb - Mar;850-851:503133. Epub 2020 Jan 10.

Azqueta A, Ladeira C, Giovannelli L, Boutet-Robinet E, Bonassi S, Neri M, Gajski G, Duthie S, Del Bo' C, Riso P, Koppen G, Basaran N, Collins A, Møller P. Application of the comet assay in human biomonitoring: An hCOMET perspective. Mutat Res. 2020 Jan - Mar;783:108288. doi: 10.1016/j.mrrev.2019.108288. Epub 2019 Nov 9.

Calabrò M, Mandelli L, Crisafulli C, Porcelli S, Albani D, Politis A, Papadimitriou GN, Di Nicola M, Janiri L, Colombo R, Martinotti G, Bellomo A, Vieta E, Bonassi S, Frustaci A, Ducci G, Landi S, Boccia S, Serretti A.

Correction to: Psychiatric disorders and SLC6A4 gene variants: possible effects on alcohol dependence and alzheimer's disease.

Mol Biol Rep. 2020 Mar;47(3):2415.

Calabrò M, Mandelli L, Crisafulli C, Porcelli S, Albani D, Politis A, Papadimitriou GN, Di Nicola M, Janiri L, Colombo R, Martinotti G, Bellomo A, Vieta E, Bonassi S, Frustaci A, Ducci G, Landi S, Boccia S, Serretti A.

Psychiatric disorders and SLC6A4 gene variants: possible effects on alcohol dependence and alzheimer's disease.

Mol Biol Rep. 2020 Jan;47(1):191-200. Epub 2019 Oct 8. Erratum in: Mol Biol Rep. 2020 Mar;47(3):2415.

Calabrò M, Porcelli S, Crisafulli C, Albani D, Kasper S, Zohar J, Souery D, Montgomery S, Mantovani V, Mendlewicz J, Bonassi S, Vieta E, Frustaci A, Ducci G, Landi S, Boccia S, Bellomo A, Di Nicola M, Janiri L, Colombo R, Benedetti F, Mandelli L, Fabbri C, Serretti A.

Genetic variants associated with psychotic symptoms across psychiatric disorders.

Neurosci Lett. 2020 Feb 16;720:134754. Epub 2020 Jan 13.

Ioannilli L, Ciccarone F, Ciriolo MR.

Adipose tissue and FoxO1: Bridging physiology and mechanisms.

Cells. 2020 Mar 31;9(4).

Ciccarone F, Di Leo L, Lazzarino G, Maulucci G, Di Giacinto F, Tavazzi B, Ciriolo MR.

Aconitase 2 inhibits the proliferation of MCF-7 cells promoting mitochondrial oxidative metabolism and ROS/FoxO1-mediated autophagic response.

Br J Cancer. 2020 Jan;122(2):182-193.

Ciccarone F, De Falco P, Ciriolo MR.

Aconitase 2 sensitizes MCF-7 cells to cisplatin eliciting p53-mediated apoptosis in a ROS-dependent manner.

Biochem Pharmacol. 2020 Aug 18;180:114202. Epub ahead of print.

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

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

Oncogene. 2019 Mar;38(11):1860-1875. Epub 2018 Oct 26.

Innocenzi E, De Domenico E, Ciccarone F, Zampieri M, Rossi G, Cicconi R, Bernardini R, Mattei M, Grimaldi P.

Paternal activation of CB₂ cannabinoid receptor impairs placental and embryonic growth via an epigenetic mechanism.

Sci Rep. 2019 Nov 19;9(1):17034.

Sandonà M, Consalvi S, Tucciarone L, De Bardi M, Scimeca M, Angelini DF, Buffa V, D'Amico A, Bertini ES, Cazzaniga S, Bettica P, Bouché M, Bongiovanni A, Puri PL, Saccone V.

HDAC inhibitors tune miRNAs in extracellular vesicles of dystrophic muscle-resident mesenchymal cells.

EMBO Rep. 2020 Sep 3;21(9):e50863. Epub 2020 Aug 5.

Nardi M, Baldelli S, Ciriolo MR, Costanzo P, Procopio A, Colica C.

Oleuropein Aglycone Peracetylated (3,4-DHPEA-EA(P)) Attenuates H₂O₂-Mediated Cytotoxicity in C2C12 Myocytes via Inactivation of p-JNK/p-c-Jun Signaling Pathway.

Molecules. 2020 Nov 23;25(22):5472.

Martinelli S, Cordeddu V, Galosi S, Lanzo A, Palma E, Pannone L, Ciolfi A, Di Nottia M, Rizza T, Bocchinfuso G, Traversa A, Caputo V, Farrotti A, Carducci C, Bernardini L, Cogo S, Paglione M, Venditti M, Bentivoglio A, Ng J, Kurian MA, Civiero L, Greggio E, Stella L, Trettel F, Sciacaluga M, Roseti C, Carozzo R, Fucile S, Limatola C, Di Schiavi E, Tartaglia M, Leuzzi V.

Co-occurring WARS2 and CHRNA6 mutations in a child with a severe form of infantile parkinsonism.

Parkinsonism Relat Disord. 2020 Mar;72:75-79. Epub 2020 Feb 15.

Cifelli P, Ruffolo G, De Felice E, Alfano V, van Vliet EA, Aronica E, Palma E.

Phytocannabinoids in Neurological Diseases: could they restore a physiological GABAergic transmission?

Int J Mol Sci. 2020 Jan 22;21(3).

Ruffolo G, Cifelli P, Miranda-Lourenço C, De Felice E, Limatola C, Sebastião AM, Diógenes MJ, Aronica E, Palma E.

Rare diseases of neurodevelopment: maintain the mystery or use a dazzling tool for investigation? The case of Rett Syndrome.

Neuroscience. 2020 Jul 15;439:146-152. Epub 2019 Jun 21.

Mandatori S, Pacella I, Marzolla V, Mammi C, Starace D, Padula F, Vitiello L, Armani A, Savoia C, Taurino M, De Zio D, Giampietri C, Piconese S, Cecconi F, Caprio M, Filippini A.

Altered tregs differentiation and impaired autophagy correlate to atherosclerotic disease.

Front Immunol. 2020 Mar 13;11:350.

Shrivastava A, Marzolla V, Weidmann H, Caprio M, Tregouet DA, Zeller T, Karakas M.

Design and rationale of the ERA-CVD Consortium PREMEDI-CAD-Precision Medicine in Coronary Artery Disease.

Biomolecules. 2020 Jan 11;10(1).

Oppi S, Nusser-Stein S, Blyszczuk P, Wang X, Jomard A, Marzolla V, Yang K, Velagapudi S, Ward LJ, Yuan XM, Geiger MA, Guillaumon AT, Othman A, Hornemann T, Rancic Z, Ryu D, Oosterveer MH, Osto E, Lüscher TF, Stein S.

Macrophage NCOR1 protects from atherosclerosis by repressing a pro-atherogenic PPAR γ signature.

Eur Heart J. 2020 Mar 1;41(9):995-1005.

Feraco A, Marzolla V, Scuteri A, Armani A, Caprio M.

Mineralocorticoid receptors in Metabolic Syndrome: from physiology to disease.

Trends Endocrinol Metab. 2020 Mar;31(3):205-217.

Moriconi E, Feraco A, Marzolla V, Infante M, Lombardo M, Fabbri A, Caprio M.

Neuroendocrine and metabolic effects of low-calorie and non-calorie sweeteners.

Front Endocrinol (Lausanne). 2020 Jul 16;11:444.

Marzolla V, Feraco A, Gorini S, Mammi C, Marrese C, Mularoni V, Boitani C, Lombès M, Kolkhof P, Ciriolo MR, Armani A, Caprio M.

The novel non-steroidal MR antagonist finerenone improves metabolic parameters in high-fat diet-fed mice and activates brown adipose tissue via AMPK-ATGL pathway.

FASEB J. 2020 Jul 30. Epub ahead of print.

Raffaelli W, Malafoglia V, Bonci A, Tenti M, Ilari S, Gremigni P, Iannuccelli C, Gioia C, Di Franco M, Mollace V, Vitiello L, Tomino C, Muscoli C.

Identification of MOR-Positive B Cell as possible innovative biomarker (MuLympho-Marker) for chronic pain diagnosis in patients with fibromyalgia and osteoarthritis diseases.

Int J Mol Sci. 2020 Feb 22;21(4).

Oppedisano F, Macrì R, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Maiuolo J, Bosco F, Nucera S, Caterina Zito M, Guarnieri L, Scarano F, Nicita C, Coppoletta AR, Ruga S, Scicchitano M, Mollace R, Palma E, Mollace V.

The anti-inflammatory and antioxidant properties of n-3 PUFAs: their role in cardiovascular protection.

Biomedicines. 2020 Aug 25;8(9):E306.

Carresi C, Gliozzi M, Musolino V, Scicchitano M, Scarano F, Bosco F, Nucera S, Maiuolo J, Macrì R, Ruga S, Oppedisano F, Zito MC, Guarnieri L, Mollace R, Tavernese A, Palma E, Bombardelli E, Fini M, Mollace V.

The effect of natural antioxidants in the development of Metabolic Syndrome: focus on bergamot polyphenolic fraction.

Nutrients. 2020 May 21;12(5):1504.

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

Modulation of Nitric Oxide synthases by Oxidized LDLs: role in vascular inflammation and atherosclerosis development.

Int J Mol Sci. 2019 Jul 4;20(13):3294.

Capomolla AS, Janda E, Paone S, Parafati M, Sawicki T, Mollace R, Ragusa S, Mollace V. *Atherogenic Index Reduction and weight loss in Metabolic Syndrome patients treated with anovel Pectin-enriched formulation of bergamot polyphenols.*

Nutrients. 2019 Jun 4;11(6):1271.

Gliozzi M, Scarano F, Musolino V, Carresi C, Scicchitano M, Ruga S, Zito MC, Nucera S, Bosco F, Maiuolo J, Macrì R, Guarnieri L, Mollace R, Coppoletta AR, Nicita C, Tavernese A, Palma E, Muscoli C, Mollace V.

Role of TSPO/VDAC1 upregulation and matrix Metalloproteinase-2 localization in the dysfunctional myocardium of hyperglycaemic rats.

Int J Mol Sci. 2020 Oct 9;21(20):E7432.

Ilari S, Giancotti LA, Lauro F, Gliozzi M, Malafoglia V, Palma E, Tafani M, Russo MA, Tomino C, Fini M, Salvemini D, Mollace V, Muscoli C.

Natural antioxidant control of neuropathic pain-exploring the role of mitochondrial SIRT3 pathway.

Antioxidants (Basel). 2020 Nov 9;9(11):E1103.

Maiuolo J, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Nucera S, Scicchitano M, Scarano F, Bosco F, Oppedisano F, Macrì R, Mollace V.

Environmental and nutritional "Stressors" and Oligodendrocyte dysfunction: role of mitochondrial and endoplasmatic reticulum impairment.

Biomedicines. 2020 Nov 30;8(12):E553.

Maiuolo J, Mollace R, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Paone S, Scicchitano M, Macrì R, Nucera S, Bosco F, Scarano F, Zito MC, Ruga S, Tavernese A, Mollace V.

The contribution of endothelial dysfunction in systemic injury subsequent to SARS-Cov-2 infection.

Int J Mol Sci. 2020 Dec 6;21(23):9309.

Ilari S, Dagostino C, Malafoglia V, Lauro F, Giancotti LA, Spila A, Proietti S, Ventrice D, Rizzo M, Gliozzi M, Palma E, Guadagni F, Salvemini D, Mollace V, Muscoli C.

Protective effect of antioxidants in Nitric Oxide/COX-2 interaction during inflammatory pain: the role of Nitration.

Antioxidants (Basel). 2020 Dec16;9(12):E1284.

Mechelli R, Umeton R, Manfrè G, Romano S, Buscarinu MC, Rinaldi V, Bellucci G, Bigi R, Ferraldeschi M, Salvetti M, Ristori G.

Reworking GWAS data to understand the role of nongenetic factors in MS etiopathogenesis.

Genes (Basel). 2020 Jan 14;11(1).

Musella A, Fresegna D, Rizzo FR, Gentile A, De Vito F, Caioli S, Guadalupi L, Bruno A, Dolcetti E, Buttari F, Bullitta S, Vanni V, Centonze D, Mandolesi G.

'Prototypical' proinflammatory cytokine (IL-1) in multiple sclerosis: role in pathogenesis and therapeutic targeting.

Expert Opin Ther Targets. 2020 Jan;24(1):37-46.

Farini D, Cesari E, Weatheritt RJ, La Sala G, Naro C, Pagliarini V, Bonvissuto D, Medici V, Guerra M, Di Pietro C, Rizzo FR, Musella A, Carola V, Centonze D, Blencowe BJ, Marazziti D, Sette C. *A Dynamic Splicing Program ensures proper synaptic connections in the developing cerebellum.*

Cell Rep. 2020 Jun 2;31(9):107703.

Musella A, Gentile A, Guadalupi L, Rizzo FR, De Vito F, Fresegna D, Bruno A, Dolcetti E, Vanni V, Vitiello L, Bullitta S, Sanna K, Caioli S, Balletta S, Nencini M, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Centonze D, Mandolesi G.

Central modulation of selective Sphingosine-1-Phosphate Receptor 1 ameliorates experimental Multiple Sclerosis.

Cells. 2020 May 22;9(5):1290.

Bruno A, Dolcetti E, Rizzo FR, Fresegna D, Musella A, Gentile A, De Vito F, Caioli S, Guadalupi L, Bullitta S, Vanni V, Balletta S, Sanna K, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Centonze D, Mandolesi G.

Inflammation-associated synaptic alterations as shared threads in depression and multiple sclerosis.

Front Cell Neurosci. 2020 Jun 23;14:169.

Stampanoni Bassi M, Buttari F, Gilio L, De Paolis N, Fresegna D, Centonze D, Iezzi E. *Inflammation and corticospinal functioning in Multiple Sclerosis: A TMS perspective.*

Front Neurol. 2020 Jul 7;11:566.

Dolcetti E, Bruno A, Guadalupi L, Rizzo FR, Musella A, Gentile A, De Vito F, Caioli S, Bullitta S, Fresegna D, Vanni V, Balletta S, Sanna K, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Centonze D, Mandolesi G.

Emerging role of extracellular vesicles in the pathophysiology of Multiple Sclerosis.

Int J Mol Sci. 2020 Oct 4;21(19):E7336.

Fresegna D, Bullitta S, Musella A, Rizzo FR, De Vito F, Guadalupi L, Caioli S, Balletta S, Sanna K, Dolcetti E, Vanni V, Bruno A, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Mandolesi G, Centonze D, Gentile A.

Re-examining the role of TNF in MS pathogenesis and therapy.

Cells. 2020 Oct 14;9(10):E2290.

Gentile A, De Vito F, Fresegna D, Rizzo FR, Bullitta S, Guadalupi L, Vanni V, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Leuti A, Chiurchiù V, Marfia GA, Mandolesi G, Centonze D, Musella A. *Peripheral T cells from multiple sclerosis patients trigger synaptotoxic alterations in central neurons.*

Neuropathol Appl Neurobiol. 2020 Feb;46(2):160-170.

Stampanoni Bassi M, Drulovic J, Pekmezovic T, Iezzi E, Sica F, Gilio L, Gentile A, Musella A, Mandolesi G, Furlan R, Finardi A, Marfia GA, Bellantonio P, Fantozzi R, Centonze D, Buttari F. *Cerebrospinal fluid inflammatory biomarkers predicting interferon-beta response in MS patients.* Ther Adv Neurol Disord. 2020 Dec 8;13:1756286420970833.

Prezioso C, Marcocci ME, Palamara AT, De Chiara G, Pietropaolo V.

The "Three Italy" of the COVID-19 epidemic and the possible involvement of SARS-CoV-2 in triggering complications other than pneumonia.

J Neurovirol. 2020 Jun 16. doi: 10.1007/s13365-020-00862-z. Epub ahead of print.

Checconi P, De Angelis M, Marcocci ME, Fraternali A, Magnani M, Palamara AT, Nencioni L. *Redox-modulating agents in the treatment of viral infections.*

Int J Mol Sci. 2020 Jun 8;21(11):E4084.

Sabatino M, Fabiani M, Božović M, Garzoli S, Antonini L, Marcocci ME, Palamara AT, De Chiara G, Ragno R.

Experimental data based machine learning classification models with predictive ability to select in vitro active antiviral and non-toxic essential oils.

Molecules. 2020 May 25;25(10):2452.

Marcocci ME, Napoletani G, Protto V, Kolesova O, Piacentini R, Li Puma DD, Lomonte P, Grassi C, Palamara AT, De Chiara G.

Herpes Simplex virus-1 in the brain: the dark side of a sneaky infection.

Trends Microbiol. 2020 May 5. pii: S0966-842X(20)30074-3. Epub ahead of print

Prezioso C, Obregon F, Ambroselli D, Petrolo S, Checconi P, Rodio DM, Coppola L, Nardi A, Vito C, Sarmati L, Andreoni M, Palamara AT, Ciotti M, Pietropaolo V.

Merkel Cell Polyomavirus (MCPyV) in the context of immunosuppression: genetic analysis of Noncoding Control Region (NCCR) variability among a HIV-1-Positive Population.

Viruses. 2020 May 4;12(5). pii: E507.

Prezioso C, Zingaropoli MA, Iannetta M, Rodio DM, Altieri M, Conte A, Vullo V, Ciardi MR, Palamara AT, Pietropaolo V.

Which is the best PML risk stratification strategy in natalizumab-treated patients affected by multiple sclerosis?

Mult Scler Relat Disord. 2020 Feb 13;41:102008. Epub ahead of print

Scribano D, Sarshar M, Prezioso C, Lucarelli M, Angeloni A, Zagaglia C, Palamara AT, Ambrosi C.

d-Mannose treatment neither affects uropathogenic Escherichia Coli properties nor induces stable FimH modifications.

Molecules. 2020 Jan 13;25(2). pii: E316.

Hozhabri H, Picci Sparascio F, Sohrabi H, Mousavifar L, Roy R, Scribano D, De Luca A, Ambrosi C, Sarshar M.

The global emergency of novel Coronavirus (SARS-CoV-2): an update of the current status and forecasting.

Int J Environ Res Public Health. 2020 Aug 5;17(16):5648.

Sarshar M, Scribano D, Ambrosi C, Palamara AT, Masotti A.
Fecal microRNAs as innovative biomarkers of intestinal diseases and effective players in host-microbiome interactions.
Cancers (Basel). 2020 Aug 5;12(8):2174.

Sarshar M, Behzadi P, Ambrosi C, Zagaglia C, Palamara AT, Scribano D.
FimH and Anti-Adhesive Therapeutics: A Disarming Strategy Against Uropathogens.
Antibiotics (Basel). 2020 Jul 10;9(7):397.

Marazzato M, Zicari AM, Aleandri M, Conte AL, Longhi C, Vitanza L, Bolognino V, Zagaglia C, De Castro G, Brindisi G, Schiavi L, De Vittori V, Reddel S, Quagliariello A, Del Chierico F, Putignani L, Duse M, Palamara AT, Conte MP.
16S Metagenomics reveals dysbiosis of nasal core microbiota in children with chronic nasal inflammation: role of adenoid hypertrophy and allergic rhinitis.
Front Cell Infect Microbiol. 2020 Sep 2;10:458.

Protto V, Tramutola A, Fabiani M, Marcocci ME, Napoletani G, Iavarone F, Vincenzoni F, Castagnola M, Perluigi M, Di Domenico F, De Chiara G, Palamara AT.
Multiple Herpes Simplex Virus-1 (HSV-1) reactivations induce protein oxidative damage in mouse brain: novel mechanisms for Alzheimer's disease progression.
Microorganisms. 2020 Jun 29;8(7):972.

Li Puma DD, Marcocci ME, Lazzarino G, De Chiara G, Tavazzi B, Palamara AT, Piacentini R, Grassi C.
Ca²⁺-dependent release of ATP from astrocytes affects herpes simplex virus type 1 infection of neurons.
Glia. 2020 Aug 20. Epub ahead of print.

Amatore D, Celestino I, Brundu S, Galluzzi L, Coluccio P, Checconi P, Magnani M, Palamara AT, Fraternali A, Nencioni L.
Glutathione increase by the n-butanoyl glutathione derivative (GSH-C4) inhibits viral replication and induces a predominant Th1 immune profile in old mice infected with influenza virus.
FASEB Bioadv. 2019 Mar 13;1(5):296-305.

Sarshar M, Scribano D, Tranquilli G, Di Pietro M, Filardo S, Zagaglia C, Sessa R, Palamara AT, Ambrosi C.
A simple, fast and reliable scan-based technique as a novel approach to quantify intracellular bacteria.
BMC Microbiol. 2019 Nov 12;19(1):252.

Scribano D, Marzano V, Levi Mortera S, Sarshar M, Vernocchi P, Zagaglia C, Putignani L, Palamara AT, Ambrosi C.
*Insights into the Periplasmic Proteins of *Acinetobacter baumannii* AB5075 and the Impact of Imipenem Exposure: A Proteomic Approach.*
Int J Mol Sci. 2019 Jul 13;20(14):3451.

Bellet MM, Borghi M, Pariano M, Renga G, Stincardini C, D'Onofrio F, Brancorsini S, Garaci E, Costantini C, Romani L.
Thymosin alpha 1 exerts beneficial extrapulmonary effects in cystic fibrosis.
Eur J Med Chem. 2020 Oct 9;112921. Epub ahead of print.

Romani L, Tomino C, Puccetti P, Garaci E.

Off-label therapy targeting pathogenic inflammation in COVID-19.

Cell Death Discov. 2020 Jun 12;6:49.

Ambrosi C, Prezioso C, Checconi P, Scribano D, Sarshar M, Capannari M, Tomino C, Fini M, Garaci E, Palamara AT, De Chiara G, Limongi D.

SARS-CoV-2: Comparative analysis of different RNA extraction methods.

J Virol Methods. 2020 Nov 4;114008. Epub ahead of print.

Prezioso C, Bianchi M, Obregon F, Ciotti M, Sarmati L, Andreoni M, Palamara AT, Pascarella S, Moens U, Pietropaolo V.

Structural analysis of Merkel Cell Polyomavirus (MCPyV) Viral Capsid Protein 1 (VP1) in HIV-1 infected individuals.

Int J Mol Sci. 2020 Oct 27;21(21):7998.

Fredolini C, Pathak KV, Paris L, Chapple KM, Tsantilas KA, Rosenow M, Tegeler TJ, Garcia-Mansfield K, Tamburro D, Zhou W, Russo P, Massarut S, Facchiano F, Belluco C, De Maria R, Garaci E, Liotta L, Petricoin EF, Pirrotte P.

Shotgun proteomics coupled to nanoparticle-based biomarker enrichment reveals a novel panel of extracellular matrix proteins as candidate serum protein biomarkers for early-stage breast cancer detection.

Breast Cancer Res. 2020 Dec 2;22(1):135.

Renga G, Bellet MM, Pariano M, Gargaro M, Stincardini C, D'Onofrio F, Mosci P, Brancorsini S, Bartoli A, Goldstein AL, Garaci E, Romani L, Costantini C.

Thymosin $\alpha 1$ protects from CTLA-4 intestinal immunopathology.

Life Sci Alliance. 2020 Aug 14;3(10):e202000662.

Leonardo Lupacchini, Fabrizio Maggi, Carlo Tomino, Chiara De Dominicis, Cristiana Mollinari, Massimo Fini, Stefano Bonassi, Daniela Merlo and Patrizia Russo.

Nicotine and cell growth in the Era of SARS-COV-2.

Molecules.2020.

Ferrari E, Cardinale A, Picconi B, Gardoni F.

From cell lines to pluripotent stem cells for modelling Parkinson's Disease.

J Neurosci Methods. 2020 Apr 18;340:108741. Epub ahead of print.

Sciaccaluga M, Mazzocchetti P, Bastioli G, Ghiglieri V, Cardinale A, Mosci P, Caccia C, Keywood C, Melloni E, Padoani G, Vailati S, Picconi B, Calabresi P, Tozzi A.

Effects of safinamide on the glutamatergic striatal network in experimental Parkinson's disease. Neuropharmacology. 2020 Jun 15;170:108024. Epub 2020 Mar 3.

Calabrese V, Di Maio A, Marino G, Cardinale A, Natale G, De Rosa A, Campanelli F, Mancini M, Napolitano F, Avallone L, Calabresi P, Usiello A, Ghiglieri V, Picconi B.

Rapamycin, by inhibiting mTORC1 signaling, prevents the loss of striatal bidirectional synaptic plasticity in a rat model of L-DOPA- Induced dyskinesia.

Front Aging Neurosci. 2020 Aug 11;12:230.

Marrocco J, Verhaeghe R, Bucci D, Di Menna L, Traficante A, Bouwalerh H, Van Camp G, Ghiglieri V, Picconi B, Calabresi P, Ravasi L, Cisani F, Bagheri F, Pittaluga A, Bruno V, Battaglia G, Morley-Fletcher S, Nicoletti F, Maccari S.

Maternal stress programs accelerated aging of the basal ganglia motor system in offspring. Neurobiol Stress. 2020 Nov 2;13:100265.

Magrone T, Magrone M, Russo MA, Jirillo E.
Peripheral immunosenescence and central neuroinflammation: a dangerous liaison. A dietary approach.

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2020 Apr 6. Epub ahead of print.

Frustaci A, Scarpa M, Maria da Riolo R, Agrati C, Finato N, Verardo R, Grande C, Chimenti C, Nora C, Russo MA, Livi U.

Fabry cardiomyopathy: Gb3-induced auto-reactive panmyocarditis requiring heart transplantation. ESC Heart Fail. 2020 Apr 29. [Epub ahead of print]

Papale M, Buccarelli M, Mollinari C, Russo MA, Pallini R, Ricci-Vitiani L, Tafani M.

Hypoxia, inflammation and necrosis as determinants of glioblastoma cancer stem cells progression. Int J Mol Sci. 2020 Apr 11;21(8).

Pellegrini L, Sileno S, D'Agostino M, Foglio E, Florio MC, Guzzanti V, Russo MA, Limana F, Magenta A.

MicroRNAs in cancer treatment-induced cardiotoxicity.

Cancers (Basel). 2020 Mar 17;12(3).

Magrone T, Jirillo E, Magrone M, Russo MA, Romita P, Massari F, Foti C.

Red grape polyphenol oral administration improves immune response in women affected by nickel-mediated allergic contact dermatitis.

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2020 Mar 13. [Epub ahead of print]

Pellegrini L, Foglio E, Pontemezzo E, Germani A, Russo MA, Limana F.

Cardiac Repair: the intricate crosstalk between the epicardium and the myocardium.

Curr Stem Cell Res Ther. 2020 Feb 18. [Epub ahead of print]

Frustaci A, Russo MA, Sansone L, Francone M, Verardo R, Grande C, Alfarano M, Chimenti C.
Heart failure from Gouty myocarditis: a case report.

Ann Intern Med. 2020 Mar 3;172(5):363-365. Epub 2019 Dec 3.

Magrone T, Magrone M, Russo MA, Jirillo E.

Platelets: Angels and demons dancing on the immune stage. Nutrition conducts the orchestra.

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2020 Sep 1. Epub ahead of print.

Magrone T, Magrone M, Russo MA, Jirillo E.

Taking advantage of plant defense mechanisms to promote human health. The plant immune system. First of two parts.

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2020 Aug 31.

Magrone T, Russo MA, Jirillo E.

Impact of heavy metals on host cells: special focus on nickel-mediated pathologies and novel interventional approaches.

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2020;20(7):1041-1058.

Ilari, S.; Giancotti, L.A.; Lauro, F.; Gliozzi, M.; Malafoglia, V.; Palma, E.; Tafani, M.; Russo, M.A.; Tomino, C.; Fini, M.; Salvemini, D.; Mollace, V.; Muscoli, C.

Natural antioxidant control of neuropathic pain - Exploring the role of mitochondrial SIRT3 pathway.

Antioxidants 2020, 9, 1103.

Albonici L, Benvenuto M, Focaccetti C, Cifaldi L, Miele MT, Limana F, Manzari V, Bei R. *PIGF Immunological impact during pregnancy*.
Int J Mol Sci. 2020 Nov 18;21(22):E8714.

Aventaggiato M, Vernucci E, Barreca F, Russo MA, Tafani M.
Sirtuins' control of autophagy and mitophagy in cancer.
Pharmacol Ther. 2020 Nov 24;107748. Epub ahead of print.

Linea 2

Savoia C, Iellamo F, Caminiti G, Doran DA, Pullinger S, Innaurato M, Annino G, Manzi V.
Rethinking training in elite soccer players: comparative evidence of small sided games and official match play in kinematic parameters.
J Sports Med Phys Fitness. 2020 Dec 14. Epub ahead of print.

Manzi V, Iellamo F, Alashram AR, D'onofrio R, Padua E, Casasco M, Annino G.
Effects of three different stretching protocols on hamstring muscle flexibility in professional soccer players: a randomized study.
J Sports Med Phys Fitness. 2020 Jul;60(7):999-1004.

Bosio A, Borchini M, Pecci C, Donatucci B, Montano M, Iellamo F.
Is the achievement of 85% of age-predicted heart ratemax at exercise test sufficient to make diagnosis of myocardial ischemia in athletes?
Minerva Cardioangiol. 2020 Apr;68(2):67-71.

Piepoli MF, Ponikowski PP, Volterrani M, Francis DP, Coats AJ.
Do Cheyne and Stokes have an important message for modern-day patients with heart failure? Yes they do.
Eur J Heart Fail. 2020 May 29. Epub ahead of print.

Iellamo F, Sposato B, Volterrani M.
Telemonitoring for the management of patients with heart failure.
Card Fail Rev. 2020 Apr 21;6:e07.

Lombardi CM, Carubelli V, Iorio A, Inciardi RM, Bellasi A, Canale C, Camporotondo R, Catagnano F, Dalla Vecchia LA, Giovinazzo S, Maccagni G, Mapelli M, Margonato D, Monzo L, Nuzzi V, Oriecua C, Peveri G, Pozzi A, Provenzale G, Sarullo F, Tomasoni D, Ameri P, Gnechi M, Leonardi S, Merlo M, Agostoni P, Carugo S, Danzi GB, Guazzi M, La Rovere MT, Mortara A, Piepoli M, Porto I, Sinagra G, Volterrani M, Specchia C, Metra M, Senni M.
Association of Troponin levels with mortality in italian patients hospitalized with Coronavirus Disease 2019: Results of a Multicenter Study.
JAMA Cardiol. 2020 Aug 26:e203538. Epub ahead of print.

Gulizia Chairperson MM, Parrini Co-Chairperson I, Colivicchi Co-Chairperson F, Bisceglia I, Caiazza F, Gensini GF, Mureddu GF, Santomauro M, Ageno W, Ambrosetti M, Aspromonte N, Barni S, Bellocchi F, Caldarola P, Carletti M, De Luca L, Di Fusco SA, Di Lenarda A, Di Nisio M, Domenicucci S, Enea I, Francese GM, Lestuzzi C, Lucà F, Maurea N, Nassiacos D, Pedretti RFE, Pusineri E, Roscio G, Rossini R, Russo A, Volterrani M, Gabrielli Co-Chairperson D.
Documento di consenso della Consulta delle Società Cardiologiche HCF-ANMCO/AICPR/GIEC/ITAHFA/SICOA/SICP/SIMG/SIT: La terapia anticoagulante nel tromboembolismo venoso e nella fibrillazione atriale del paziente con cancro. Le attuali conoscenze e le nuove evidenze [HCF-

ANMCO/AICPR/GIEC/ITAHFA/SICOA/SICP/SIMG/SIT *Cardiological Societies Council Consensus document: Anticoagulant therapy in venous thromboembolism and atrial fibrillation of the patient with cancer. Current knowledge and new evidence*].

G Ital Cardiol (Rome). 2020 Sep;21(9):687-738.

Ameri P, Inciardi RM, Di Pasquale M, Agostoni P, Bellasi A, Camporotondo R, Canale C, Carubelli V, Carugo S, Catagnano F, Danzi G, Vecchia LD, Giovinazzo S, Gneccchi M, Guazzi M, Iorio A, La Rovere MT, Leonardi S, Maccagni G, Mapelli M, Margonato D, Merlo M, Monzo L, Mortara A, Nuzzi V, Piepoli M, Porto I, Pozzi A, Provenzale G, Sarullo F, Sinagra G, Tedino C, Tomasoni D, Volterrani M, Zaccone G, Lombardi CM, Senni M, Metra M.

Pulmonary embolism in patients with COVID-19: characteristics and outcomes in the Cardio-COVID Italy multicenter study.

Clin Res Cardiol. 2020 Nov 3. Epub ahead of print.

Klompstra L, Kyriakou M, Lambrinou E, Piepoli MF, Coats AJ, Cohen-Solal A, Cornelis J, Gellen B, Marques-Sule E, Niederseer D, Orso F, Piotrowicz E, Van Craenenbroeck EM, Simonenko M, Witte K, Wozniak A, Volterrani M, Jaarsma T.

Measuring physical activity with activity monitors in patients with heart failure. From literature to practice. A position paper from the Committee on Exercise Physiology and Training of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2020 Oct 27. Epub ahead of print.

Tomasoni D, Inciardi RM, Lombardi CM, Tedino C, Agostoni P, Ameri P, Barbieri L, Bellasi A, Camporotondo R, Canale C, Carubelli V, Carugo S, Catagnano F, Dalla Vecchia LA, Danzi G, Di Pasquale M, Gaudenzi M, Giovinazzo S, Gneccchi M, Iorio A, La Rovere MT, Leonardi S, Maccagni G, Mapelli M, Margonato D, Merlo M, Monzo L, Mortara A, Nuzzi V, Piepoli M, Porto I, Pozzi A, Sarullo F, Sinagra G, Volterrani M, Zaccone G, Guazzi M, Senni M, Metra M.

Impact of heart failure on the clinical course and outcomes of patients hospitalized for COVID-19. Results of the Cardio-COVID-Italy multicentre study.

Eur J Heart Fail. 2020 Nov 12. Epub ahead of print

Caminiti G, Iellamo F, Volterrani M.

Evaluating the effects of exercise training on short-term blood pressure variability: is it a matter of index?

J Hum Hypertens. 2020 Jul;34(7):477. Epub 2020 Apr 27.

Volterrani, M., Perrone, V., Sangiorgi, D., Giacomini, E., Iellamo, F., Degli Esposti, L., & on the behalf of a LHUs Study Group (see Appendix).

Effects of hyperkalaemia and non-adherence to renin-angiotensin-aldosterone system inhibitor therapy in patients with heart failure in Italy: A propensity-matched study.

European Journal of Heart Failure. 2020. 22(11), 2049-2055.

Wleklik M, Uchmanowicz I, Jankowska EA, Vitale C, Lisiak M, Drozd M, Pobrotyn P, Tkaczyszyn M, Lee C.

Multidimensional approach to frailty.

Front Psychol. 2020 Mar 25;11:564.

Biffi A, Rea F, Scotti L, Lucenteforte E, Vannacci A, Lombardi N, Chinellato A, Onder G, Vitale C, Cascini S, Ingrassiotta Y, Roberto G, Mugelli A, Corrao G; Italian Group for Appropriate Drug prescription in the Elderly (I-GrADE).

Antidepressants and the risk of cardiovascular events in elderly affected by cardiovascular disease: a real-life investigation from Italy.

J Clin Psychopharmacol. 2020 Mar/Apr;40(2):112-121.

Maltese G, Corsonello A, Di Rosa M, Soraci L, Vitale C, Corica F, Lattanzio F.
Frailty and COVID-19: asystematic scoping review.
J Clin Med. 2020 Jul 4;9(7):2106.

Uchmanowicz I, Lee CS, Vitale C, Manulik S, Denfeld QE, Uchmanowicz B, Rosińczuk J, Drozd M, Jaroch J, Jankowska EA.
Frailty and the risk of all-cause mortality and hospitalization in chronic heart failure: a meta-analysis.
ESC Heart Fail. 2020 Sep 21. Epub ahead of print.

Vitale C, Lucchi M, Bissacco D, Bilancini S, D'Abate F, Santoliquido A.
Expert consensus on the conservative management of patients with chronic venous disease in CEAP clinical classes C0s-C3 in Italy.
Phlebology. 2020 Jun;35(5):316-324.

Hill L, Carson MA, Vitale C.
Care plans for the older heart failure patient.
Eur Heart J Suppl. 2019 Dec;21(Suppl L):L32-L35.

Vitale C, Uchmanowicz I.
Frailty in patients with heart failure.
Eur Heart J Suppl. 2019 Dec;21(Suppl L):L12-L16. Epub 2019 Dec 23.

Jankowska EA, Vitale C, Uchmanowicz I, Tkaczyszyn M, Drozd M, Ponikowski P.
Drug therapy in elderly heart failure patients.
Eur Heart J Suppl. 2019 Dec;21(Suppl L):L8-L11. Epub 2019 Dec 23.

Vitale C, Hill L.
Assess frailty but avoid frailtyism.
Eur Heart J Suppl. 2019 Dec;21(Suppl L):L17-L19. Epub 2019 Dec 23.

Savarese G, Reiner MF, Uijl A, D'Amario D, Agewall S, Atar D, Baumgartner I, Borghi C, De Carlo M, Drexel H, Kaski JC, Kjeldsen KP, Kucher N, Lund LH, Niessner A, Semb AG, Schmidt TA, Sulzgruber P, Tamargo J, Vitale C, Wassmann S, Aboyans V, Lewis BS.
Antithrombotic therapy and major adverse limb events in patients with chronic lower extremity arterial disease: systematic review and meta-analysis from the European Society of Cardiology Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy in Collaboration with the European Society of Cardiology Working Group on Aorta and Peripheral Vascular Diseases.
Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Apr 1;6(2):86-93.

Caprio M, Vitale C, Rosano GMC.
From glucose lowering to treatment of cardiovascular disease: the repositioning of glucose-lowering agents.
Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Apr 16. [Epub ahead of print]

Lombardo M, Bellia C, Aulisa G, Pratesi A, Perrone MA, Padua E, Iellamo F, Caprio M, Bellia A.
The different daily distribution of proteins does not influence the variations in body composition in a sample of subjects undergoing a low-calorie mediterranean-type diet.
Minerva Gastroenterol Dietol. 2020 Mar 24. [Epub ahead of print]

Paoli A, Mancin L, Giacona MC, Bianco A, Caprio M.
Effects of a ketogenic diet in overweight women with polycystic ovary syndrome.

J Transl Med. 2020 Feb 27;18(1):104.

Infante M, Sears B, Rizzo AM, Mariani Cerati D, Caprio M, Ricordi C, Fabbri A.
Omega-3 PUFAs and vitamin D co-supplementation as a safe-effective therapeutic approach for core symptoms of autism spectrum disorder: case report and literature review.
Nutr Neurosci. 2020 Oct;23(10):779-790.

Lombardo M, Bellia C, Moletto C, Aulisa G, Padua E, Della-Morte D, Caprio M, Bellia A.
Effects of quality and quantity of protein intake for Type 2 Diabetes Mellitus prevention and metabolic control.
Curr Nutr Rep. 2020 Jun 23. Epub ahead of print.

Lombardo M, Perrone MA, Guseva E, Aulisa G, Padua E, Bellia C, Della-Morte D, Iellamo F, Caprio M, Bellia A.
Losing weight after menopause with minimal aerobic training and mediterranean diet.
Nutrients. 2020 Aug 17;12(8):2471.

Infante M, Ricordi C, Alejandro R, Caprio M, Fabbri A.
Hydroxychloroquine in the COVID-19 pandemic era: in pursuit of a rational use for prophylaxis of SARS-CoV-2 infection.
Expert Rev Anti Infect Ther. 2020 Aug 16:1-12. Epub ahead of print.

Paoli A, Gorini S, Caprio M.
The dark side of the spoon - glucose, ketones and COVID-19: a possible role for ketogenic diet?
J Transl Med. 2020 Nov 20;18(1):441.

Barrea L, Caprio M, Tuccinardi D, Moriconi E, Di Renzo L, Muscogiuri G, Colao A, Savastano S; Obesity Programs of nutrition, Education, Research and Assessment (OPERA) group.
Could ketogenic diet "starve" cancer? Emerging evidence.
Crit Rev Food Sci Nutr. 2020 Dec 4:1-22. Epub ahead of print.

Anker MS, Bouleti C, Christodoulides T, Durante A, Gara E, Hadzibegovic S, Keramida K, Lena A, Massouh A, Milinkovic I, Nägele MP, Nossikoff A, Plácido R, Radovits T, Tolppanen H, Vergaro G, Wallner M, Welch S, Lopatin Y, Lainscak M, Mebazaa A, Coats AJS, Seferović PM, Jankowska EA; Heart Failure Association Committee on Heart Failure Specialists of Tomorrow of the European Society of Cardiology.
The heart failure specialists of tomorrow: a network for young cardiovascular scientists and clinicians.
ESC Heart Fail. 2020 Apr 30. [Epub ahead of print]

Harjola VP, Parissis J, Bauersachs J, Brunner-La Rocca HP, Bueno H, Čelutkienė J, Chioncel O, Coats AJS, Collins SP, de Boer RA, Filippatos G, Gayat E, Hill L, Laine M, Lassus J, Lommi J, Masip J, Mebazaa A, Metra M, Miró Ò, Mortara A, Mueller C, Mullens W, Peacock WF, Pentikäinen M, Piepoli MF, Polyzogopoulou E, Rudiger A, Ruschitzka F, Seferovic P, Sionis A, Teerlink JR, Thum T, Varpula M, Weinstein JM, Yilmaz MB.
Acute coronary syndromes and acute heart failure: a diagnostic dilemma and high-risk combination. A statement from the Acute Heart Failure Committee of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.
Eur J Heart Fail. 2020 Apr 29. [Epub ahead of print]

Pozzoli M, Gonzalez-Costello J, Bayes-Genis A, Sinagra G, Anker SD, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Filippatos G, Laroche C, Maggioni AP, Mebazaa A, Piepoli MF, Tavazzi L; ESC Heart Failure Long-Term Registry Investigators Group.

Prevalence of risk of thrombosis and of bleeding and antithrombotic treatment in patients with heart failure.

Eur J Heart Fail. 2020 Mar 30. [Epub ahead of print]

Mullens W, Damman K, Testani JM, Martens P, Mueller C, Lassus J, Tang WHW, Skouri H, Verbrugge FH, Orso F, Hill L, Ural D, Lainscak M, Rossignol P, Metra M, Mebazaa A, Seferovic P, Ruschitzka F, Coats A.

Evaluation of kidney function throughout the heart failure trajectory - a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2020 Apr;22(4):584-603. Epub 2020 Jan 7.

Zhang Y, Coats AJS, Zheng Z, Adamo M, Ambrosio G, Anker SD, Butler J, Xu D, Mao J, Khan MS, Bai L, Mebazaa A, Ponikowski P, Tang Q, Ruschitzka F, Seferovic P, Tschöpe C, Zhang S, Gao C, Zhou S, Senni M, Zhang J, Metra M.

Management of heart failure patients with COVID-19: a joint position paper of the Chinese Heart Failure Association & National Heart Failure Committee and the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2020 Jun;22(6):941-956.

Lyon AR, Dent S, Stanway S, Earl H, Brezden-Masley C, Cohen-Solal A, Tocchetti CG, Moslehi JJ, Groarke JD, Bergler-Klein J, Khoo V, Tan LL, Anker MS, von Haehling S, Maack C, Pudil R, Barac A, Thavendiranathan P, Ky B, Neilan TG, Belenkov Y, Rosen SD, Iakobishvili Z, Sverdlov AL, Hajjar LA, Macedo AVS, Manisty C, Ciardiello F, Farmakis D, de Boer RA, Skouri H, Suter TM, Cardinale D, Witteles RM, Fradley MG, Herrmann J, Cornell RF, Wechelaker A, Mauro MJ, Milojkovic D, de Lavallade H, Ruschitzka F, Coats AJS, Seferovic PM, Chioncel O, Thum T, Bauersachs J, Andres MS, Wright DJ, López-Fernández T, Plummer C, Lenihan D.

Baseline cardiovascular risk assessment in cancer patients scheduled to receive cardiotoxic cancer therapies: a position statement and new risk assessment tools from the Cardio-Oncology Study Group of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology in collaboration with the International Cardio-Oncology Society.

Eur J Heart Fail. 2020 May 28.

Giallauria F, Cuomo G, Parlato A, Raval NY, Kuschyk J, Stewart Coats AJ.

A comprehensive individual patient data meta-analysis of the effects of cardiac contractility modulation on functional capacity and heart failure-related quality of life.

ESC Heart Fail. 2020 Jul 23.

Hill L, Geller TP, Baruah R, Beattie JM, Boyne J, De Stoutz N, Di Stolfo G, Lambrinou E, Skibelund AK, Uchmanowicz I, Rutten FH, Čelutkienė J, Piepoli MF, Jankowska EA, Chioncel O, Gal TB, Seferovic PM, Ruschitzka F, Coats AJ, Strömberg A, Jaarsma T.

Integration of a palliative approach into heart failure care: a European Society of Cardiology Heart Failure Association position paper.

Eur J Heart Fail. 2020 Sep 6. Epub ahead of print.

Sliwa K, Bauersachs J, Coats AJS.

The European Society of Cardiology Heart Failure Association Study Group on Peripartum Cardiomyopathy - what has been achieved in 10 years.

Eur J Heart Fail. 2020 Jul;22(7):1060-1064.

de Boer RA, Hulot JS, Gabriele Tocchetti C, Aboumsallem JP, Ameri P, Anker SD, Bauersachs J, Bertero E, Coats AAJ, Čelutkienė J, Chioncel O, Dodion P, Eschenhagen T, Farmakis D, Bayes-Genis A, Jäger D, Jankowska EA, Kitsis RN, Konety SH, Larkin J, Lehmann L, Lenihan DJ, Maack C, Moslehi J, Müller OJ, Nowak-Sliwiska P, Piepoli MF, Ponikowski P, Pudil R, Rainer PP,

Ruschitzka F, Sawyer D, Seferovic PM, Suter T, Thum T, van der Meer P, Van Laake LW, von Haehling S, Heymans S, Lyon AR, Backs J.

Common mechanistic p in cancer and heart failure.

Eur J Heart Fail. 2020 Oct 22. Epub ahead of print.

Mullens W, Auricchio A, Martens P, Witte K, Cowie MR, Delgado V, Dickstein K, Linde C, Vernooy K, Leyva F, Bauersachs J, Israel CW, Lund L, Donal E, Boriani G, Jaarsma T, Berruezo A, Traykov V, Yousef Z, Kalarus Z, Nielsen JC, Steffel J, Vardas P, Coats A, Seferovic P, Edvardsen T, Heidbuchel H, Ruschitzka F, Leclercq C.

Optimized Implementation of cardiac resynchronization therapy - a call for action for referral and optimization of care.

Eur J Heart Fail. 2020 Nov 2. Epub ahead of print.

Anker MS, von Haehling S, Coats AJ, Riess H, Eucker J, Porthun J, Butler J, Karakas M, Haverkamp W, Landmesser U, Anker SD.

Ventricular tachycardia, premature ventricular contractions, and mortality in unselected patients with lung, colon, or pancreatic cancer: a prospective study.

Eur J Heart Fail. 2020 Nov 22. Epub ahead of print.

Anker MS, Sanz AP, Zamorano JL, Mehra MR, Butler J, Riess H, Coats AJS, Anker SD.

Advanced cancer is also a heart failure syndrome - an hypothesis.

Eur J Heart Fail. 2020 Nov 28. Epub ahead of print.

Tomasoni D, Adamo M, Anker MS, von Haehling S, Coats AJS, Metra M.

Heart failure in the last year: progress and perspective.

ESC Heart Fail. 2020 Dec 5. Epub ahead of print.

Anker MS, Springer J, Coats AJ, von Haehling S.

The 10th year of the Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle.

J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2020 Dec;11(6):1390-1395.

Rossignol P, Lainscak M, Crespo-Leiro MG, Laroche C, Piepoli MF, Filippatos G, Rosano GMC, Savarese G, Anker SD, Seferovic PM, Ruschitzka F, Coats AJS, Mebazaa A, McDonagh T, Sahuquillo A, Penco M, Maggioni AP, Lund LH; Heart Failure Long-Term Registry Investigators Group.

Unravelling the interplay between hyperkalaemia, renin-angiotensin-aldosterone inhibitor use and clinical outcomes. Data from 9222 chronic heart failure patients of the ESC-HFA-EORP Heart Failure Long-Term Registry.

Eur J Heart Fail. 2020 Apr 3. [Epub ahead of print]

Spoletini I, Ferrari R, Rosano GMC.

Living with stable angina: patients' pathway and needs in angina.

J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2020 May;21(5):377-382.

Manolis AJ, Kallistratos MS, Poulimenos LE, Ambrosio G, Dechend R, Lopez-Sendon J, Rosano G, Collins P.

The ESC 2019 CCS guidelines: have we left our patients and scientific evidence behind?

Eur J Intern Med. 2020 Feb;72:5-8. Epub 2019 Dec 24.

Hollan I, Ronda N, Dessein P, Agewall S, Karpouzas G, Tamargo J, Niessner A, Savarese G, Rosano G, Kaski JC, Wassmann S, Meroni PL.

Lipid management in rheumatoid arthritis: a position paper of the Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy of the European Society of Cardiology.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Apr 1;6(2):104-114.

Mascolo A, Urbanek K, De Angelis A, Sessa M, Scavone C, Berrino L, Rosano GMC, Capuano A, Rossi F.

Angiotensin II and angiotensin 1-7: which is their role in atrial fibrillation?

Heart Fail Rev. 2020 Mar;25(2):367-380.

Drexel H, Rosano GMC, Lewis BS, Huber K, Vonbank A, Dopheide JF, Mader A, Niessner A, Savarese G, Wassmann S, Agewall S.

The age of randomized clinical trials: three important aspects of randomized clinical trials in cardiovascular pharmacotherapy with examples from lipid and diabetes trials.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Apr 1;6(2):97-103.

Anker SD, Butler J, Khan MS, Abraham WT, Bauersachs J, Bocchi E, Bozkurt B, Braunwald E, Chopra VK, Cleland JG, Ezekowitz J, Filippatos G, Friede T, Hernandez AF, Lam CSP, Lindenfeld J, McMurray JJV, Mehra M, Metra M, Packer M, Pieske B, Pocock SJ, Ponikowski P, Rosano GMC, Teerlink JR, Tsutsui H, Van Veldhuisen DJ, Verma S, Voors AA, Wittes J, Zannad F, Zhang J, Seferovic P, Coats AJS.

Conducting clinical trials in heart failure during (and after) the COVID-19 pandemic: an Expert Consensus Position Paper from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC).

Eur Heart J. 2020 Jun 7;41(22):2109-2117.

Seferović PM, Fragasso G, Petrie M, Mullens W, Ferrari R, Thum T, Bauersachs J, Anker SD, Ray R, Çavuşoğlu Y, Polovina M, Metra M, Ambrosio G, Prasad K, Seferović J, Jhund PS, Dattilo G, Čelutkienė J, Piepoli M, Moura B, Chioncel O, Ben Gal T, Heymans S, de Boer RA, Jaarsma T, Hill L, Lopatin Y, Lyon AR, Ponikowski P, Lainščak M, Jankowska E, Mueller C, Cosentino F, Lund L, Filippatos GS, Ruschitzka F, Coats AJS, Rosano GMC.

Sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors in heart failure: beyond glycaemic control. The position paper of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2020 Jul 2. Epub ahead of print.

Čelutkienė J, Pudil R, López-Fernández T, Grapsa J, Nihoyannopoulos P, Bergler-Klein J, Cohen-Solal A, Farmakis D, Tocchetti CG, von Haehling S, Barberis V, Flachskampf FA, Čepionienė I, Haegler-Laube E, Suter T, Lapinskas T, Prasad S, de Boer RA, Wechalekar K, Anker MS, Iakobishvili Z, Bucciarelli-Ducci C, Schulz-Menger J, Cosyns B, Gaemperli O, Belenkov Y, Hulot JS, Galderisi M, Lancellotti P, Bax J, Marwick TH, Chioncel O, Jaarsma T, Mullens W, Piepoli M, Thum T, Heymans S, Mueller C, Moura B, Ruschitzka F, Zamorano JL, Rosano G, Coats AJS, Asteggiano R, Seferovic P, Edvardsen T, Lyon AR.

Role of cardiovascular imaging in cancer patients receiving cardiotoxic therapies: a position statement on behalf of the Heart Failure Association (HFA), the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) and the Cardio-Oncology Council of the European Society of Cardiology (ESC).

Eur J Heart Fail. 2020 Jul 4. Epub ahead of print.

Chioncel O, Parissis J, Mebazaa A, Thiele H, Desch S, Bauersachs J, Harjola VP, Antohi EL, Arrigo M, Gal TB, Celutkienė J, Collins SP, DeBacker D, Iliescu VA, Jankowska E, Jaarsma T, Keramida K, Lainscak M, Lund LH, Lyon AR, Masip J, Metra M, Miro O, Mortara A, Mueller C, Mullens W, Nikolaou M, Piepoli M, Price S, Rosano G, Vieillard-Baron A, Weinstein JM, Anker SD, Filippatos G, Ruschitzka F, Coats AJS, Seferovic P.

Epidemiology, pathophysiology and contemporary management of cardiogenic shock - a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2020 May 29. Epub ahead of print.

Kapłon-Cieślicka A, Laroche C, Crespo-Leiro MG, Coats AJS, Anker SD, Filippatos G, Maggioni AP, Hage C, Lara-Padrón A, Fucili A, Drożdż J, Seferovic P, Rosano GMC, Mebazaa A, McDonagh T, Lainscak M, Ruschitzka F, Lund LH; Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC) and the ESC Heart Failure Long-Term Registry Investigators.

Is heart failure misdiagnosed in hospitalized patients with preserved ejection fraction? From the European Society of Cardiology - Heart Failure Association EURObservational Research Programme Heart Failure Long-Term Registry.

ESC Heart Fail. 2020 Jul 2. Epub ahead of print.

Jaarsma T, Hill L, Bayes-Genis A, Brunner La Rocca HP, Castiello T, Čelutkienė J, Marques-Sule E, Plymen CM, Piper SE, Riegel B, Rutten FH, Ben Gal T, Bauersachs J, Coats A, Chioncel O, Lopatin Y, Lund LH, Lainscak M, Moura B, Mullens W, Piepoli MF, Rosano G, Seferovic P, Strömberg A.

Self-care of heart failure patients: practical management recommendations from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2020 Sep 18. Epub ahead of print.

El Hadidi S, Rosano G, Tamargo J, Agewall S, Drexel H, Kaski JC, Niessner A, Lewis BS, Coats AJS.

Potentially Inappropriate Prescriptions in Heart Failure with Reduced Ejection Fraction (PIP-HFrEF).

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Sep 17:pvaa108. Epub ahead of print.

Marzilli M, Vinereanu D, Lopaschuk G, Chen Y, Dalal JJ, Danchin N, Etriby E, Ferrari R, Gowdak LH, Lopatin Y, Milicic D, Parkhomenko A, Pinto F, Ponikowski P, Seferovic P, Rosano GMC. *Corrigendum to "Trimetazidine in cardiovascular medicine," [Int. J. Cardiol., 293 (2019) 39-44].*

Int J Cardiol. 2020 Sep 2:S0167-5273(20)33405-7. Epub ahead of print. Erratum for: Int J Cardiol. 2019 Oct 15;293:39-44.

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

Corrigendum to "Anti-anginal drugs: Systematic review and clinical implications" [Int. J. Cardiol. 283 (2019) 55-63].

Int J Cardiol. 2020 Jul 9:S0167-5273(20)33406-9. Epub ahead of print. Erratum for: Int J Cardiol. 2019 May 15;283:55-63.

Mascolo A, Urbanek K, De Angelis A, Sessa M, Scavone C, Berrino L, Rosano GMC, Capuano A, Rossi F. C

Correction to: Angiotensin II and angiotensin 1-7: which is their role in atrial fibrillation?

Heart Fail Rev. 2020 Sep;25(5):897. Erratum for: Heart Fail Rev. 2020 Apr 20

Triposkiadis F, Butler J, Abboud FM, Armstrong PW, Adamopoulos S, Atherton JJ, Baks J, Bauersachs J, Burkhoff D, Bonow RO, Chopra VK, de Boer RA, de Windt L, Hamdani N, Hasenfuss G, Heymans S, Hulot JS, Konstam M, Lee RT, Linke WA, Lunde IG, Lyon AR, Maack C, Mann DL, Mebazaa A, Mentz RJ, Nihoyannopoulos P, Papp Z, Parissis J, Pedrazzini T, Rosano G, Rouleau J, Seferovic PM, Shah AM, Starling RC, Tocchetti CG, Trochu JN, Thum T, Zannad F, Brutsaert DL, Segers VF, De Keulenaer GW.

The continuous heart failure spectrum: moving beyond an ejection fraction classification.

Eur Heart J. 2019 Jul 1;40(26):2155-2163.

Manolis AJ, Kallistratos MS, Poulimenos LE, Ambrosio G, Dechend R, Lopez-Sendon J, Rosano G, Collins P.

The ESC 2019 CCS guidelines: Have we left our patients and scientific evidence behind?

Eur J Intern Med. 2020 Feb;72:5-8. Epub 2019 Dec 24.

Kapeliou CJ, Laroche C, Crespo-Leiro MG, Anker SD, Coats AJS, Díaz-Molina B, Filippatos G, Lainscak M, Maggioni AP, McDonagh T, Mebazaa A, Metra M, Moura B, Mullens W, Piepoli MF, Rosano GMC, Ruschitzka F, Seferovic PM, Lund LH; Heart Failure Long-Term Registry Investigators Group.

Association between loop diuretic dose changes and outcomes in chronic heart failure: observations from the ESC-EORP Heart Failure Long-Term Registry.

Eur J Heart Fail. 2020 Apr 1. doi:10.1002/ejhf.1796.

Seferović PM, Fragasso G, Petrie M, Mullens W, Ferrari R, Thum T, Bauersachs J, Anker SD, Ray R, Çavușoğlu Y, Polovina M, Metra M, Ambrosio G, Prasad K, Seferović J, Jhund PS, Dattilo G, Čelutkienė J, Piepoli M, Moura B, Chioncel O, Ben Gal T, Heymans S, Jaarsma T, Hill L, Lopatin Y, Lyon AR, Ponikowski P, Lainščak M, Jankowska E, Mueller C, Cosentino F, Lund LH, Filippatos GS, Ruschitzka F, Coats AJS, Rosano GMC.

Heart Failure Association of the European Society of Cardiology Update on Sodium Glucose Co-transporter-2 Inhibitors in Heart Failure (an update on the Sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors in heart failure: beyond glycaemic control. The position paper of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology).

Eur J Heart Fail. 2020 Oct 17. Epub ahead of print.

Drexel H, Coats AJS, Spoletini I, Bilato C, Mollace V, Perrone Filardi P, Rosano GMC.

ESC position paper on statins adherence and implementation of new lipid-lowering medications: barriers to be overcome.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Apr 1;6(2):115-121.

Rosano G, Schiefke I, Göhring UM, Fabien V, Bonassi S, Stein J.

A pooled analysis of serum phosphate measurements and potential hypophosphataemia events in 45 interventional trials with ferric carboxymaltose.

J Clin Med. 2020 Nov 6;9(11):E3587.

Drexel H, Lewis BS, Rosano GMC, Saely CH, Tautermann G, Huber K, Dopheide JF, Kaski JC, Mader A, Niessner A, Savarese G, Schmidt TA, Semb A, Tamargo J, Wassmann S, Kjeldsen KP, Agewall S, Pocock SJ.

The age of randomized clinical trials: three important aspects of randomized clinical trials in cardiovascular pharmacotherapy with examples from lipid, diabetes, and antithrombotic trials.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Nov 2:pvaa126. Epub ahead of print.

Ferrari R, Rosano G.

2019 guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes: congratulations and criticism.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Sep 1;6(5):331-332.

Tamargo J, Rosano G.

Low quality of some generic cardiovascular medicinal products represents a matter for growing concern.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Jul 1;6(3):176-187.

Rosano G, Quek D, Martínez F.

Sodium-Glucose Co-transporter 2 inhibitors in heart failure: recent data and implications for practice.

Card Fail Rev. 2020 Nov 13;6:e31.

Dschietzig TB, Rosano GMC, Anker SD.

The (apparent) sacubitril/valsartan sex interaction in heart failure with preserved ejection fraction: not the result of relaxin effects but of BNP action?!

ESC Heart Fail. 2020 Dec 15. Epub ahead of print.

Zago M, Duarte NAC, Grecco LAC, Condoluci C, Oliveira CS, Galli M.

Gait and postural control patterns and rehabilitation in Down syndrome: a systematic review.

J Phys Ther Sci. 2020 Apr;32(4):303-314. Epub 2020 Apr 2.

Cimolin V, Condoluci C, Manzia CM, Girolamo GD, Galli M.

Quantification of upper body strategy during gait in children with spastic diplegia using a summary parameter.

Comput Methods Biomech Biomed Engin. 2020 Jul 23:1-7.

Zago M, Esposito F, Bertozzi F, Tritto B, Rampichini S, Galvani C, Galli M, Sforza C.

Kinematic effects of repeated turns while running.

Eur J Sport Sci. 2019 Sep;19(8):1072-1081. Epub 2019 Mar 5.

Elisa Ravizzotti, Stefano Vercelli, Leonardo Pellicciari, Mariusz P. Furmanek, Giulia Zagnoni, Daniele Piscitelli.

Reliability and Validity of the Trunk Control Measurement Scale Among Children and Adolescents With Cerebral Palsy in Tanzania.

Percept Motor Skill 2020; 1-14.

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

Dopaminergic symptoms in migraine: a cross-sectional study on 1148 consecutive headache center-based patients.

Cephalalgia. 2020 Jun 2:333102420929023. Online ahead of print.

Barbanti P, Brighina F, Egeo G, Di Stefano V, Silvestro M, Russo A.

Migraine as a Cortical Brain Disorder.

Headache. 2020 Oct;60(9):2103-2114. Epub 2020 Aug 26.

Egeo G, Fofi L, Barbanti P.

Botulinum Neurotoxin for the Treatment of Neuropathic Pain.

Front Neurol. 2020 Aug 11;11:716.

Altamura C, Costa C, Fofi L, Viticchi G, Fallacara A, Brunelli N, Egeo G, Aurilia C, Migliore S, Barbanti P, Silvestrini M, Vernieri F.

Migraineurs' psychological traits do not influence response to erenumab.

Neurol Sci. 2020 Aug 27. Epub ahead of print.

Vernieri F, Altamura C, Aurilia C, Brunelli N, Egeo G, Fofi L, Costa CM, Fallacara A, Favoni V, Pierangeli G, Aguggia M, Bertuzzo D, Albanese M, Di Fiore P, Frediani F, Cevoli S, Barbanti P.
Effectiveness, safety, and tolerability of galcanezumab in a real-life setting in patients with migraine in Italy (the GARLIT study).

Neurol Sci. 2020 Aug 26. Epub ahead of print.

- Altamura C, Cevoli S, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, Torelli P, Brunelli N, Pierangeli G, Favoni V, Fallacara A, Pensato U, Barbanti P, Vernieri F.
Locking down the CGRP pathway during the COVID-19 pandemic lockdown: the PandeMig study. *Neurol Sci.* 2020 Dec;41(12):3385-3389.
- Fofi L, Egeo G, Aurilia C, Barbanti P.
Erenumab during pregnancy: a case report in a patient with chronic migraine.
Neurol Sci. 2020 Nov 26. Epub ahead of print.
- Barbanti P, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, Cevoli S, Colombo B, Filippi M, Frediani F, Bono F, Grazi L, Salerno A, Mercuri B, Carnevale A, Altamura C, Vernieri F.
Erenumab in the prevention of high-frequency episodic and chronic migraine: Erenumab in Real Life in Italy (EARLY), the first Italian multicenter, prospective real-life study.
Headache. 2020 Dec 18. Epub ahead of print.
- Marcos-Pérez D, Sánchez-Flores M, Proietti S, Bonassi S, Costa S, Teixeira JP, Fernández-Tajes J, Pásaro E, Valdiglesias V, Laffon B.
Low vitamin D levels and frailty status in older adults: asystematic review and meta-analysis.
Nutrients. 2020 Jul 30;12(8):2286.
- Marcos-Pérez D, Sánchez-Flores M, Proietti S, Bonassi S, Costa S, Teixeira JP, Fernández-Tajes J, Pásaro E, Laffon B, Valdiglesias V.
Association of inflammatory mediators with frailty status in older adults: results from a systematic review and meta-analysis.
Geroscience. 2020 Aug 15. Epub ahead of print.
- Santoro A, Tomino C, Prinzi G, Cardaci V, Fini M, Macera L, Russo P, Maggi F.
Microbiome in chronic obstructive pulmonary disease: role of natural products against microbial pathogens.
Curr Med Chem. 2020;27(18):2931-2948.
- Valencia-Quintana R, Milić M, Jakšić D, Šegvić Klarić M, Tenorio-Arvide MG, Pérez-Flores GA, Bonassi S, Sánchez-Alarcón J.
Environment changes, aflatoxins, and health issues, a review.
Int J Environ Res Public Health. 2020 Oct 27;17(21):E7850.
- Fenech M, Knasmueller S, Bolognesi C, Holland N, Bonassi S, Kirsch-Volders M.
Micronuclei as biomarkers of DNA damage, aneuploidy, inducers of chromosomal hypermutation and as sources of pro-inflammatory DNA in humans.
Mutat Res. 2020 Oct-Dec;786:108342. Epub 2020 Oct 28.
- Møller P, Azqueta A, Boutet-Robinet E, Koppen G, Bonassi S, Milić M, Gajski G, Costa S, Teixeira JP, Costa Pereira C, Dusinska M, Godschalk R, Brunborg G, Gutzkow KB, Giovannelli L, Cooke MS, Richling E, Laffon B, Valdiglesias V, Basaran N, Del Bo' C, Zegura B, Novak M, Stopper H, Vodicka P, Vodenkova S, de Andrade VM, Sramkova M, Gabelova A, Collins A, Langie SAS.
Minimum Information for Reporting on the Comet Assay (MIRCA): recommendations for describing comet assay procedures and results.
Nat Protoc. 2020 Oct 26. Epub ahead of print.
- Geroin C, Artusi CA, Gandolfi M, Zanolin E, Ceravolo R, Capecci M, Andrenelli E, Ceravolo MG, Bonanni L, Onofri M, Telese R, Bellavita G, Catalan M, Manganotti P, Mazzucchi S, Giannoni S, Vacca L, Stocchi F, Casali M, Falup-Pecurariu C, Zibetti M, Fasano A, Lopiano L, Tinazzi M.

Does the degree of trunk bending predict patient disability, motor impairment, falls, and back pain in Parkinson's Disease?

Front Neurol. 2020 Mar 31;11:207.

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

Abnormal cortical neural synchronization mechanisms in quiet wakefulness are related to motor deficits, cognitive symptoms, and visual hallucinations in Parkinson's disease patients: an electroencephalographic study.

Neurobiol Aging. 2020 Jul;91:88-111. Epub 2020 Mar 12.

Babiloni C, Lopez S, Del Percio C, Noce G, Pascarelli MT, Lizio R, Teipel SJ, González-Escamilla G, Bakardjian H, George N, Cavedo E, Lista S, Chiesa PA, Vergallo A, Lemercier P, Spinelli G, Grothe MJ, Potier MC, Stocchi F, Ferri R, Habert MO, Fraga FJ, Dubois B, Hampel H; INSIGHT-preAD Study Group.

Resting-state posterior alpha rhythms are abnormal in subjective memory complaint seniors with preclinical Alzheimer's neuropathology and high education level: the INSIGHT-preAD study. Neurobiol Aging. 2020 Jun;90:43-59. Epub 2020 Feb 1.

Stocchi F, Vacca L, Grassini P, Tomino C, Caminiti G, Casali M, D'Antoni V, Volterrani M, Torti M.

Overnight switch from rasagiline to safinamide in parkinson's disease patients with motor fluctuations: A tolerability and safety study.

Eur J Neurol. 2020 Sep 22. Epub ahead of print.

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

Ongoing electroencephalographic rhythms related to exploratory movements in transgenic TASTPM mice.

J Alzheimers Dis. 2020 Sep 11. Epub ahead of print.

Stocchi F, Fossati B, Torti M.

Safety considerations when using non-ergot dopamine agonists to treat Parkinson's disease.

Expert Opin Drug Saf. 2020 Sep 1. Epub ahead of print.

Babiloni C, Ferri R, Noce G, Lizio R, Lopez S, Soricelli A, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Cipollini V, Marizzoni M, Güntekin B, Aktürk T, Hanoğlu L, Yener G, Emek-Savaş DD, Stocchi F, Vacca L, Frisoni GB, Del Percio C.

Resting-state electroencephalographic delta rhythms may reflect global cortical arousal in healthy old seniors and patients with Alzheimer's disease dementia.

Int J Psychophysiol. 2020 Oct 17;S0167-8760(20)30234-30238.

Del Chierico F, Grassini P, Quagliariello A, Torti M, Russo A, Reddel S, Stocchi F.

The impact of intestinal microbiota on weight loss in Parkinson's disease patients: a pilot study. Future Microbiol. 2020 Sep;15:1393-1404.

Pascarelli MT, Del Percio C, De Pandis MF, Ferri R, Lizio R, Noce G, Lopez S, Rizzo M, Soricelli A, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Salvetti M, Cipollini V, Franciotti R, Onofri M, Fuhr P,

Gschwandtner U, Ransmayr G, Aarsland D, Parnetti L, Farotti L, Marizzoni M, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Yener G, Emek-Savaş DD, Ivano Triggiani A, Paul Taylor J, McKeith I, Stocchi F, Vacca L, Hampel H, Frisoni GB, Bonanni L, Babiloni C.

Abnormalities of resting-state EEG in patients with prodromal and overt dementia with Lewy bodies: relation to clinical symptoms.

Clin Neurophysiol. 2020 Nov;131(11):2716-2731.

Babiloni C, Noce G, Di Bonaventura C, Lizio R, Pascarelli MT, Tucci F, Soricelli A, Ferri R, Nobili F, Famà F, Palma E, Cifelli P, Marizzoni M, Stocchi F, Frisoni GB, Del Percio C.

Abnormalities of cortical sources of resting state delta electroencephalographic rhythms are related to epileptiform activity in patients with amnesic mild cognitive impairment not due to Alzheimer's disease.

Front Neurol. 2020 Oct 23;11:514136.

Warren Olanow C, Espay AJ, Stocchi F, Ellenbogen AL, Leinonen M, Adar L, Case RJ, Orenbach SF, Yardeni T, Oren S, Poewe W; 006 study group.

Continuous subcutaneous levodopa delivery for Parkinson's Disease: a randomized study.

J Parkinsons Dis. 2020 Nov 4. doi: 10.3233/JPD-202285. Epub ahead of print.

Tinazzi M, Morgante F, Marcuzzo E, Erro R, Barone P, Ceravolo R, Mazzucchi S, Pilotto A, Padovani A, Romito LM, Eleopra R, Zappia M, Nicoletti A, Dallochio C, Arbasino C, Bono F, Pascarella A, Demartini B, Gambini O, Modugno N, Olivola E, Di Stefano V, Albanese A, Ferrazzano G, Tessitore A, Zibetti M, Calandra-

Buonaura G, Petracca M, Esposito M, Pisani A, Manganotti P, Stocchi F, Coletti Moja M, Antonini A, Defazio G, Geroin C.

Clinical correlates of functional motor disorders: an Italian Multicenter Study.

Mov Disord Clin Pract. 2020 Sep 22;7(8):920-929.

Babiloni C, Ferri R, Noce G, Lizio R, Lopez S, Lorenzo I, Panzavolta A, Soricelli A, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Cipollini V, Marizzoni M, Güntekin B, Aktürk T, Hanoğlu L, Yener G, Özbek Y,

Stocchi F, Vacca L, Frisoni GB, Del Percio C.

Abnormalities of cortical sources of resting state Alpha electroencephalographic rhythms are related to education attainment in cognitively unimpaired seniors and patients with Alzheimer's Disease and amnesic mild cognitive impairment.

Cereb Cortex. 2020 Nov 30:bhaa356. Epub ahead of print.

Lopez S, Del Percio C, Forloni G, Frasca A, Drinkenburg WH, Lizio R, Noce G, Ferri R, Soricelli A, Stocchi F, Vacca L, Bordet R, Richardson JC, Babiloni C.

Chronic BACE-1 inhibitor administration in TASTPM Mice (APP KM670/671NL and PSEN1 M146V Mutation): An EEG study.

Int J Mol Sci. 2020 Nov 28;21(23):E9072.

Torti M, Fossati C, Casali M, De Pandis MF, Grassini P, Radicati FG, Stirpe P, Vacca L, Iavicoli I, Leso V, Ceppi M, Bruzzone M, Bonassi S, Stocchi F.

Effect of family history, occupation and diet on the risk of Parkinson disease: A case-control study. PLoS One. 2020 Dec 17;15(12):e0243612.

Tinazzi M, Geroin C, Erro R, Marcuzzo E, Cuoco S, Ceravolo R, Mazzucchi S, Pilotto A, Padovani A, Michele Romito L, Eleopra R, Zappia M, Nicoletti A, Dallochio C, Arbasino C, Bono F,

Pascarella A, Demartini B, Gambini O, Modugno N, Olivola E, Bonanni L, Antelmi E, Zanolin E, Albanese A, Ferrazzano G, de Micco R, Lopiano L, Calandra-Buonaura G, Petracca M, Esposito M, Pisani A, Manganotti P, Stocchi F, Coletti Moja M, Antonini A, Ercoli T, Morgante F.

Functional motor disorders associated with other neurological diseases: beyond the boundaries of "organic" neurology.

Eur J Neurol. 2020 Dec 9. Epub ahead of print.

Pellicciari L, Agosti M, Goffredo M, Pournajaf S, Le Pera D, De Pisi F, Franceschini M, Damiani C.

Factors influencing the functional outcome at discharge: a retrospective study on a large sample of patients admitted to an intensive rehabilitation unit.

Am J Phys Med Rehabil. 2020 Aug 31. Epub ahead of print.

Gimigliano F, Liguori S, Moretti A, Toro G, Rauch A, Negrini S; other members of the Technical Working Group, Curci C, Patrini M, Peschi L, Pournajaf S, Sgarbanti M, Iolascon G.

Systematic review of clinical practice guidelines for adults with fractures: identification of best evidence for rehabilitation to develop the WHO's Package of Interventions for Rehabilitation.

J Orthop Traumatol. 2020 Nov 14;21(1):20.

Lombardi M, D'Ascanio M, Scarpino S, Scozzi D, Giordano M, Costarelli L, Raj ER, Mancini R, Cardillo G, Cardaci V, Innammorato M, Vecchione A, Ricci A.

Full- Length TrkB variant in NSCLC is associated with brain metastasis.

Biomed Res Int. 2020 Nov 17;2020:4193541.

Brindisino F, Pellicciari L, Lorusso M, Pennella D, Padua R, Di Bari M.

Cross-cultural adaptation, reliability, and validity of the Italian version of the Shoulder Disability Questionnaire.

Musculoskelet Sci Pract. 2020 Apr; 46:102123.

Basagni B, Piscitelli D, De Tanti A, Pellicciari L, Algeri L, Caselli S, Formisano R, Conforti J, Estraneo A, Moretta P, Gambini MG, Inzaghi MG, Lamberti G, Mancuso M, Quinquinio C, Sozzi M, Abbruzzese L, Zettin M, La Porta F.

The unidimensionality of the five Brain Injury Rehabilitation Trust Personality Questionnaires (BIRT-PQs) may be improved: preliminary evidence from classical psychometrics.

Brain Inj. 2020 Apr 15;34(5):673-684. Epub 2020 Mar 4.

Brindisino F, Ristori D, Lorusso M, Miele S, Pellicciari L, Rossettini G, Bonetti F, Heick JD, Testa M.

Subacromial impingement syndrome: a survey of Italian physiotherapists and orthopaedics on diagnostic strategies and management modalities.

Arch Physiother. 2020 Sep 2;10:16.

Infarinato F, Jansen-Kosterink S, Romano P, van Velsen L, Op den Akker H, Rizza F, Ottaviani M, Kyriazakos S, Wais-Zechmann B, Garschall M, Bonassi S, Hermens HJ.

Acceptance and potential impact of the eWALL platform for health monitoring and promotion in persons with a chronic disease or age-related impairment.

Int J Environ Res Public Health. 2020 Oct 28;17(21):E7893.

Goffredo M, Infarinato F, Pournajaf S, Romano P, Ottaviani M, Pellicciari L, Galafate D, Gabbani D, Gison A, Franceschini M.

Barriers to sEMG assessment during overground robot-assisted gait training in subacute stroke patients.

Front Neurol. 2020 Oct 19;11:564067.

Seccia R, Boresta M, Fusco F, Tronci E, Di Gemma E, Palagi L, Mangone M, Agostini F, Bernetti A, Santilli V, Damiani C, Goffredo M, Franceschini M.

Data of patients undergoing rehabilitation programs.

Data Brief. 2020 Mar 16;30:105419. eCollection 2020 Jun.

Franceschini M, Bonavita J, Cecconi L, Ferro S, Pagliacci MC; Italian SCI Study Group.

Traumatic spinal cord injury in Italy 20 years later: current epidemiological trend and early predictors of rehabilitation outcome.

Spinal Cord. 2020 Jan 29. [Epub ahead of print]

Franceschini M, Mazzoleni S, Goffredo M, Pournajaf S, Galafate D, Criscuolo S, Agosti M, Posteraro F.

Upper limb robot-assisted rehabilitation versus physical therapy on subacute stroke patients: A follow-up study.

J Bodyw Mov Ther. 2020 Jan;24(1):194-198.

Galafate D, Pournajaf S, Condoluci C, Goffredo M, Di Girolamo G, Manzia CM, Pellicciari L, Franceschini M, Galli M.

Bilateral foot orthoses elicit changes in gait kinematics of adolescents with Down Syndrome with flatfoot.

Int J Environ Res Public Health. 2020 Jul 11;17(14):4994.

Linea 3

Vecchio F, Miraglia F, Alù F, Menna M, Judica E, Cotelli M, Rossini PM.

Classification of Alzheimer's Disease with respect to physiological sging with innovative EEG biomarkers in a machine learning implementation.

J Alzheimers Dis.2020 May 11. [Epub ahead of print]

Hallett M, de Haan W, Deco G, Dengler R, Di Iorio R, Gallea C, Gerloff C, Grefkes C, Helmich RC, Kringelbach ML, Miraglia F, Rektor I, Strýček O, Vecchio F, Volz LJ, Wu T, Rossini PM.

Human brain connectivity: clinical applications for clinical neurophysiology.

Clin Neurophysiol. 2020 Apr 21;131(7):1621-1651.

Rossini PM, Miraglia F, Alù F, Cotelli M, Ferreri F, Iorio RD, Iodice F, Vecchio F.
Neurophysiological hallmarks of neurodegenerative cognitive decline: the study of brain connectivity as abiomarker of early dementia.

J Pers Med. 2020 Apr 30;10(2). Review.

Valle G, D'Anna E, Strauss I, Clemente F, Granata G, Di Iorio R, Controzzi M, Stieglitz T, Rossini PM, Petrini FM, Micera S.

Hand control with Invasive feedback is not impaired by increased cognitive load.

Front Bioeng Biotechnol. 2020 Apr 3;8:287. eCollection 2020.

Rossini PM, Di Iorio R, Vecchio F, Anfossi M, Babiloni C, Bozzali M, Bruni AC, Cappa SF, Escudero J, Fraga FJ, Giannakopoulos P, Guntekin B, Logroscino G, Marra C, Miraglia F, Panza F, Tecchio F, Pascual-Leone A, Dubois B.

Early diagnosis of Alzheimer's disease: the role of biomarkers including advanced EEG signal analysis. Report from the IFCN-sponsored panel of experts.

Clin Neurophysiol. 2020 Jun;131(6):1287-1310.

Brunetti V, D'Atri A, Della Marca G, Vollono C, Marra C, Vita MG, Scarpelli S, De Gennaro L, Rossini PM. *Subclinical epileptiform activity during sleep in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment.*

Clin Neurophysiol. 2020 May;131(5):1011-1018.

Vecchio F, Miraglia F, Judica E, Cotelli M, Alù F, Rossini PM.

Human brain networks: a graph theoretical analysis of cortical connectivity normative database from EEG data in healthy elderly subjects.

Geroscience. 2020 Apr;42(2):575-584. Epub 2020 Mar 13.

Miraglia F, Vecchio F, Marra C, Quaranta D, Alù F, Peroni B, Granata G, Judica E, Cotelli M, Rossini PM.

Small world index in default mode network predicts progression from Mild Cognitive Impairment to Dementia.

Int J Neural Syst. 2020 Feb;30(2):2050004. Epub 2020 Jan 20.

Mazzoni A, Oddo CM, Valle G, Camboni D, Strauss I, Barbaro M, Barabino G, Puddu R, Carboni C, Bisoni L, Carpaneto J, Vecchio F, Petrini FM, Romeni S, Czimmermann T, Massari L, di Iorio R, Miraglia F, Granata G, Pani D, Stieglitz T, Raffo L, Rossini PM, Micera S.

Morphological neural computation restores discrimination of naturalistic textures in trans-radial amputees.

Sci Rep. 2020 Jan 16;10(1):527. PubMed PMID: 31949245

Quattrini G, Pievani M, Jovicich J, Aiello M, Bargalló N, Barkhof F, Bartres-Faz D, Beltramello A, Pizzini FB, Blin O, Bordet R, Caulo M, Constantinides M, Didic M, Drevelegas A, Ferretti A, Fiedler U, Floridi P, Gros-Dagnac H, Hensch T, Hoffmann KT, Kuijser JP, Lopes R, Marra C, Müller BW, Nobili F, Parnetti L, Payoux P, Picco A, Ranjeva JP, Roccatagliata L, Rossini PM, Salvatore M, Schonknecht P, Schott BH, Sein J, Soricelli A, Tarducci R, Tsolaki M, Visser PJ, Wiltfang J, Richardson JC, Frisoni GB, Marizzoni M; PharmaCog Consortium.

Amygdalar nuclei and hippocampal subfields on MRI: test-retest reliability of automated volumetry across different MRI sites and vendors.

Neuroimage. 2020 Sep;218:116932. Epub 2020 May 13.

Vecchio F, Miraglia F, Rodella C, Alù F, Miniussi C, Rossini PM, Pellicciari MC.

tDCS effects on brain network properties during physiological aging.

Pflugers Arch. 2020 Jul 4. Epub ahead of print.

Valle G, Strauss I, D'Anna E, Granata G, Di Iorio R, Stieglitz T, Rossini PM, Raspopovic S, Petrini FM, Micera S.

Sensitivity to temporal parameters of intraneural tactile sensory feedback.

J Neuroeng Rehabil. 2020 Aug 15;17(1):110.

Granata G, Iodice F, Falsini B, Rossini PM.

The role of primary visual cortex after transorbital alternating current stimulation in low vision patients.

Clin Neurophysiol. 2020 Sep;131(9):2327-2328.

Granata G, Valle G, Di Iorio R, Iodice F, Petrini FM, Strauss I, D'anna E, Iberite F, Lauretti L, Fernandez E, Romanello R, Stieglitz T, Raspopovic S, Calabresi P, Micera S, Rossini PM.

Cortical plasticity after hand prostheses use: Is the hypothesis of deafferented cortex "invasion" always true?

Clin Neurophysiol. 2020 Oct;131(10):2341-2348.

Granata G, Di Iorio R, Miraglia F, Caulo M, Iodice F, Vecchio F, Valle G, Strauss I, D'anna E, Iberite F, Lauretti L, Fernandez E, Romanello R, Petrini FM, Raspopovic S, Micera S, Rossini PM. *Brain reactions to the use of sensorized hand prosthesis in amputees.* Brain Behav. 2020 Sep 19:e01734. Epub ahead of print.

Buonsenso D, Cinicola B, Kallon MN, Iodice F. *Child healthcare and immunizations in Sub-Saharan Africa during the COVID-19 pandemic.* Front Pediatr. 2020 Aug 6;8:517. doi: 10.3389/fped.2020.00517.

Alù F, Miraglia F, Orticoni A, Judica E, Cotelli M, Rossini PM, Vecchio F. *Approximate entropy of brain network in the study of hemispheric differences.* Entropy (Basel). 2020 Oct 27;22(11):E1220.

Miraglia F, Tomino C, Vecchio F, Alù F, Orticoni A, Judica E, Cotelli M, Rossini PM. *Assessing the dependence of the number of EEG channels in the brain networks' modulations.* Brain Res Bull. 2020 Nov 23:S0361-9230(20)30700-0. Epub ahead of print.

Rossi S, Antal A, Bestmann S, Bikson M, Brewer C, Brockmüller J, Carpenter LL, Cincotta M, Chen R, Daskalakis JD, Di Lazzaro V, Fox MD, George MS, Gilbert D, Kimiskidis VK, Koch G, Ilmoniemi RJ, Pascal Lefaucheur J, Leocani L, Lisanby SH, Miniussi C, Padberg F, Pascual-Leone A, Paulus W, Peterchev AV, Quartarone A, Rotenberg A, Rothwell J, Rossini PM, Santarnecchi E, Shafi MM, Siebner HR, Ugawa Y, Wassermann EM, Zangen A, Ziemann U, Hallett M; basis of this article began with a Consensus Statement from the IFCN Workshop on “Present, Future of TMS: Safety, Ethical Guidelines”, Siena, October 17-20, 2018, updating through April 2020. *Safety and recommendations for TMS use in healthy subjects and patient populations, with updates on training, ethical and regulatory issues: expert Guidelines.* Clin Neurophysiol. 2020 Oct 24:S1388-2457(20)30514-30519. Epub ahead of print.

Miraglia F, Tomino C, Vecchio F, Gorgoni M, De Gennaro L, Rossini PM. *The brain network organization during sleep onset after deprivation.* Clin Neurophysiol. 2020 Nov 10;132(1):36-44.

Ilari S, Giancotti LA, Lauro F, Dagostino C, Gliozzi M, Malafoglia V, Sansone L, Palma E, Tafani M, Russo MA, Tomino C, Fini M, Salvemini D, Mollace V, Muscoli C. *Antioxidant modulation of sirtuin 3 during acute inflammatory pain: the ROS control.* Pharmacol Res. 2020 Jul;157:104851. Epub 2020 May 11.

PUBBLICAZIONI SU RIVISTE RECENSITE SENZA IMPACT FACTOR

Lupacchini L, Tomino C, Russo P. *COVID-19 infection and nicotine. Systematic revision of the literature.* Tabaccologia 2020 3; 31-39.

Leonardo L, Carlo T, Russo P. *COVID-19 infection: Two-Faces ianus of nicotine molecular and cellular approaches.* Tabaccologia 2020 4; 9-23.

PARTECIPAZIONI A EVENTI SCIENTIFICI

F. Stocchi , 6° Congresso Accademia LIMPE-DISMOV, Virtuale, Sessione 1: “Terapie innovative della malattia di Parkinson”, “Immunoterapie nelle alfa-sinucleinopatie”, Roma, Ottobre 2020

Vacca L, 6° Congresso Accademia LIMPE-DISMOV, Corso di Formazione virtuale su Piattaforma “Semeiotica dei disturbi del movimento”, “ I disturbi del movimento ipercinetici”, Roma, Ottobre 2020

Giornata Nazionale Parkinson, Incontro virtuale con Pazienti, IRCCS San Raffaele Pisana, Roma, Novembre 2020

Torti M - Fondazione LIMPE per il Parkinson Onlus, “I disturbi gastrointestinali” , Roma, Gennaio 2020

Russo P. Invited Speaker ERS (European Respiratory Society), Expert view on Smoking, nicotine and COVID-19 myths and facts. What is the evidence?; "COVID-19 and smoking. Is nicotine the hidden link?", Vienna, Luglio 2020

Franceschini M. 22nd European Congress of Physical and Rehabilitation Medicine (ESPRM2020), “Neuroplasticity assessment in stroke rehabilitation”, Belgrado, Settembre 2020

Goffredo M. 22nd European Congress of Physical and Rehabilitation Medicine (ESPRM2020), “Virtual reality rehabilitation of balance after total knee replacement: clinical and biomechanical effects”, Belgrado, Settembre 2020

Infarinato F. 22nd European Congress of Physical and Rehabilitation Medicine (ESPRM2020), “Electroencephalographic markers toward the optimization of action observation treatment in stroke patients”, Belgrado, Settembre 2020

Pellicciari L. 22nd European Congress of Physical and Rehabilitation Medicine (ESPRM2020), “Which demographic and clinical factors could influence the functional status during an acute intensive rehabilitation treatment?”, Belgrado, Settembre 2020

Pournajaf S. 22nd European Congress of Physical and Rehabilitation Medicine (ESPRM2020), “Feasibility investigation of a novel exoskeleton-assisted gait training in stroke rehabilitation: Clinical and instrumental gait assessments”, Belgrado, Settembre 2020

Barbanti P. et al. American Academy of Neurology, Poster. “New evidence from the Italian chRONic migrainE registry (IRON Registry): an update on 866 patients”, Toronto 2020

Fofi L. Simposio TEVA, ASC virtual congress X congresso Nazionale ANIRCEF. “Le cefalee nell’evoluzione delle neuroscienze” , Dicembre 2020

Fofi L. Webinary Novartis Nuovi trattamenti nell’emicrania: dagli Studi clinici alla real life, “Emicrania al femminile”, Dicembre 2020

Fofi L. ASC ventennale- Cefalee: suggestioni dal nuovo mondo, “Terapia di prevenzione gli sviluppi non farmacologici”, Gennaio 2020

Fofi L. Caso clinico 02 nel libro “La pratica clinica nel trattamento dell’emicrania”: Iper-risposta clinica a erenumab in un paziente affetto da emicrania senza aura ad alta frequenza (Forum service)

Egeo G. Webinary Novartis, “Nuovi trattamenti nell’emicrania: dagli Studi clinici alla real life”, Dicembre 2020

Egeo G. Webinar Lilly, “GALCANEZUMAB: real life”, Maggio e Novembre 2020

Aurilia C. American Academy of Neurology, Poster: “The first, Italian, multicenter, real-life study with erenumab in the prevention of high frequency episodic and chronic migraine”, 2020

Aurilia C. Webinary Novartis “Nuovi trattamenti nell’emicrania: dagli Studi clinici alla real life”, Dicembre 2020

Condoluci C. et al, IV Convegno: Sindrome di Down. Dalla Diagnosi alla terapia (convegno telematico), “Valutazione Biomeccanica del movimento in pazienti con Sindrome di Down”, ottobre 2020

Caprio M. XIX congresso nazionale SIMDO, "Linee guida per la gestione ed il trattamento dell'obesità", Palermo, Ottobre 2020

Caprio M. IEM Virtual Congress 2020: "VLCKD: cosa è cambiato nel 2020", Ottobre 2020

Caprio M. Webinar EASO: Losing weight with VLCKD: a tool for obesity management during the Covid-19 pandemic, "Should people with obesity endeavour to lose weight during COVID19 pandemic?"; novembre 2020

Caprio M. Webinar SIAMS: Obesità, riproduzione e sessualità, "Ruolo della dieta chetogenica"; Novembre 2020

Caprio M. XI Corso di Aggiornamento Interregionale SIE in endocrinologia clinica 1; presentazione caso clinico: Problem Solving / obesità: le diete chetogeniche, dicembre 2020

Armani A. Incontri italiani di endocrinologia e metabolismo (IEM), Virtual Congress, Società Italiana di Endocrinologia (SIE) simposio intitolato: “Corticosurrene e rischi cardiovascolare”, “Nuovi antagonisti del recettore mineralcorticoidi nei pazienti ad alto rischio cardiovascolare”, Ottobre 2020;

Fresegna D. FENS Virtual Forum 2020, poster “Specialized pro-resolving lipid mediators RvD3 and LXB4 ameliorate clinical symptoms and reduce neuroinflammation in a mouse model of multiple sclerosis” Luglio 2020

Guadalupi L. FENS Virtual Forum 2020, poster: “Impact of physical exercise on the immune-synaptic communication in Multiple Sclerosis”, Luglio 2020

Guadalupi L. SINS PHD Meeting 2020 poster: “Impact of physical exercise on the immune-synaptic communication in Multiple Sclerosis”, Settembre 2020

Fresegna D. FENS Virtual Forum 2020, poster “Specialized pro-resolving lipid mediators RvD3 and LXB4 ameliorate clinical symptoms and reduce neuroinflammation in a mouse model of multiple sclerosis”, Luglio 2020

Guadalupi L. FENS Virtual Forum 2020 poster “Impact of physical exercise on the immune-synaptic communication in Multiple Sclerosis” , Luglio 2020

Guadalupi L. SINS PHD Meeting 2020, poster “Impact of physical exercise on the immune-synaptic communication in Multiple Sclerosis”, Settembre 2020

STRUTTURA ORGANIZZATIVA IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

Nel mese di marzo è stato definito un nuovo assetto organizzativo del network San Raffaele, che quindi coinvolge l'IRCCS nella costituzione di 3 dipartimenti che svolgono attività di indirizzo, coordinamento, verifica e valutazione sia nell'ambito dell'assistenza, che in quello della ricerca scientifica.

DIPARTIMENTO A - SCIENZE NEUROLOGICHE E RIABILITATIVE	
Responsabile: Paolo Maria Rossini	
Reparti	Laboratori di ricerca
Codice 56 Day Hospital Pediatria	Neurobiologia Molecolare e Cellulare Patologia molecolare, cellulare e ultrastrutturale Elettrofisiologia Neurofisiologia Sperimentale Brain Connectivity Bioingegneria della Riabilitazione Immunopatologia Sinaptica

DIPARTIMENTO B - SCIENZE CARDIOLOGICHE E RESPIRATORIE	
Responsabile: Maurizio Volterrani	
Reparti	Laboratori di ricerca
Riabilitazione Cardiologica Riabilitazione Respiratoria	Endocrinologia Cardiovascolare Farmacologia Cellulare e Molecolare

DIPARTIMENTO C – AGING E CRONICITÀ	
Responsabile: Massimiliano Celi	
Reparti	Laboratori di ricerca
Medicina Ex art. 26	Biochimica dell'Invecchiamento e Nutrizione

AREE DI RICERCA IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

Le attività di ricerca prevedono una organizzazione secondo Aree di Ricerca ciascuna con un proprio responsabile.

AREA DI RICERCA	RESPONSABILE
Riabilitazione Neuromotoria e Robotica Riabilitativa	Marco Franceschini
Centro del Farmaco e Clinical Trial Center	Carlo Tomino
Parkinson e Disturbi del Movimento	Fabrizio Stocchi
Cefalee e Dolore Neuropatico	Piero Barbanti
Riabilitazione Cardiovascolare, Telemedicina, e-Health	Maurizio Volterrani
Pneumologia Riabilitativa	Vittorio Cardaci
Centro di Ricerca Clinica e Sperimentale	Giuseppe Rosano
Epidemiologia Clinica e Biostatistica	Stefano Bonassi
Disabilità dello Sviluppo e Riabilitazione	Claudia Condoluci
Biobanca - Biotecnologie Avanzate e BiomarkerDiscovery	Fiorella Guadagni
Organizzazione e Gestione dei Servizi	Amalia Allocca
Diagnostica per Immagini	Alberto Pierallini

CENTRO RICERCHE IRCCS SAN RAFFAELE PISANA
RICERCA DI BASE - TRASLAZIONALE

LABORATORIO	RESPONSABILE	STAFF	COLLABORAZIONE
Endocrinologia Cardiovascolare	Massimiliano Caprio	Andrea Armani, Alessandra Feraco, Stefania Gorini, Caterina Mammi, Vincenzo Marzolla	
Neurobiologia molecolare e cellulare	Leonardo Lupacchini	Chiara De Dominicis	Daniela Merlo, Istituto Superiore di Sanità
Patofisiologia della Cachessia dello Scompenso Cardiaco		Alessandra Feraco	
Patologia molecolare, cellulare e ultra strutturale	Matteo Antonio Russo	Federica Limana, Luigi Sansone, Giada Tomaselli, Enza Vernucci	Marco Tafani, Università Sapienza
Elettrofisiologia	Gabriele Ruffolo	Eleonora De Felice	Eleonora Palma, Università Sapienza
Biochimica dell'Invecchiamento	Sara Baldelli	Fabio Ciccarone	Maria Rosa Ciriolo, Università Tor Vergata e in convenzione con Università Telematica San Raffaele
Brain Connectivity	Fabrizio Vecchio	Francesca Alù, Francesca Miraglia, Alessandro Orticoni	
Bioingegneria della Riabilitazione	Francesco Infarinato	Marco Ottaviani, Paola Romano	
Epidemiologia Molecolare	Patrizia Russo	Alessia Santoro	
Microbiologia delle Patologie cronico- degenerative	Limongi Dolores	Cecilia Ambrosi, Paola Checoni	Anna Teresa Palamara, Università Sapienza
Fisiologia e Farmacologia del Dolore	Ilari Sara	Malafoglia Valentina	Vincenzo Mollace, Università Magna Graecia Catanzaro
Neurofisiologia Sperimentale	Barbara Picconi	Valeria Calabrese, Antonella Cardinale, Antonio de Iure	Paolo Calabresi (Università di Perugia) e in convenzione con Università Telematica San Raffaele

Immunopatologia sinaptica	Georgia Mandolesi	Silvia Bullitta, Diego Fresegna, Antonietta Gentile, Livia Guadalupi, Rosella Mechelli, Alessandra Musella, Monica Nencini, Valentina Vanni	Diego Centonze(Università Tor Vergata)e in convenzione con Università Telematica San Raffaele
--------------------------------------	-------------------	--	--

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

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

A. Descrizione

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

B. Premessa/Background

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

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

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

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

C. Razionale

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

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

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

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

D. Obiettivi globali

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

E. Risultati attesi e misurabili nel triennio

- Identificazione di nuovi marcatori di diagnosi e di progressione traslazionale per le malattie disabilitanti.

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

Linea 2: Clinica della disabilità.

A. Descrizione

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

B. Premessa/Background

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

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

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

C. Razionale

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

D. Obiettivi globali

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

E. Risultati attesi e misurabili nel triennio

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

Linea 3: Innovazione in medicina e riabilitazione.

A. Descrizione

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

B. Premessa/Background

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

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

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

C. Razionale

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

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

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

D. Obiettivi globali

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

E. Risultati attesi e misurabili nel triennio

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

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

LINEA 1

Fattori preclinici determinanti l'efficacia della riabilitazione.

AREA DI RICERCA PARKINSON E DISTURBI DEL MOVIMENTO

Ricerca di biomarcatori ematici per la diagnosi precoce di Paralisi Soprannucleare Progressiva (PSP)

I parkinsonismi atipici sono un gruppo di patologie neurodegenerative sporadiche che hanno una incidenza inferiore rispetto alla Malattia di Parkinson e maggiore gravità di sintomi. A questo Gruppo appartiene la Paralisi Soprannucleare Progressiva (classificata come Malattia Rara), malattia caratterizzata da progressione più rapida e dall'insorgenza precoce di instabilità posturale, disfagia, disartria, paralisi oculare. La diagnosi differenziale dei vari parkinsonismi può essere difficile in quanto tali sindromi possono presentare una simile sintomatologia di esordio. Comunque, l'uso di linee guida ben definite, come quelle recentemente pubblicate dalla Task Force della Movement Disorder Society, ha migliorato l'accuratezza diagnostica di queste patologie. Per rispondere alla esigenza di studio e diagnosi di malattie così complesse, singoli marcatori risultano insufficienti. Per questo, i ricercatori hanno scelto di progettare una piattaforma tecnologica, realizzata con una architettura di tipo web service, che utilizzasse modelli matematici a supporto delle decisioni e dell'analisi integrata di dati clinici, strumentali e biomarcatori innovativi per individuare nuovi e più accurati modelli diagnostici. Il work-flow diagnostico è stato progettato e sviluppato, tenendo conto delle attuali tecnologie di rete che permettono che le varie tappe siano eseguite in luoghi diversi e distanti. In questo modo diviene possibile raccogliere la grande quantità di dati per individuare nuovi modelli diagnostici, mediante tecniche di integrazione dati e analisi di big data.

Nella PSP una corretta e tempestiva diagnosi è cruciale poiché la prognosi ed il trattamento sintomatico dei parkinsonismi atipici differisce da quello della Malattia di Parkinson. Pertanto, tale studio si propone l'identificazione di biomarker innovativi, già identificati in altre malattie neurodegenerative, in grado di guidare in una diagnosi più accurata e precoce di malattia. Lo studio è condotto in associazione con l'EBRI (European Brain Research Institute "Rita Levi-Montalcini"), responsabile dei processi biochimici per l'individuazione di marcatori per la diagnostica di malattie neurodegenerative. Sono discussi protocolli e metodiche di laboratorio e procedure di estrazione dei dati. Questa attività e i suoi risultati vanno a costituire i primi passi del work flow diagnostico, relativi a:

- arruolamento dei pazienti
- consenso informato
- campionamento
- analisi genomiche

Obiettivo prioritario di MoDiag è rappresentato dalla diagnosi differenziale dei vari parkinsonismi, in quanto possono presentare una simile sintomatologia di esordio. Una corretta diagnosi è cruciale poiché la prognosi ed il trattamento sintomatico dei parkinsonismi atipici differisce da quello della malattia di Parkinson. Per questo abbiamo scelto di caratterizzare biomarcatori innovativi trascrittomici e clinici, per migliorare l'accuratezza diagnostica, integrando i dati ottenuti dagli esperimenti di RNA-Seq (NGS, Illumina) in campioni di sangue periferico di pazienti e controlli, con i dati di laboratorio e clinici.

Lo studio si propone di identificare i biomarkers precoci di malattia (proNGF/NGF, proteina tau; marcatori A β , alpha-sinucleina) e lo sviluppo di un nuovo modello diagnostico a partire da un numero limitato di variabili cliniche e di laboratorio.

Ci si aspetta di poter :

1. Identificare i biomarcatori innovativi in campioni di sangue di pazienti e controlli correlati per età e sesso.
2. Costruire un grande dataset di dati multivariati (demografici, clinici, neuroimaging), che consenta un nuovo diagramma diagnostico di facile accesso per gli tutti gli operatori socio-sanitari.

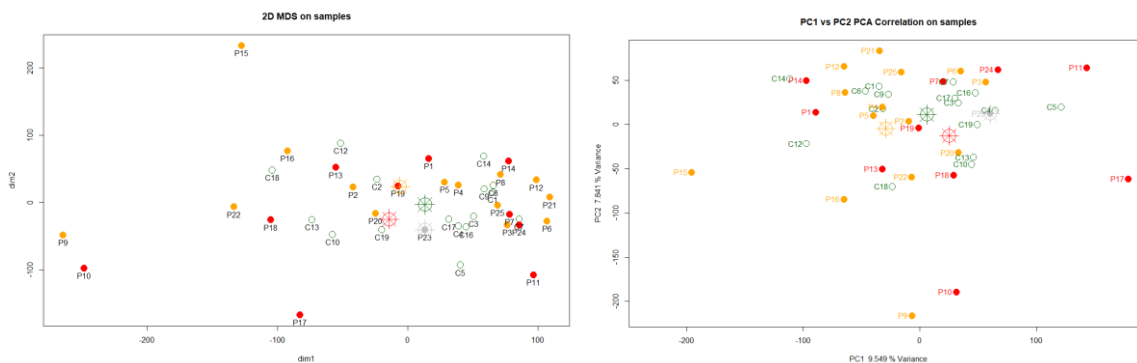
Lo studio ha come scopo l'identificazione di markers specifici che possano essere facilmente isolati dal sangue di pazienti con iniziale sindrome extrapiramidale di dubbio inquadramento diagnostico.

La positività a tali markers indirizzerebbe il clinico verso una diagnosi di probabilità e consentirebbe una migliore e precoce gestione della sintomatologia non motoria che in questa malattia assume una maggiore rilevanza clinica. La comparsa di disfagia e di sindrome ostruttiva e restrittiva respiratoria sono fattori determinanti nell'influenzare la prognosi del paziente. Si comprende pertanto come la precoce gestione terapeutica di tali complicanze si traduca in un minor carico per l'assistito ed i suoi familiari così come per il sistema sanitario nazionale.

E' stato effettuato l'arruolamento dei pazienti e una selezione di campioni di sangue di **31** pazienti affetti da Paralisi Sovranucleare Progressiva (PSP), malattia caratterizzata da progressione più rapida e dall'insorgenza precoce di instabilità posturale, complicanze cognitive, paralisi oculare. Per raggiungere maggiore accuratezza diagnostica e l'identificazione di sottotipi di malattia, la cui diagnosi si avvale ancora di criteri prevalentemente clinici, EBRI ha caratterizzato il finger printing di espressione genica, mediante RNA-Seq (NextSeq 550, Illumina), in campioni di sangue periferico di pazienti con PSP ed identificato candidati, che necessitano di ulteriori validazioni. Sono stati caratterizzati pathways coinvolti e RNA non coding. Le mutazioni, inclusi SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) sono in corso di analisi. I dati trascrittomici sono stati analizzati mediante Trimmomatic-Hisat-Stringtie pipeline, e varianti genomiche mediante Opossum-GATK/Platypus, i dati clinici con R-Bioconductor.

Sono stati identificati alcuni trascritti differenziali mediante l'analisi di 3 tool (Limma, edgeR, DESeq2) in grado di identificare PSP vs controlli, e decine di trascritti espressi in modo differenziale (DEGs) in PSP-Parkinson (PSP-P) verso PSP-Richardson Syndrome (RS).

L'analisi dei pathway ha identificato il coinvolgimento del sistema immunitario, della Ubiquitina, di fattori di Trascrizione, in grado di identificare in modo selettivo alcuni sottotipi di malattia, in particolare PSP-P vs PSP-S. Sono stati inoltre condivisi dati di un database anonimizzato, relativo a 56 pazienti pregressi altamente caratterizzati con diagnosi di PSP, arruolati presso il Centro in oggetto nel corso degli anni insieme ai dati relativi ai 30 pazienti e 20 numerosi controlli specificatamente arruolati per questo progetto. I ricercatori hanno identificato biomarcatori candidati in grado di caratterizzare il fenotipo PSP-P vs PSP-RS dalla integrazione con le metriche cliniche.



Principal Component Analysis (PCA) of samples and Multi Dimensional Scaling (MDS) of samples, similar to PCA

La precoce gestione terapeutica di tali complicanze si traduce in un minor carico per l'assistito ed i suoi familiari così come per il sistema sanitario nazionale.

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

La malattia di Parkinson (PD) è una malattia neurodegenerativa caratterizzata da sintomi motori e non motori. Tra questi ultimi, le disfunzioni del sistema gastro-intestinale ricoprono particolare importanza non solo perché influenzano negativamente l'outcome di malattia e la risposta al trattamento farmacologico ma anche perché alcuni di essi vengono oggi riconosciuti come sintomi prodromici e fattori di rischio della malattia stessa. Dal punto di vista anatomopatologico la malattia

è caratterizzata da depositi di Alpha-synucleina che sono stati identificati in pazienti con PD a tutti i livelli dell'asse intestino-cervello, inclusi il sistema autonomo centrale ed il sistema nervoso enterico. In questo ambito, la disbiosi intestinale potrebbe determinare un aumento della permeabilità intestinale, causando di conseguenza un'eccessiva stimolazione del sistema immunologico e dei meccanismi d'infiammazione, portando alla formazione ed alla successiva diffusione dei depositi di alfa-sinucleina. Le interazioni dell'asse intestino-cervello sono significativamente modulate dal microbiota, attraverso meccanismi neuroimmunoendocrini ed immunologici, ed attraverso una via neurale diretta. La disregolazione dell'asse intestino-cervello nel PD potrebbe essere associata alla comparsa di disfunzioni gastro-intestinali che, precedono frequentemente i sintomi motori, supportando l'ipotesi che il processo patologico si diffonda dall'intestino al cervello. Un'importante componente del microbiota è rappresentata dai batteri del piccolo intestino e recenti studi hanno mostrato una crescita eccessiva dei batteri del piccolo intestino (SIBO) nei pazienti parkinsoniani. La presenza di SIBO è generalmente associata a malassorbimento e a perdita di peso. In letteratura, ci sono diversi studi che considerano la perdita di peso come uno dei maggiori problemi che i pazienti affetti da PD devono affrontare con il progredire della malattia; infatti, è stato riscontrato che essa è associata alla gravità e alla durata della malattia.

Nel PD, ricerche recenti mostrano un'alterazione sia quantitativa che qualitativa nella composizione del microbiota intestinale. D'altra parte, vi sono studi che mostrano l'importanza crescente di un coinvolgimento del microbiota intestinale nella regolazione del peso corporeo e della omeostasi energetica.

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

Lo scopo di questo studio è quello di identificare uno specifico pattern di microbiota nei pazienti con PD ed in una loro sottopopolazione, caratterizzata da una importante perdita di peso nel corso nei primi anni della loro malattia.

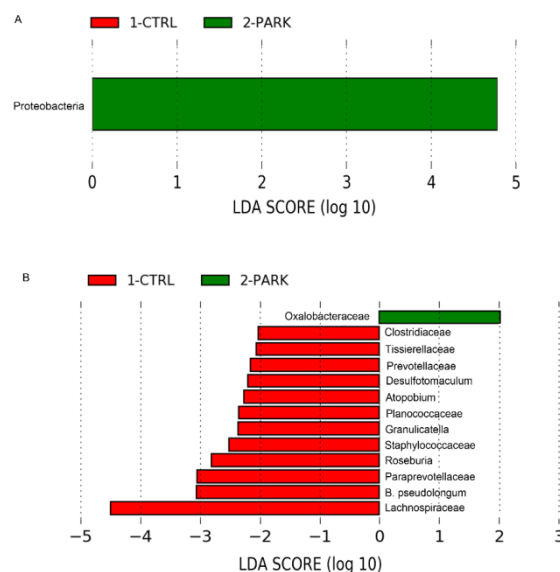
Ci si aspetta di poter identificare un pattern di microbiota specifico per PD; un pattern specifico di microbiota in pazienti parkinsoniani con perdita di peso.

La precoce identificazione di pazienti a rischio di sviluppare perdita di peso nell'ambito della PD è di fondamentale importanza dal momento che questo fenomeno rappresenta uno dei maggiori responsabili dell'aumento della fragilità, specie nella popolazione anziana. Tale identificazione permetterebbe un approccio nutrizionale e terapeutico mirato, contribuendo a migliorare tanto la qualità di vita che l'outcome di questa sottopopolazione di pazienti parkinsoniani.

Questo studio è stato concepito come uno studio caso-controllo trasversale si proponeva di arruolare pazienti con PD, pazienti che avevano riportato una perdita di peso non intenzionale pari a 7% dell'abituale peso corporeo nel periodo dalla diagnosi alla data di valutazione e dieci controlli correlati per età e genere. L'analisi del microbiota è stata effettuata presso il Centro "Human Microbiome Research Unit, Genetics & Rare Diseases Research Division" dell'Ospedale Bambino Gesù. Il DNA dai campioni di feci è stato estratto manualmente utilizzando il mini kit QIAmp Fast DNA Stool (Qiagen, Germania), secondo le istruzioni del produttore. La libreria microbica è stata ottenuta mediante amplificazione PCR del regione variabile V3-V4 dal gene 16S rRNA (~460 bp), seguendo il protocollo MiSeq rRNA Amplicon Sequencing (Illumina, San Diego, CA). Ventotto campioni sono stati raggruppati insieme prima del sequenziamento su una Piattaforma Illumina MiSeq™ secondo le specifiche del produttore per generare letture paired-end di 300 lunghezze base. L'analisi bioinformatica dei dati dell'amplicone di rRNA 16S batterico è stata eseguita utilizzando il software QIIME 1.9.1. Le sequenze raw paired-end sono state unite utilizzando fastqjoin, seguito da un passaggio della libreria divisa (QIIME, [hiip: //qiime.org/](http://qiime.org/)). Dopo la

dereplicazione e il controllo della chimera, le letture sono state raggruppate in tassonomiche operative unità (OTU) al 97% di identità.

Ventotto soggetti sono stati arruolati nello studio, (10 pazienti senza perdita di peso – NWL- ; 10 pazienti con perdita di peso – WL - e 8 controlli -CTRL). Tutte le variabili cliniche sono risultate simili nei due gruppi ($p > 0,05$). In particolare, nei gruppi di pazienti con e senza perdita di peso è stata riscontrata una distribuzione simile delle due forme fenotipiche di PD (acinetico-rigido e tremito-dominante). Tra i 20 pazienti arruolati, 18 soffrivano di stipsi cronica e 2 avevano alvo normale (entrambi nel gruppo WL). I pazienti con WL hanno subito una perdita di peso media del 23,04% al momento della valutazione. Questo gruppo ha mostrato un valore medio di complicanze motorie, valutate mediante UPDRS IV, più alto rispetto a NWL. Inoltre, i pazienti con WL erano in terapia con una dose più alta di levodopa per chilogrammo di peso corporeo, rispetto a NWL ($p > 0,05$). Tutti i pazienti avevano una dieta onnivora. Analizzando l'abbondanza relativa del phylum tra PD e CTRL, sono state osservate differenze statisticamente significative di Proteobacteria, che erano più abbondanti nel gruppo PD (Figura 1, pannello A). In questo studio, la diversità alfa tra PD rispetto a CTRL non ha evidenziato differenze di ricchezza e uniformità. Tuttavia, considerando la distribuzione dei phyla, si è osservato un incremento dei proteobatteri nei pazienti con Parkinson, in accordo con quanto già riportato in letteratura. Un arricchimento cronico di Proteobatteri nell'intestino può essere indicativo di uno squilibrio del microbiota o di uno stato patologico preesistente dell'ospite. La loro crescita incontrollata determina un ulteriore stato di infiammazione con aumento della permeabilità intestinale. Sono stati trovati diversi biomarcatori presenti nel gruppo CTRL ma ridotti nel profilo del microbiota di Parkinson, tra cui Tissierellaceae, Paraprevotellaceae, Prevotellaceae, Lachnospiraceae, Staphylococcaceae B. pseudolongum, Roseburia, Lachnospiraceae, mentre Oxalobacteraceae aumenta per aumentare la PD. I generi di Prevotellaceae sono noti per fornire acidi grassi a catena corta, tiamina e folato che promuovono un ambiente intestinale sano. Inoltre, una diminuzione dell'abbondanza di Prevotella è stata associata a concentrazioni più basse dell'ormone dell'appetito, grelina. Nel PD è stata segnalata una deregolamentazione di questo ormone. Recentemente, è stato suggerito che la composizione del microbiota intestinale è in grado di mediare parzialmente il controllo dell'appetito bilanciando gli ormoni che regolano l'appetito e successivamente modulando l'aumento / la perdita di peso. Questi risultati hanno portato a ipotizzare che il gruppo di pazienti con perdita di peso, a causa delle disfunzioni gastrointestinali riportate sopra, potrebbe essere compensato da un diverso profilo del microbiota intestinale rispetto ai pazienti NWL. Infatti, nei pazienti senza perdita di peso, si è osservato un arricchimento nelle specie microbiche correlato all'aumento di peso e all'infiammazione (es. Enterobacteriaceae, Enterococcus ed E. lenta) e una riduzione dei batteri produttori di SCFA e coinvolti nel dispendio energetico (es. R. facies, Clostridia e Lachnospira).



AREA DI RICERCA EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE

Profilo personalizzato per trattamenti di riabilitazione di pazienti complessi affetti da processi di invecchiamento accelerato

Evidenze scientifiche indicano che la schizofrenia è un disturbo del neurosviluppo [Barnett R, Schizophrenia. Lancet. 2018 Feb 17;391(10121):648]. Una nuova generazione di studi ha evidenziato che i processi degenerativi tipici della schizofrenia possono essere collegati ai meccanismi di invecchiamento cellulare accelerato, noto come segmental progeroid syndrome [Kirkpatrick B, Kennedy BK, 2017. Accelerated aging in schizophrenia and related disorders: future research. Schizophr Res S0920–9964 (17) (30373-0)], dove l'accorciamento dei telomeri potrebbe svolgere un ruolo chiave in tale processo. In letteratura tuttavia esistono dati discordanti e non esistono metanalisi che includono i dati più recenti [Lindqvist D, Epel ES, Mellon SH, Penninx BW, Reus D, Verhoeven JE, Reus VI, Lin J, Mahan L, Hough CM, Rosser R, Bersani FS, Blackburn EH, Wolkowitz OM, 2015. Psychiatric disorders and leukocyte telomere length: underlying mechanisms linking mental illness with cellular aging. Neurosci Biobehav Rev 55, 333–364].

La schizofrenia è inoltre associata ad un aumentato rischio di malattie cardiovascolari. L'accorciamento dei telomeri ha anche implicazioni nell'insorgenza delle malattie cardiovascolari. Inoltre l'aspettativa di vita dei soggetti affetti da schizofrenia è inferiore di 15-20 anni rispetto alla popolazione normale.

Dati di letteratura indicano che un'adeguata attività fisica contrasta l'accorciamento dei telomeri [Arsenis NC, You T, Ogawa EF, Tinsley GM, Zuo L, 2017. Physical activity and telomere length: impact of aging and potential mechanisms of action. Oncotarget 8(27), 45008–45019].

La disponibilità di un profilo personalizzato dei pathway molecolari, dei fattori di rischio e le caratteristiche cliniche possono costituire la base per un trattamento di riabilitazione rivolto alle esigenze individuali dei pazienti complessi affetti da processi di invecchiamento accelerato, quale la schizofrenia.

Lo studio si prefigge di effettuare:

- la correlazione tra gender, età, stile di vita, stadio della malattia, comorbidità e accorciamento dei telomeri e make-up genetico in pazienti complessi affetti da processi di invecchiamento accelerato.
- metanalisi della letteratura.

Si intende creare un profilo personalizzato del paziente in prospettiva di un percorso di riabilitazione.

Si tratta di uno studio cross-sectional retrospettivo: 108 pazienti reclutati nel periodo compreso tra il 2011 e il 2012. E 71 soggetti di controllo:

- Assessment Clinico: Diagnosi in accordo al DSM-IV (SCID I, II); Somministrazione di OPCRIT e PANSS.
- Misurazione della lunghezza telomerica: RT-PCR quantitativa
- Analisi Statistica
- Data collection per la Metanalisi: Begg's Funnel plot e Egger's regression.

Le varianti di SLC6A4, vale a dire 5HTTLPR, STin2, rs2066713, rs25531, rs4251417, rs6354 e rs7224199 sono state studiate in 4 coorti indipendenti di soggetti con disturbi psichiatrici specifici, tra cui disturbo della dipendenza da alcol (ALC), malattia di Alzheimer (ALZ), Schizofrenia (SC) e disturbo Bipolare (BPD). Anche altre variabili (parametri biochimici e punteggi delle scale psichiatriche) sono state testate per l'associazione. I polimorfismi di SLC6A4 non sono associati al rischio di sviluppare disturbi psichiatrici maggiori (SCZ e BPD).

CACNA1C rs11615998 è stato associato a sintomi psicotici (i portatori dell'allele C hanno un rischio psicotico ridotto) indipendentemente dalla diagnosi, in linea con l'evidenza di un effetto di

disturbo incrociato di molte varianti di rischio. Questo gene era precedentemente associato a SCZ e alla predisposizione ai disturbi psichiatrici. I risultati hanno confermato che la fenotipizzazione profonda è fondamentale per chiarire il ruolo delle varianti genetiche sui modelli dei sintomi. Fattori predittivi di possibili comorbidità e di invecchiamento accelerato potrebbero influenzare i processi diagnostici e terapeutici con conseguente impatto sulla salute e sulla qualità di vita del paziente nonché sui costi del SSN.

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

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

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

Gli obiettivi specifici del progetto di ricerca corrente del Laboratorio BioDAT sono finalizzati all'individuazione di biomarcatori innovativi in grado di favorire la promozione di programmi di medicina individualizzati in pazienti con malattie croniche; alla realizzazione di approcci innovativi per abilitare processi di analisi dei dati al fine di una caratterizzazione/previsione della situazione corrente, nonché della prevenzione in funzione di una certa azione correttiva; alla creazione di una rete di conoscenze utili alla diagnosi, prognosi e trattamento delle patologie di interesse e delle comorbidità associate al fine di sviluppare soluzioni integrate per il processo decisionale medico.

Ci si aspetta di mettere a punto e validazione di nuovi strumenti decisionali di supporto ai professionisti sanitari per la pianificazione del management clinico di pazienti con malattie croniche complesse.

I campioni biologici di pazienti con fattori di rischio o patologie croniche disabilitanti sono adeguatamente preservati nella BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM). Le procedure di processazione e stoccaggio dei campioni biologici sono strutturate in base a protocolli standard di riferimento e sono diversificate a seconda dei campioni che vengono trattati. In particolare, la BioBIM prevede la conservazione di vari tipi di campioni biologici ed è organizzata in modo da assicurare: la conservazione del campione per 20 anni, la qualità del campione biologico conservato, il corretto utilizzo dei campioni biologici depositati e la tutela della privacy del soggetto donatore. Ad ogni campione biologico sono associati i dati clinico-anamnestici del donatore che, in aggiunta ai dati biomolecolari ed omici derivati dagli studi di biomarker discovery vanno a popolare

un proprio Data Lake per l'integrazione e l'analisi delle informazioni di interesse mediante data mining, machine learning e natural language processing, nel rispetto della normativa cogente in tema di privacy e consenso informato.

In generale, la sospensione totale o parziale delle attività in ragione delle disposizioni restrittive emanate in conseguenza all'emergenza sanitaria COVID-19, ha determinato un rallentamento dello svolgimento delle attività di ricerca e reclutamento di campioni biologici nella BioBIM, mentre sono proseguite a pieno regime tutte le attività eseguibili in modalità agile. In particolare, è stata effettuata una rielaborazione dettagliata dei dati disponibili su lifestyle, fattori socio-demografici e caratteristiche cliniche di un'ampia popolazione di pazienti emicranici (n=1148) al fine di caratterizzare alcuni aspetti fenotipici della malattia. I risultati ottenuti hanno permesso di a) dimostrare che la presenza di sintomi dopaminergici si associa ad una maggiore prevalenza di comorbidità neuropsichiatriche; b) costruire un dataset dedicato alla modellazione di un sistema di supporto decisionale (DSS) basato su tecniche di intelligenza artificiale (SVM e Random Optimization) per la previsione del rischio di abuso farmacologico in pazienti con emicrania. Nello specifico, è stata eseguita una valutazione del rischio su una stratificazione a cinque livelli che ha permesso di dimostrare che il DSS derivato potrebbe prevedere l'abuso farmacologico con un OR pari a 5,7 per i pazienti emicranici con uno score di predizione ≥ 3 . È tuttora in corso la sperimentazione di un'estensione del DSS inserendo la possibilità di utilizzare più algoritmi in modo parallelo o sequenziale (tecniche di bagging e di boosting) per ridurre la variabilità dei risultati e aumentare l'affidabilità dell'algoritmo.

È stato, inoltre, attivato uno studio finalizzato all'arricchimento del contesto informativo contenuto nel diario clinico ed associato ai campioni dei donatori. Le analisi tradizionali, infatti, si limitano ai soli dati strutturati mentre il testo non strutturato, presente in molte sezioni di una cartella clinica (es. referti di imaging diagnostico, ecc.), rimane completamente inutilizzato, pur essendo estremamente ricco di contenuti informativi collegati all'oggetto di analisi. Per superare questa contraddizione abbiamo deciso di ricorrere a tecniche di Intelligenza Artificiale, nella fattispecie di NLP (Natural Language Processing), che consentono di comprendere il testo e la semantica dello stesso, relativamente ai campi testo (come ad esempio un diario clinico). Da un punto di vista operativo è stata implementata una pipeline semantica atta alla comprensione e alla disambiguazione del testo, calata nel dominio clinico e composta, tra l'altro, dalla lemmatizzazione, tokenizzazione, eliminazione delle stopword e identificazione delle entità tramite Named Entity Recognition. I risultati preliminari finora ottenuti hanno dimostrato la possibilità di identificare entità e concetti precedentemente inesistenti e finalizzarli alla classificazione dei pazienti, ad analisi statistiche e all'information fusion clinico.

Grazie alla possibilità di ampliamento della casistica, offerta dalla Banca Biologica Interistituzionale Multidisciplinare (Progetto BioBIM) dell'IRCCS San Raffaele Pisana, e alle numerose collaborazioni attive nell'ambito di progetti Nazionali ed Europei, si prevede di ampliare gli studi in corso allo scopo di individuare e validare l'applicabilità clinica di nuovi parametri biologici per la definizione di nuovi protocolli di medicina predittiva per il management clinico di pazienti con patologie croniche complesse. Parallelamente a tali attività, si prevede la customizzazione del modello algoritmico sviluppato dal gruppo di ricerca allo scopo di verificarne l'applicabilità quale strumento decisionale clinico nella predizione della risposta farmacologica, nella realizzazione di nuovi percorsi diagnostico-terapeutici assistenziali e/o nell'applicazione di programmi terapeutici/riabilitativi individuali in pazienti con patologie croniche complesse. Gli studi eseguiti negli anni passati, infatti, hanno dimostrato come il sistema decisionale clinico implementato sia applicabile a quesiti clinici differenti per i quali è necessario garantire una presa in carico globale del malato attraverso un approccio multidisciplinare e multidimensionale, che garantisca un inserimento precoce delle cure di supporto e della riabilitazione per la prevenzione ed il controllo dei sintomi legati alla malattia e/o alle terapie specifiche.

L'esperienza maturata attraverso le attività di ricerca sopra descritte, sostenuta dalle piattaforme tecnologiche sviluppate nel corso degli anni e dalla disponibilità di una Banca Biologica Interistituzionale Multidisciplinare (Progetto BioBIM), dotata di procedure operative standardizzate

e delle più moderne tecniche ICT, sono una garanzia per l'esecuzione di studi specifici di biomarker discovery utili per la definizione di protocolli di medicina predittiva per il management clinico di pazienti con patologie croniche complesse. L'esteso campionamento in atto presso la BioBIM rappresenta, infatti, una fonte importante di numerose tipologie di matrici biologiche, in grado di favorire in tempi rapidi lo sviluppo di progetti di ricerca traslazionale, nei quali affiancare alle indagini diagnostiche tradizionali le metodiche più innovative su cui si basa la disciplina della "Biomarker Discovery".

AREA DI RICERCA CEFALEA E DOLORE NEUROPATICO

Valutazione di marcatori biomolecolari dello stato pro-infiammatorio nel rischio cerebrovascolare dei pazienti affetti da emicrania

Diversi studi scientifici evidenziano la presenza di lesioni iperintense nel tessuto cerebrale dei pazienti emicranici, definite con il termine inglese “white matter hyperintensities (WMHs)”. È stato stimato che la presenza delle WMHs sia 4.35 più alta nei pazienti con emicrania rispetto ai controlli sani (odds ratio 4.35, $P \leq .001$), come se gli attacchi ripetuti di emicrania possano provocare delle piccole lesioni a livello cerebrale.

Un recente studio longitudinale mediante Risonanza Magnetica ad alto campo (3.0-Tesla) ha studiato i cambiamenti delle lesioni iperintense cerebrali nei pazienti emicranici, a distanza di 3 anni dall'inizio dello studio. Le lesioni erano localizzate in entrambi gli emisferi cerebrali, ma più frequentemente a livello frontale e presentavano simili dimensioni. Il numero di lesioni cerebrali, a distanza di 3 anni dal baseline, era aumentato, soprattutto in caso di un incremento della frequenza degli attacchi. Le lesioni più piccole potevano anche scomparire, mentre nei pazienti con molti attacchi quelle più piccole potevano ingrandirsi o formarsene altre, suggerendo una progressione di malattia. Ad oggi la genesi di queste lesioni non è nota, a volte vengono definite su base gliotica aspecifica, in altre occasioni sono state interpretate come lesioni di tipo vascolare. Non è noto se si tratti di un fenomeno dinamico o di un fenomeno permanente, che potrebbe alla lunga determinare un'ulteriore disabilità in questi pazienti. Uno recente studio con spettroscopia suggerisce che in queste aree si verifica una significativa riduzione della concentrazione di N-acetil-aspartato e di creatin-fosfochinasi rispetto al baseline, indicando una maggiore perdita assonale, una riduzione delle cellule della glia con riduzione della produzione di energia cellulare. Altri autori non hanno trovato un legame tra livelli medi di proteina C reattiva (PCR), marcatori di infiammazione e la presenza di WMHs, in 432 soggetti con emicrania, anche se i livelli medi di PCR erano significativamente più alti nei pazienti affetti da emicrania (1.94 ± 2.03 mg/L) rispetto ai controlli non emicranici (0.82 ± 0.58 mg/L; $P \leq .0001$). Un recente studio danese, condotto su 172 casi (34 gemelle, and 139 controlli sani) ha escluso la presenza di un'associazione tra l'emicrania con aura e la presenza di WMHs. Sulla base dei pregressi studi, i ricercatori del Centro Cefalee ipotizzano che i pazienti con emicrania abbiano un maggior rischio di eventi vascolari cerebrali. In passato i ricercatori hanno dimostrato che la presenza di polimorfismi della superossido dismutasi (SOD2) nei pazienti con emicrania con aura possa portare ad un difettoso controllo dei fenomeni ossidativi determinando una sovra stimolazione dei neuroni trigeminali e che le donne in pre-menopausa con emicrania cronica possano avere un maggior rischio trombotico. Pertanto diventa mandatario non solo effettuare una prevenzione nel caso dell'emicrania cronica, ma anche cercare di capire la genesi di queste lesioni per evitare una progressione di malattia permanente.

Lo scopo di questo progetto è stato quello di valutare la presenza di una correlazione tra i polimorfismi della SOD e della linfotossina A (LTA) e le lesioni cerebrali di questi pazienti, cercando di indentificare marcatori pro-infiammatori o pro-ossidanti che possano essere responsabili di malattia o di progressione di malattia.

La relazione tra aspetti clinici e radiologici è essenziale per capire l'eziologia della patologia e la progressione della patologia. Esistono solo pochi studi clinici che abbiano correlato la parte radiologica e quella ematologica con quella clinica.

Sono stati arruolati nello studio pazienti consecutivi affetti da emicrania con e senza aura afferenti al centro Cefalee dell'IRCCS San Raffaele Pisana. I pazienti che, dopo firma del consenso informato, accettavano di partecipare allo studio sono stati sottoposti, da parte dei neurologi dello staff, a dettagliata raccolta anamnestica mediante questionario semistrutturato che includeva le caratteristiche demografiche e cliniche dell'emicrania. Subito dopo è stato effettuato un prelievo ematico per analizzare possibili determinanti dell'emicrania (InterInstitutional Multidisciplinary Biobank (BioBIM dell'Istituto San Raffaele). È stato considerato, come gruppo controllo un campione di 100 soggetti sani, presenti già nella BioBIM che non presentavano parentela con i

pazienti (40% maschi, 60% femmine, età 38.4±12.2 anni) ed erano provenienti dalla stessa area geografica con lo scopo di valutare e confrontare le frequenze del genotipo/aplotipo. Inoltre in un sottogruppo di 183 pazienti, è stata valutata la RMN encefalo dai neuroradiologi, in cieco rispetto alla diagnosi. Undici pazienti con disturbi cerebro-vascolari sono stati esclusi perché presentavano un quadro di vasculopatia ischemica cronica, che poteva essere un fattore confondente.

Sono stati arruolati 370 pazienti (61 con emicrania senza aura, 190 emicrania con aura, 119 con emicrania cronica). La RMN encefalo è stata analizzata su 183 pazienti. 134 pazienti (79 con emicrania episodica: 64 senza aura, 15 con aura e 55 con emicrania cronica) avevano una RMN nella norma. La presenza invece di WMHs è stata riscontrata in 38 pazienti (13 con emicrania episodica: 9 senza aura, 4 con aura) e 25 con emicrania cronica. I polimorfismi LTA, SOD1 e SOD2 sono stati analizzati in 470 soggetti (370 emicranici e 100 controlli). I genotipi e le frequenze alleliche non differivano tra pazienti e controlli. Entrambi i gruppi erano in equilibrio di Hardy-Weinberg. L'analisi del linkage disequilibrium (LD), ha rilevato una forte associazione tra 2 due polimorfismi LTA e della SOD e la presenza di WMHs. L'analisi di regressione logistica multivariate conferma che il portatore dell'aplotipo TGCT (insieme alla cronicizzazione e l'età avanzata) è indipendentemente associato all'incremento del rischio di WMHs alla risonanza magnetica.

Studio randomizzato sull'efficacia della Mindfulness Based Stress Reduction (MBSR) nella profilassi dell'emicrania episodica ad alta frequenza

La cefalea è la patologia più diffusa del genere umano secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e colpisce l'individuo nell'età di maggiore produttività (20-50 anni), causando massima disabilità socio-lavorativa ed essendo responsabile del 1-4% degli accessi annuali al Pronto Soccorso [www.org.int]. L'emicrania è la cefalea più comune dopo la cefalea di tipo tensivo e rappresenta la seconda causa di disabilità secondo il Global Burden of Disability. Essa riguarda il 12% della popolazione presentando una chiara preferenza per il sesso femminile (rapporto F/M = 3:1) nel quale giunge ad una prevalenza del 27% nel corso della fase riproduttiva. L'emicrania produce significativa riduzione della qualità di vita soprattutto nella sua forma ad alta frequenza, limitando la partecipazione alle attività quotidiane e incrementando il rischio di sviluppare depressione. Ciò nonostante, l'emicrania è una patologia tutt'ora insufficientemente trattata in senso preventivo dal momento che a fronte di una percentuale di pazienti teoricamente suscettibili di prevenzione pari al 38.8%, solo il 12.4% è in realtà in trattamento profilattico. Questa differenza è in parte spiegabile sulla base della scarsa tollerabilità delle cure preventive. Infatti gli eventi avversi rappresentano non solo un limite prescrittivo per il medico ma anche una causa di frequenti interruzioni precoci del trattamento per eventi avversi farmaco-correlati (topiramato: 23.7%, amitriptilina: 16.7%; propranololo: 7.7%). Infine, esistono importanti limiti nel trattamento farmacologico di profilassi nelle popolazioni più fragili, quali adolescenti, donne in gravidanza, anziani, o pazienti con comorbidità che precludono o limitano l'intervento con farmaci. L'emicrania è una patologia multifattoriale. I fattori stressanti psicosociali rappresentano di gran lunga il primo fattore scatenante degli attacchi ed uno dei principali elementi di cronicizzazione. Ciò rappresenta il razionale scientifico per un intervento preventivo non farmacologico in una patologia a carattere familiare che pur riconosce chiare basi biologiche e neurofisiologiche.

La metodica denominata Mindfulness-Based Stress Reduction (MBSR) è stata inclusa come trattamento non-farmacologico per la riabilitazione del dolore cronico negli ultimi decenni. Il protocollo MBSR è stato ideato nel 1979 dal medico statunitense Jon Kabat-Zinn, presso l'Università del Massachusetts. La Mindfulness (letteralmente: "presenza mentale") è definibile come "la consapevolezza che emerge se si presta attenzione in maniera intenzionale e non giudicante al dispiegarsi dell'esperienza momento dopo momento". Tale definizione introduce due concetti fondamentali: a) l'importanza del porre attenzione al fine di sviluppare consapevolezza e b) la dimensione del non giudizio, così invece fortemente caratterizzante l'esperienza umana. Da qualche tempo l'interesse dei ricercatori si è volto a sperimentare la MBSR anche nel campo

dell'emicrania e della cefalea di tipo tensivo come approccio terapeutico alternativo o complementare. Il razionale è quello di aumentare la consapevolezza del dolore da parte del paziente cefalalgico, migliorando la capacità di gestione dell'attacco prima di ricorrere al farmaco. Inoltre, essendo lo stress psicosociale il principale fattore scatenante l'emicrania, la provata efficacia del protocollo MBSR nella riduzione dello stress potrebbe permettere di ridurre numero e/o intensità e/o durata degli attacchi. I risultati sembrano essere molto promettenti, specie nelle forme croniche ed in presenza di iperuso di analgesici. Nella cefalea di tipo tensivo cronica, la MBSR si è dimostrata in grado di ridurre significativamente la frequenza dei giorni di cefalea ($p = 0.016$) e di migliorare l'intensità del dolore e la sua consapevolezza ($p < 0.001$). Nell'emicrania cronica, la MBSR ha evidenziato una significativa riduzione della percezione dell'intensità del dolore ($p \leq 0.001$) ed il miglioramento significativo nelle scale di valutazione di benessere fisico, funzionamento sociale e dolore fisico ($p < 0.05$). Un recente studio italiano condotto su 50 emicranici cronici ha evidenziato una sostanziale sovrapposibilità dell'outcome clinico nei trattati con MBSR rispetto a quelli trattati con terapia farmacologica di profilassi. Alle medesime conclusioni è giunto un ulteriore studio su 51 pazienti cefalalgici, comprensivo però di soggetti affetti da emicrania, cefalea tensiva e cefalea grappolo. L'impiego della MBSR si è inoltre dimostrato efficace anche in gruppo di 20 adolescenti affetti da emicrania. Nei soggetti trattati si è osservato un miglioramento della qualità della vita e del benessere fisico, riduzione dei sintomi depressivi ed incremento della capacità di accettazione del dolore.

Obiettivo primario del presente studio è di valutare l'efficacia della MBSR nella profilassi dell'emicrania episodica ad alta frequenza, entità clinica ad alto rischio di trasformazione in forma cronica e di iperuso di analgesici.

La scelta di tale tipologia di paziente è finalizzata ad escludere l'effetto confondente di una eventuale *regression to the mean*, più frequente nelle forme a frequenza bassa e media, nonché ad escludere le forme croniche caratterizzate da diverse comorbilità confondenti che possono inquinare la comprensione del risultato clinico. Inoltre lo studio consente di verificare le correlazioni tra eventuali variazioni dei parametri biologico-molecolare ed il risultato clinico.

I risultati attesi per lo studio riguardano una riduzione della frequenza delle crisi emicraniche di circa il 20%, una riduzione nell'intensità delle stesse ed una migliore gestione degli attacchi.

Questo rappresenta il primo studio randomizzato per valutare l'efficacia della MBSR nella profilassi dell'emicrania in soggetti con alta frequenza di attacchi mediante valutazione clinica e laboratoristica.

Sono randomizzati 100 pazienti, di questi 50 sono randomizzati al trattamento con MBSR e 50 a trattamento farmacologico con SoC. La MBSR si articola in sedute di gruppo della durata di 2 ore e mezza ciascuna, che si ripetono settimanalmente per 8 settimane, comprendendo inoltre una giornata intensiva aggiuntiva di circa 7 ore tra 6° e 7° incontro. Ciascun paziente randomizzato a trattamento con MBSR è inoltre tenuto ad eseguire al proprio domicilio gli esercizi richiesti. Questi ultimi consistono in 30-45 minuti al giorno (6 giorni su 7 per otto settimane) di pratiche formali di meditazione di consapevolezza eseguite seguendo delle tracce audio fornite dalle guide, più delle semplici pratiche informali caratterizzate ad esempio dal compiere con attenzione, momento per momento, una serie di attività abituali, come lavarsi i denti o lavare i piatti. Man mano che il protocollo va avanti, si è incoraggiati a porre lo stesso tipo di attenzione ad eventi che accadono nel mondo esterno, ed in particolare alle situazioni che si possono percepire come fonte di stress. Viene inoltre valutato tramite citofluorimetria lo stato del sistema immunitario dei soggetti emicranici, con particolare riferimento alle cellule T infiammatorie e regolatorie. I pazienti effettuano i seguenti prelievi seriati di campioni ematici (emocromo, glicemia, ALT, AST, gammaGT, creatinina, Na+, K+, TSH, eventuale fT4), parametri di infiammazione (IL-6, proteina C Reattiva, rapporto Neutrofili/Leucociti, rapporto Monociti/Piastrine)

Criteri di inclusione:

1. Età compresa tra 18 e 65 anni
2. Diagnosi di emicrania con o senza aura in accordo con i criteri della ICHD-III beta

3. Frequenza di emicrania compresa ≥ 8 e 14 gg al mese (emicrania ad alta frequenza) dimostrata nel corso del periodo di 28 giorni di screening
4. Esordio dell'emicrania in età inferiore ai 50 anni
5. Assenza di profilassi emicranica da almeno 30 gg
6. Sottoscrizione di consenso informato scritto

Criteri di esclusione:

1. Diagnosi di cefalea diverse da quelle riportate al punto 2 dei criteri di inclusione
2. Presenza di comorbidità che nel giudizio del medico possano influenzare l'aderenza terapeutica (ad esempio patologie psichiatriche maggiori)
3. Trattamento dell'emicrania con tossina botulinica in un periodo inferiore a 3 mesi
4. Presenza di iperuso di analgesici secondo i criteri della ICHD-III beta
5. Uso di antidepressivi in dose non stabile da almeno 3 mesi oppure di antidepressivi triciclici
6. Uso regolare di benzodiazepine per cause diverse dall'insonnia
7. Presenza di condizioni morbose, terapie o anomalie laboratoristiche di qualsiasi tipo che nel giudizio dello sperimentatore possano rappresentare un ostacolo alla partecipazione allo studio.

Sono stati reclutati 15 pazienti di cui 2 screening failure. Il reclutamento è stato interrotto per analizzare i primi risultati ottenuti e valutare come procedere con il reclutamento dello studio.

Sicurezza e tollerabilità della neurostimolazione vagale transcutanea mediante GammaCore nel trattamento in acuto dell'emicrania

Il trattamento con neuromodulazione mirato alle cefalee, impiegato per la prima volta nel trattamento della cefalea a grappolo cronica farmaco-resistente, sta cambiando grazie alla messa a punto dello stimolatore nVNS, acronimo di non invasive vagal nerve stimulation (nVNS). Questo tipo di stimolazione può essere utilizzata sia nel trattamento sintomatico che in quello di profilassi. Il dispositivo (GammaCore), delle dimensioni di un cellulare, va collocato sul lato del collo ed emette treni rettangolari di stimoli della durata di circa 90 secondi la cui intensità può essere variata tramite un'apposita rotella fino a che il paziente non percepisce lievi contrazioni muscolari sottocutanee.

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

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

Inoltre, saranno effettuati studi in specifici sottogruppi, quali ad esempio in un gruppo di soggetti con emicrania mestruale e/o emicrania correlata al periodo mestruale.

Lo studio si propone di valutare sicurezza e tollerabilità della stimolazione vagale non invasiva nei vari sottogruppi in studio.

La stimolazione non invasiva del nervo vago (nVNS) (gammaCore®; electroCore, LLC; Basking Ridge, NJ, USA) ha dimostrato di essere efficace, sicura e ben tollerata come terapia in acuto ed anche di profilassi in soggetti adulti affetti da emicrania, compresa la forma mestruale, e da cefalea a grappolo cronica.

Le opzioni terapeutiche nei bambini e negli adolescenti sono limitate e spesso inefficaci. La stimolazione non invasiva del nervo vago (nVNS) nel trattamento in acuto di pazienti di età compresa tra 12 e 17 anni con diagnosi di emicrania senza aura potrebbe essere una valida alternativa efficace, sicura e tollerabile.

L'esperienza clinica ha confermato nella popolazione adulta l'efficacia della stimolazione non invasiva del nervo vago (nVNS) con Gammacore per il trattamento dell'emicrania in acuto. Per quanto riguarda la nVNS non ci sono esperienze sugli adolescenti in quanto non sono stati condotti studi in questa particolare e delicata fascia di età.

Sulla base dei benefici del trattamento osservati negli studi condotti su popolazione adulta, del potenziale di riduzione nell'uso eccessivo di analgesici e del favorevole profilo di tollerabilità, lo studio si propone di valutare la sicurezza e la tollerabilità della stimolazione non invasiva del nervo vago (nVNS) nel trattamento in acuto di pazienti di età compresa tra 12 e 17 anni con diagnosi di emicrania senza aura. Inoltre, lo studio si propone di confermare e validare il trattamento in sottogruppi di emicranici.

Vengono inoltre reclutati soggetti di età compresa tra 18 e 50 anni. I pazienti vengono valutati, prima di essere inseriti nello studio, da un punto di vista clinico per avere informazioni sulle caratteristiche dell'emicrania e la relazione degli attacchi con il ciclo mestruale. Inoltre si valuta, tramite questionario, la presenza di allodinia cutanea e tramite diario clinico e questionario MIDAS, vengono osservati i giorni di cefalea e la disabilità del paziente. Alla fine del periodo di utilizzo del GammaCore viene valutato, sempre tramite questionario, il grado di soddisfazione del trattamento. Prima del trattamento partecipano, in piccoli gruppi, ad un training in cui viene spiegato il rationale della tecnica e come utilizzare il GammaCore; durante il training ha modo di provare il device per verificare la comprensione dell'utilizzo. Il trattamento consiste in una stimolazione del nervo vago a destra, della durata di 90 secondi ciascuna, per 3 volte al giorno (mattina, pomeriggio e sera), da 3 giorni prima, durante e 3 giorni dopo il ciclo mestruale. L'efficacia del trattamento sul dolore (misurata mediante scala VAS) e sui sintomi associati, viene valutata dopo 30, 60 e 120 minuti e successivamente dopo 12 e 24 ore. E' prevista la possibilità di ricorrere a una rescue medication nei pazienti non responsivi a 2 ore dal trattamento. Il GammaCore viene utilizzato dai pazienti per 3 mesi dopo un periodo di osservazione di 3 mesi. Dopo questo periodo il paziente è nuovamente valutato clinicamente, si prende visione del diario e del questionario MIDAS per verificare il numero dei giorni di emicrania, il numero di farmaci assunti e il livello di disabilità.

Sono stati arruolati 56 pazienti con una età media di 40.2 anni. Delle 56 pazienti il 91.1% aveva una diagnosi di Emicrania mestruale correlata ed il rimanente 8.9% una diagnosi di Emicrania mestruale. 5 pazienti sono uscite dallo studio durante il periodo di trattamento con il device (Gammacore), di queste 2 per gravidanza, 1 per menopausa, 1 per intervento chirurgico e 1 per effetti collaterali non correlati con l'utilizzo del dispositivo. L'utilizzo del GammaCore ha significativamente ridotto i giorni di cefalea (4.7 ± 0.5 days; $P < 0.001$) rispetto al baseline (7.2 ± 0.7 days). Inoltre si è assistito anche ad una riduzione dell'intensità del dolore (7.1 ± 0.2 ; $P = 0.002$). L'uso di analgesici di conseguenza si è ridotto da 8.9 ± 0.8 a 5.6 ± 0.5 per mese. Come endpoint secondari si è assistito anche ad una riduzione della disabilità dimostrata tramite il punteggio ottenuto tramite la scala HIT-6. Nessuna differenza significativa è stata osservata per la variazione dell'allodinia. Nessun effetto collaterale serio è stato riportato.

Nel sottogruppo pediatrico i pazienti sono stati reclutati consecutivamente nei Centri partecipanti. Tutti i pazienti reclutati hanno firmato un consenso informato e quelli considerati eleggibili sono stati arruolati nello studio.

Periodo dello studio

- 4 settimane di run-in (pre-nVNS) durante le quali i pazienti riportano tutti gli attacchi su un diario clinico

- 4 settimane di trattamento degli attacchi in acuto

E' stata ottenuta l'approvazione da parte del Comitato Etico (entrambi i genitori firmano il consenso informato) ed i pazienti sono stati selezionati nell'ambulatorio dell'Istituto San Raffaele e invitati, con i loro genitori, ad un riunione della durata di circa un'ora in cui è stato spiegato ed illustrato l'utilizzo del device. Dopo le prime 4 settimane di run-in, sono stati trattati da 3 a 8 episodi di emicrania nelle 4 settimane successive. Il trattamento consiste in uno stimolo di 120 secondi, sul lato del collo, a destra e sinistra. I soggetti partecipanti allo studio registrano su una scala visuo-analogica come varia l'intensità del dolore dopo l'applicazione dello stimolo a 0,5-1-2-24 e 48 ore dopo l'applicazione dello stimolo con il dispositivo.

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

Studio sull'efficacia e tollerabilità della terapia metabolica chetogenica nella profilassi dell'emicrania episodica ad alta frequenza

L'emicrania è una condizione severamente debilitante che colpisce circa il 12% della popolazione con una prevalenza nel sesso femminile (F:M=3:1) e che secondo il Global Burden of Disability rappresenta la seconda causa di disabilità. Nonostante l'emicrania determini una significativa riduzione della qualità della vita, solo il 38.8% degli emicranici ha un'indicazione ad un trattamento di profilassi e solo il 12.4% degli emicranici viene realmente trattato a cui si aggiunge che la sospensione dei trattamenti di prevenzione attualmente disponibili per comparsa di eventi avversi avviene nel 16.7%-23.7% dei casi. Nella terapia di profilassi dell'emicrania, nonostante non ci siano evidenze scientifiche, si fa spesso riferimento ad un regime dietetico controllato tenendo conto che molti alimenti vengono considerati essere dei trigger per gli attacchi emicranici e considerata l'obesità un fattore di rischio per la cronicizzazione. Il meccanismo di cronicizzazione dell'emicrania prevede un incremento dell'attività eccitatoria glutammatergica.

Lo scopo di questo studio è valutare l'efficacia della terapia chetogenica (KD) rispetto alla dieta standard (SD) nella profilassi dell'emicrania ad alta frequenza in virtù del fatto che oltre ad un calo ponderale la KD è in grado di ridurre l'ipereccitabilità del neurone, incrementandone il metabolismo energetico.

Viene inoltre valutato tramite citofluorimetria lo stato del sistema immunitario dei soggetti emicranici, con particolare riferimento alle cellule T infiammatorie e regolatorie, in risposta al trattamento con la terapia KD.

L'utilità della KD è stata evidenziata in diverse patologie neurologiche quali epilessia, malattia di Parkinson, demenza di Alzheimer, tumori cerebrali, autismo, in quanto tale regime dietetico influenza la plasticità neuronale, modula l'equilibrio tra neurotrasmettitori inibitori ed eccitatori ed esercita effetti neuroprotettivi attraverso la produzione di corpi chetonici e la riduzione del glucosio ematico. La KD ha inoltre effetti sullo stato di attivazione del sistema immunitario. E' noto infatti che il tessuto adiposo, producendo adipochine, ha un'azione di controllo delle cellule dell'immunità innata e adattativa. Individui obesi o con problemi di cattiva alimentazione hanno sistemi immunitari pronti allo sviluppo di patologie autoimmunitarie o di infiammazione cronica. L'efficacia della terapia chetogenica negli emicranici si basa sulla sua azione a livello cerebrale nel ristabilire un corretto metabolismo neuronale garantendo un maggior supporto energetico e nel

combattere la neuroinfiammazione ed i meccanismi di ossidoriduzione che si verificano durante l'attacco emicranico.

Il progetto prevede l'arruolamento consecutivo di 58 soggetti afferenti all'IRCCS San Raffaele affetti da emicrania senza e/o con aura ad alta frequenza (con una frequenza mensile media nell'ultimo trimestre di 8-14 giorni) e BMI > 26 Kg/m². A tutti i soggetti verrà richiesto di firmare un consenso informato allo studio e verrà somministrata un'intervista semistrutturata diretta face to face per la raccolta dei dati socio epidemiologici e clinici (familiarità per emicrania, esordio del dolore, durata di malattia, localizzazione, tipo, frequenza, intensità, durata del dolore, prodromi, fenomeni d'accompagnamento, allodinia, terapia per l'attacco, farmaci di profilassi). A tutti i partecipanti è richiesta la compilazione di un diario che attesti la frequenza dei giorni di emicrania, la durata degli attacchi e l'eventuale consumo di analgesici. In tutte le visite dello studio (tranne le visite telefoniche), oltre alla rilevazione di parametri quali misurazione pressoria, peso, altezza, circonferenza vita, vengono somministrati questionari di disabilità, qualità della vita, del dolore (MIDAS, HIT-6, SF-36, VAS). Dopo un periodo di 4 settimane di run-in, i soggetti emicranici inclusi vengono assegnati a due gruppi paralleli di due regimi dietetici differenti: 1) terapia chetogenica; 2) dieta standard. Il gruppo della terapia chetogenica segue i 3 step seguenti: a) I Step: della durata di 4 settimane in cui verranno assunti 4 pasti sostitutivi (2 masticabili e 2 liofilizzati); b) II Step: della durata di 4 settimane ed a sua volta suddiviso in due fasi: 2a) in cui verranno assunti un pasto proteico libero, 2 prodotti masticabili ed un prodotto liofilizzato; 2b) in cui verranno assunti 2 pasti proteici liberi, un prodotto masticabile ed un prodotto liofilizzato; c) III Step della durata di 4 settimane anch'essa suddivisa in 2 fasi: 3a) reinserimento di latticino a colazione, un solo prodotto masticabile, un frutto come spuntino; 3b) reinserimento di una porzione di legumi a pranzo o a cena 3 volte a settimana, una porzione di cereali (pane o pasta) a pranzo, un prodotto masticabile. Il gruppo della dieta standard seguirà un regime dietetico a basso indice glicemico, senza assunzione di pasti sostitutivi. Al termine delle 12 settimane dei due regimi dietetici, tutti i pazienti proseguiranno con una dieta a basso indice glicemico per ulteriori 12 settimane. Durante lo studio verranno eseguiti ai pazienti prelievi seriatati di campioni ematici per esami di laboratorio (emocromo, glicemia, ALT, AST, gammaGT, creatinina, Na⁺, K⁺, TSH, eventuale fT₄), parametri di infiammazione (IL-6, proteina C Reattiva, rapporto Neutrofili/Leucociti, rapporto Monociti/Piastrine) ed immunofenotipo.

E' stato eseguito il prescreening dei pazienti candidabili allo studio, l'arruolamento è iniziato nel Marzo 2020. Il progetto proseguirà fino al 31 Dicembre 2021.

sono stati arruolati 37 pazienti. 16 pazienti hanno terminato il trial clinico. 21 pazienti sono ongoing.

Il corretto metabolismo neuronale ed il maggior supporto energetico ristabilito dalla KD potrebbe ridurre la frequenza mensile dei giorni emicranici, la durata degli attacchi ed il consumo di analgesici, migliorare la qualità di vita dei soggetti emicranici ed evitare la disabilità della cronicizzazione. Nei soggetti con terapia KD è attesa inoltre una riduzione del potenziale infiammatorio, valutato considerando le percentuali di linfociti T (CD4 e CD8), NK (CD16+CD56+), e B (CD19). Sono inoltre valutate le modifiche nelle percentuali di monociti CD16+, CD16++ e CD16-, nella percentuale di linfociti T regolatori (CD4+ CD25+ CD127+), e nella percentuale di linfociti naive (CD45RA+ CD62L+).

Creazione di un database per l'emicrania cronica: studio italiano multicentrico (CroMIDa)

L'emicrania è comune una forma di cefalea primaria. Circa il 12% della popolazione soffre di emicrania episodica (EE) e si è stimato che in un periodo di 5 anni circa il 2.5% di questa evolve in una forma di emicrania cronica (EC), caratterizzata da > 15 giorni di cefalea al mese di cui almeno 8 di tipo emicranico (classificazione ICHD-3).

La prevalenza dell'EC varia dallo 0.5% al 5.1%, a seconda dei differenti criteri diagnostici relativi all'emicrania e dell'area geografica. In Italia affligge il 2-3% della popolazione italiana, di difficile

gestione per i suoi criteri diagnostici insoddisfacenti, la complessa fisiopatologia, le comorbidità, la gestione inadeguata e la risposta deludente ai trattamenti convenzionali.

L'emicrania cronica colpisce una popolazione giovanile che spesso è attiva da un punto di vista lavorativo ma malgrado sia considerata una patologia invalidante, con elevati costi e impatto sulla vita quotidiana e lavorativa, è sotto diagnosticata e sottostimata. L'EC determina un'importante disabilità, una perdita significativa di produttività, un enorme onere economico ed utilizzo spesso improprio delle risorse sanitarie: è calcolata una perdita complessiva di produttività di 67,67 giorni nell'arco di 3 mesi e un costo totale medio annuo diretto pari a €2.648,12 per paziente (considerando le visite degli operatori sanitari, le ospedalizzazioni, le procedure e i farmaci) per lo più caricati sul Sistema Sanitario Nazionale (NHS). I grossi studi americani ed europei sottolineano quanto l'emicrania cronica interferisca negativamente sul lavoro per l'importante riduzione di attenzione e per assenteismo con perdita di giorni al lavoro/scuola e ridotta produttività. L'Italia è stata negli anni poco coinvolta nei grandi studi relativi alla disabilità causata dall'emicrania cronica. La gestione dell'EC è ancora largamente inadeguata, inefficace e costosa a causa di problemi clinici e operativi. L'EC viene spesso diagnosticata erroneamente ed il suo accertamento clinico si basa su criteri diagnostici piuttosto discutibili. La prevalenza dell'EC può essere erroneamente valutata per l'eterogeneità degli strumenti di raccolta dei dati o delle strategie tra diversi centri di cefalea. Inoltre, i pazienti con CM spesso si sottopongono a procedure e trattamenti ripetitivi, inutili e costosi, a causa della inadeguata tracciabilità dei loro precedenti dati clinici. Infine, non è disponibile un trattamento su misura per paziente a causa della limitata caratterizzazione clinica e biologica dell'EC: ciò porta a fallimenti terapeutici, ricadute di malattia e importanti oneri di spesa. Il database nazionale dell'EC mira a: 1) fornire una caratterizzazione approfondita dell'epidemiologia, delle caratteristiche cliniche e degli endofenotipi dei pazienti affetti da EC, favorendo una *governance* clinica condivisa e un approccio di medicina di precisione; 2) dettagliare l'onere del paziente, i bisogni insoddisfatti, i percorsi assistenziali e l'utilizzo delle risorse sanitarie; 3) ottimizzare l'allocazione dei fondi; 4) migliorare la sostenibilità economica del servizio sanitario regionale nella gestione e nel trattamento del CM.

Questo è il primo database nazionale per l'emicrania cronica con coinvolgimento di 28 centri cefalee italiani.

Il registro ha coinvolto 28 centri cefalee italiani. Il centro dell'IRCCS San Raffaele Pisana è stato il centro promotore e coordinatore dello studio. Tutti i centri hanno raccolto i dati a partire da Febbraio 2018 fino a Dicembre 2019. Tutti i centri hanno utilizzato una piattaforma web condivisa per raccogliere i dati clinici dettagliati in modo prospettico. Il database è suddiviso in 6 moduli: I) dati socio-demografici e stile di vita, II) dati della pregressa emicrania episodica, III) dati dell'emicrania cronica pregressa e in atto (storia familiare, durata di malattia, sede ed intensità del dolore, frequenza, triggers, sintomi di accompagnamento, fattori ipotetici di cronicizzazione, terapia sintomatica, terapia di profilassi, comorbidità), IV) dati inerenti l'utilizzo di risorse sanitarie, V) dati delle visite di follow-up e VI) scale di disabilità legate alla cefalea (MIDAS, HIT-6).

Sono stati inclusi 1187 pazienti affetti da emicrania cronica (> 15 giorni/mese). Dei 28 centri partecipanti, 4 non hanno inserito pazienti. L'IRCCS San Raffaele Pisana ha inserito 146 pazienti. Nel 2020 si è completata l'analisi statistica.

Il database consentirà di definire meglio i percorsi assistenziali e l'utilizzo delle risorse sanitarie dei pazienti affetti da emicrania cronica, migliorando così la sostenibilità economica del servizio sanitario regionale nella gestione e nel trattamento dell'emicrania cronica.

Progetto per la costituzione del registro italiano dell'emicrania (Italian Migraine Registry, I-GRAINE)

L'emicrania è la terza patologia più frequente al mondo e rappresenta la prima causa di disabilità del genere umano in soggetti di età inferiore a 50 anni. La letteratura stima una prevalenza pari al 14% della popolazione europea. Malgrado la sua alta prevalenza, l'emicrania è a tutt'oggi ancora sottostimata e poco trattata. L'emicrania è un disturbo molto eterogeneo e viene attualmente

classificata sulla base della presenza/assenza di aura e della frequenza degli attacchi mensili, distinguendo una forma episodica (fino a 14 gg al mese) da una forma cronica (> 15 gg al mese da almeno 3 mesi). L'emicrania ha un impatto drammatico sulla vita sociale del paziente, sulle attività ricreative e familiari, sulla frequenza lavorativa e sulla produttività; comporta un enorme utilizzo di risorse sanitarie e determina elevati costi economici. In Italia è stato stimato un costo totale medio annuo diretto per paziente pari a € 523.6 (considerando le visite degli operatori sanitari, le ospedalizzazioni, le procedure e i farmaci) per la forma episodica ed a € 2.250,0 per la forma cronica quasi interamente caricati sul Sistema Sanitario Nazionale (SSN).

Un'indagine di popolazione svolta mediante intervista diretta su 904 adulti abitanti a Parma, ha evidenziato una prevalenza dell'emicrania pari al 24.7%, corrispondente al 32.9% delle donne ed il 13% degli uomini. Numeri ancora maggiori per la nostra penisola giungono ancora da uno studio di popolazione presso 3500 soggetti della ASL di Pavia mediante questionario postale che ha suggerito una percentuale di soggetti affetti pari al 42.9% (54.6% nel sesso femminile, 32.5% in quello maschile). Il 30% dei soggetti emicranici presenta almeno un episodio di emicrania a settimana ed è pertanto candidabile ad una terapia preventiva per ridurre frequenza e disabilità e per minimizzare il rischio di cronicizzazione. Il 2.5% dei pazienti emicranici episodici evolve infatti ogni anno verso la forma cronica. Tale percentuale sale però al 30% quando si considerino i soggetti con emicrania episodica ad alta frequenza di attacchi (> 8 al mese). L'emicrania cronica (EC) ha una prevalenza di circa il 2% nella popolazione generale e rappresenta un disturbo di difficile gestione per i suoi criteri diagnostici insoddisfacenti, la complessa fisiopatologia, le comorbidità, la gestione inadeguata e la risposta deludente ai trattamenti convenzionali.

È pertanto necessario un approccio epidemiologico-clinico condiviso a livello nazionale che tenga conto di una pluralità di aspetti della malattia, dalla presentazione clinica, alle procedure diagnostiche e ai trattamenti, allo scopo di favorire una governance clinica condivisa e un approccio di medicina di precisione ottimizzando l'allocazione dei fondi e la sostenibilità economica della gestione e del trattamento dell'EC.

I registri di patologia sono sistemi attivi di raccolta sistematica di dati anagrafici e sanitari e hanno lo scopo di registrare e caratterizzare tutti i casi di una particolare malattia o di una condizione di salute rilevante in una popolazione definita. I registri sono, infatti, uno strumento di grande utilità per seguire la storia naturale della malattia, per valutare indicatori di salute, per la pianificazione sanitaria e per favorire la ricerca scientifica anche attraverso l'implementazione e lo sviluppo di nuovi studi su coorti selezionate di pazienti.

La necessità di studiare i molteplici aspetti clinici e assistenziali di una patologia cronica, complessa e invalidante quale l'emicrania ha gettato le basi all'istituzione del Registro Italiano sull'emicrania – I-GRAINE: “Italian Migraine Registry”. I-GRAINE implementa ed include al suo interno l'esperienza del precedente studio di coorte su Emicrania Cronica (Studio IRON) che ha preso le mosse nel 2014 ed ha ad oggi arruolato >700 pazienti reclutati in 26 centri cefalee italiani.

Si tratta di uno studio osservazionale prospettico, multicentrico, non interventistico sulla storia clinica dell'emicrania nella pratica clinica che utilizza una rete di centri cefalee sul territorio italiano, che ha l'obiettivo di:

1. fornire informazioni rilevanti sulla storia naturale della malattia e sulla sua evoluzione nel tempo;
2. fornire dati epidemiologici, sociali e assistenziali sulla popolazione di pazienti affetti da emicrania episodica e cronica;
3. individuare l'impatto di fattori legati alla gestione del paziente sull'evoluzione e la prognosi dell'emicrania
4. valutare se la gestione della malattia presso uno specialista delle cefalee certificato,

migliori il governo clinico, ottimizzando l'uso delle risorse sanitarie

La dimensione campionaria del registro italiano emicrania I-GRAINE è il 10% dei pazienti seguiti presso i centri cefalee aderenti al registro.

All'interno dell'IGRAINE vi è inoltre un studio osservazionale di coorte retrospettivo prospettico con lo scopo di fotografare in modo più dettagliato la realtà dei pazienti non seguiti presso un centro specializzato e la storia naturale della malattia una volta iniziato il percorso nel centro specializzato. In questo sottostudio vengono arruolati circa 6.000 dei pazienti incidenti (definiti come aventi data di prima visita nei 6 mesi precedenti all'arruolamento nel registro), che sono invitati a partecipare a uno studio di follow up e raccolta dati allargata.

La durata del registro I-GRAINE, fissata a un minimo 5 anni, è intesa a permettere di misurare l'evoluzione dell'handicap prodotto dall'emicrania, il suo impatto sulla vita del paziente, nonché gli effetti di nuovi trattamenti di recente introduzione.

Lo studio verrà avviato dal mese di Aprile 2021.

Studio osservazionale multicentrico italiano, real-life per la conferma a lungo termine dell'efficacia, tollerabilità e sicurezza di Erenumab nella profilassi dell'emicrania episodica e cronica (EARLY STUDY)

L'emicrania è una malattia neurologica e rappresenta la terza patologia più frequente e la seconda più disabilitante del genere umano secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) (GBD 2017). Predilige nettamente il sesso femminile manifestando un rapporto donna/uomo pari a 3:1. L'emicrania è distinguibile, sulla base della frequenza, in una forma episodica (fino a 14 gg al mese) ed in una forma cronica (≥ 15 gg al mese da almeno 3 mesi). Il 2.5% dei pazienti emicranici episodici evolve ogni anno verso la forma cronica. Tale percentuale sale però al 30% quando si considerino i soggetti con emicrania episodica con frequenza elevata - high frequency episodic migraine (HFEM) (≥ 8 al mese). L'emicrania cronica (CM) ha una prevalenza di circa il 2% nella popolazione generale e spesso è associata ad uso frequente di farmaci sintomatici che possono determinare la cefalea da iperuso di analgesici (MOH) ovvero l'assunzione di analgesici per almeno 15 gg al mese (oppure triptani, ergotaminici, oppioidi o associazioni analgesiche per almeno 10 gg al mese) da perlomeno 3 mesi. La CM spesso in combinazione con MOH, affligge ancor più nettamente la donna rispetto all'uomo (rapporto 5-6/1). L'emicrania affligge pertanto i soggetti nel periodo di massima produttività socio-lavorativa, causando marcata disabilità e considerevoli costi. Dal 20 Dicembre 2018 è disponibile in Italia erenumab, un nuovo farmaco indicato per la prevenzione dell'emicrania nel paziente adulto, appartenente ad una nuova categoria di farmaci noti come anticorpi monoclonali, diretti contro il recettore del CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide), neuropeptide che viene liberato dalle terminazioni trigeminali durante l'attacco emicranico provocando vasodilatazione e infiammazione a livello delle meningi e facilitando la trasmissione nocicettiva del dolore. Nei prossimi mesi saranno disponibili gli anticorpi monoclonali diretti contro la molecola del CGRP stesso (fremanezumab, galcanezumab) già in commercio in USA ed in alcune nazioni europee. Si tratta della prima terapia specifica e selettiva per la prevenzione dell'emicrania, somministrata mensilmente per via sottocutanea per alcuni mesi. Gli studi registrativi, condotti su oltre 7.000 pazienti, hanno dimostrato una ottima efficacia (riduzione degli attacchi $\geq 50\%$ nel 60-70% dei pazienti; riduzione $\geq 75\%$ nel 45% dei casi; riduzione del 100% nel 25% dei soggetti) con eccellente tollerabilità (eventi avversi uguali al placebo) e sicurezza di impiego. L'European Headache Federation ha pubblicato delle linee guida dettagliate sullo stato dell'arte circa le prove di efficacia nel ridurre la frequenza, l'intensità degli episodi di cefalea, sicurezza e tollerabilità dei quattro anticorpi monoclonali in condizioni sperimentali "ideali", con pazienti selezionati con stringenti criteri di inclusione ed esclusione. Questa selezione limita la trasferibilità diretta delle conclusioni di questi studi nella realtà clinica: questo studio intende quindi valutare sul campo della pratica clinica la reale efficacia nella riduzione della frequenza mensile dei giorni di emicrania e la tollerabilità di erenumab.

Il presente studio intende valutare l'impatto di erenumab come trattamento di prevenzione dell'emicrania in soggetti adulti che hanno presentato ≥ 8 giorni di emicrania al mese nei 3 mesi precedenti e in cui due o più trattamenti di profilassi precedenti non sono risultati efficaci o tollerati.

Obiettivo primario	Outcome primario
Efficacia	Riduzione relativa del numero di giorni di emicrania mensile rispetto alla media dei giorni di emicrania nei 3 mesi precedenti il trattamento, valutata dopo 4 settimane (T1), 8 settimane (T2), 12 settimane (T3), 24 settimane (T6) e 48 settimane (T12).
Tollerabilità e Sicurezza	Tipo e numero di eventi avversi verificatisi durante il periodo di studio, rilevati ad ogni controllo clinico, tramite specifico quesito (dettaglio dell'evento, durata, severità e azione intrapresa)

Obiettivo secondario	Outcome secondari
Impatto della terapia con erenumab sull'utilizzo di farmaci sintomatici e sugli aspetti correlati alla "dipendenza" da farmaci sintomatici	Riduzione dell'assunzione mensile media del numero di analgesici.
Impatto della sulla disabilità indotta dall'emicrania	Variazione media del punteggio del questionario: <ol style="list-style-type: none"> HIT-6 TM rispetto al T0 (prima del trattamento) valutato a 4 settimane (T1), 8 settimane (T2), 12 settimane (T3), 24 settimane (T6) e 48 settimane (T12).
Impatto sull'intensità del dolore percepito durante l'attacco di emicrania	Variazione media del punteggio del questionario: <ol style="list-style-type: none"> VAS rispetto al T0 (prima del trattamento) valutato a 4 settimane (T1), 8 settimane (T2), 12 settimane (T3), 24 settimane (T6) e 48 settimane (T12).
Impatto sulle difficoltà lavorative correlate all'emicrania	Variazione media del punteggio del questionario: <ol style="list-style-type: none"> HEADWORK rispetto al T0 (prima del trattamento) valutato a 12 settimane (T3), 24 settimane (T6) e 48 settimane (T12).
Impatto sui costi correlati all'emicrania	Variazione media del punteggio del questionario: <ol style="list-style-type: none"> COSTI rispetto al T0 (prima del trattamento) valutato a 12 settimane (T3), 24 settimane (T6) e 48 settimane (T12).
Tassi di risposta	<ul style="list-style-type: none"> Percentuale di pazienti emicranici che ottengono una riduzione di $\geq 50\%$ del numero di giorni di emicrania mensile rispetto alla media dei giorni di emicrania prima del trattamento (T0) dopo 4 settimane (T1), 8 settimane (T2), 12 settimane (T3), 24 settimane (T6) e 48 settimane (T12). Percentuale di pazienti emicranici che ottengono una riduzione di $\geq 75\%$ del numero di giorni di emicrania mensile rispetto alla media dei giorni di emicrania prima del trattamento (T0) dopo 4 settimane (T1), 8 settimane (T2), 12 settimane (T3), 24 settimane (T6) e 48 settimane (T12).

	<ul style="list-style-type: none"> - Percentuale di pazienti emicranici che ottengono una riduzione del 100% del numero di giorni di emicrania mensile rispetto alla media dei giorni di emicrania prima del trattamento (T0) dopo 4 settimane (T1), 8 settimane (T2), 12 settimane (T3), 24 settimane (T6) e 48 settimane (T12).
--	--

I pazienti affetti da emicrania con frequenza ≥ 8 gg/mese nel corso degli ultimi 3 mesi e afferenti presso l'Unità per la Cura e la Ricerca su Cefalee e Dolore dell'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma (presso tutti gli altri centri coinvolti nel progetto EARLY) che soddisfino i criteri di inclusione, sono stati trattati con una prima somministrazione di erenumab 70 mg per via sottocutanea, dopo aver eseguito accurata anamnesi ed esame neurologico. La situazione clinica del paziente è stata dettagliata con un'intervista semistrutturata e attraverso i questionari VAS, HIT-6, HEADWORK, questionario costi. I questionari VAS e HIT-6 sono stati compilati dal paziente ad ogni visita successiva mentre i questionari HEADWORK e COSTI sono stati compilati alle visite T0, T3, T6, T12.

Erenumab è stato somministrato ad ogni paziente ogni 28 gg per almeno 24 settimane (T6).

Dopo 8 settimane dalla prima somministrazione (T2) è stata stabilita la dose con cui il paziente ha proseguito il trattamento: è stata confermata la dose di 70 mg in caso del raggiungimento di beneficio clinico inteso come la riduzione $\geq 50\%$ dei giorni di emicrania rispetto alle precedenti quattro settimane oppure è stata incrementata alla dose di 140 mg per la successiva somministrazione in caso di beneficio clinico $\leq 50\%$.

Durante tutte le visite dello studio sono stati rilevati eventuali eventi avversi avvenuti durante tutto il periodo di osservazione.

Tutti i pazienti hanno fatto pervenire ai medici sperimentatori il diario della cefalea mensilmente per tutta la durata dello studio, allo scopo di verificare i parametri di efficacia, tollerabilità e sicurezza.

Sono stati arruolati nello studio 846 pazienti affetti da HFEM e CM afferenti Presso l'Unità per la Cura e la Ricerca su Cefalee e Dolore dell'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma e presso tutti gli altri centri coinvolti, eleggibili al trattamento di profilassi farmacologica, candidabili alla terapia con anticorpi monoclonali anti CGRP e che rispondano ai seguenti criteri di inclusione/esclusione:

Criteri di inclusione:

1. Pazienti adulti (età \geq di 18 anni) affetti da emicrania con o senza aura con frequenza media di almeno 8 giorni di emicrania al mese secondo i criteri ICHD-3 e che abbiano precedentemente fallito per inefficacia o intolleranza almeno due terapie preventive previste dalle vigenti linee guida nazionali AGENAS 2011.
2. Sottoscrizione del consenso informato previsto;
3. Consenso a seguire tutte le procedure dello studio, incluse le visite di follow-up;
4. Test di gravidanza negativo, eseguito su campione di urine di donne in età fertile;
5. Uso di valido metodo contraccettivo per tutti partecipanti durante tutta la durata dello studio.

Criteri di esclusione:

1. Età $<$ 18 anni;
2. Gravidanza o allattamento;
3. Scarsa conoscenza della lingua italiana;
4. Comorbidità di altre patologie neurologiche, cardiovascolari, epatiche, respiratorie, ematologiche, autoimmuni o alterazioni di esami di laboratorio ritenute di rilevanza clinica.
5. Indisponibilità a partecipare allo studio.

Durante lo studio vengono utilizzate cartelle cliniche appositamente create composte dai seguenti elementi:

1. Cartella clinica dell'ambulatorio dell'Unità per la diagnosi e la terapia delle Cefalee

dell'IRCCS San Raffaele Pisana

2. Scheda di rilevazione dei dati
3. Diario delle cefalee
4. Visual Analogue Scale
5. Questionario HIT-6
6. Questionario HEADWORK
7. Questionario COSTI

I dati raccolti durante lo studio sono stati inseriti in modo anonimo in un database elettronico. Le analisi statistiche sono condotte con un software dedicato (SPSS v 20) e in base alla variabile in studio sono utilizzati i test statistici appropriati (test del chi quadrato per variabili categoriche, Fisher's exact test per analizzare il tasso di risposta).

AREA DI RICERCA PNEUMOLOGIA RIABILITATIVA

Studio pilota di intervento non farmacologico per la valutazione del fenotipo e dello stato di attivazione degli eosinofili in pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO)

La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) rappresenta la quarta causa di mortalità nel mondo. E' associata ad alta morbilità, alterazione della qualità della vita, e costi elevati. L'insufficienza respiratoria, che insorge nelle fasi avanzate della BPCO, contribuisce a renderla una delle patologie più costose in termini di consumo di risorse. Il 30% dei pazienti con BPCO presenta un aumentato numero di eosinofili circolanti (più del 2% dei globuli bianchi o più di 300 eosinofili/microlitro) e nelle vie aeree; in questi pazienti è aumentato il rischio di esacerbazioni, anche se la presenza di un aumentato numero di eosinofili è associato ad una migliore risposta alla terapia antiinfiammatoria steroidea. Sebbene il dato relativo all'eosinofilia sia assodato e riconosciuto dalla comunità scientifica, non è noto quale sia il ruolo svolto dagli eosinofili nella patologia, e, in particolare, nell'insorgenza degli episodi di riacutizzazione. Gli eosinofili circolanti nel sangue vengono richiamati nei tessuti infiammati attraverso gradienti di chemochine, come CCL11, e, una volta nel sito infiammato, si attivano in risposta al danno tissutale e ad eventuali patogeni presenti, e rilasciano attraverso la degranolazione enzimi idrolitici, perossidasi, la EDN, neurotossina derivante dagli eosinofili, e la proteina cationica eosinofilica. L'analisi citofluorimetrica permette di studiare le funzioni degli eosinofili, analizzandone il fenotipo, cioè la presenza di molecole sulla membrana cellulare associate all'attivazione degli eosinofili.

L'ipotesi alla base di questo progetto di ricerca è che gli eosinofili esprimano differenti marcatori a seconda del fenotipo clinico dei pazienti con BPCO. Inoltre, ci si aspetta che un determinato fenotipo di eosinofili possa essere associato ad una migliore o peggiore risposta alla terapia riabilitativa. Se queste ipotesi dovessero rivelarsi corrette, si saranno ottenuti dei nuovi marcatori di prognosi, che possano costituire per il medico uno strumento utile ad impostare una terapia personalizzata.

Lo studio si prefigge di valutare la presenza di alterazioni del fenotipo degli eosinofili in corso di BPCO durante le esacerbazioni e in remissione e di verificare il ruolo patogenetico degli eosinofili in corso di BPCO, valutando la produzione di citochine pro infiammatorie.

Ci si aspetta di identificare diversi pannelli di espressione di molecole sulla membrana degli eosinofili, che siano associati a diversi fenotipi clinici dei pazienti con BPCO. In particolare, si proverà ad associare il fenotipo degli eosinofili alla risposta alla terapia riabilitativa. I pannelli molecolari identificati potranno essere utilizzati come strumenti prognostici per identificare rapidamente pazienti che possano beneficiare di una terapia riabilitativa specifica.

Attualmente, un numero alto di eosinofili circolanti è considerato un marcatore di buona risposta clinica alla terapia con corticosteroidi inalatori. Tuttavia, non ci sono informazioni disponibili su pazienti con numero di eosinofili basso o normale. Questo progetto si propone di valutare il fenotipo degli eosinofili, piuttosto che il numero, allo scopo di definire diversi pannelli di molecole espresse, associate a diversi fenotipi clinici.

Il protocollo di studio coinvolge un totale di 30 pazienti divisi in due gruppi (15 per gruppo) di età > 18 anni, di entrambi i sessi. I due gruppi sono così formati:

- pazienti ricoverati in seguito ad esacerbazione. Per la definizione delle esacerbazioni, si segue il sistema EXACT
- pazienti senza episodi di esacerbazione negli ultimi 3 mesi, non ricoverati ma afferenti all'ambulatorio per visita di controllo.

Il fenotipo degli eosinofili nei pazienti con esacerbazione (gruppo A) è valutato al momento dell'ammissione in reparto (prelievo P1) e confrontato con il fenotipo degli stessi pazienti (gruppo A) alla dimissione (prelievo P2), oltre che con il fenotipo degli eosinofili di pazienti non in fase di esacerbazione (gruppo B). Per il gruppo B è previsto solo il prelievo P1.

Marcatura degli eosinofili e acquisizione al citofluorimetro: il sangue prelevato in provetta Vacutainer con anticoagulante (NaEDTA) viene conservato a temperatura ambiente ed utilizzato entro 24 ore dal prelievo. I campioni sono marcati con i seguenti anticorpi: anti-CD45, anti-CD15, anti-CD16, anti-CD66, anti-CD125, anti-CD193, anti-Siglec-8, anti-CD294, anti-CD63. Dopo l'incubazione i globuli rossi sono lisati con FACS Lysing Solution 1X. I campioni sono acquisiti e analizzati al citofluorimetro LSR Fortessa X20.

Analisi della produzione di citochine: i campioni di sangue periferico vengono incubati con o senza LPS, in presenza di BFA. Al termine dell'incubazione si effettua una marcatura di superficie con i seguenti anticorpi: anti-CD45, anti-CD15, anti-CD16, anti-CD66. Successivamente, i campioni sono fissati e permeabilizzati con il reagente Cytofix/CytoPerm (BD Bioscience) e marcati con anticorpi anti-IL-2 e anti-IL-4. I campioni vengono acquisiti e analizzati al citofluorimetro Fortessa.

Nel corso del 2020 sono stati reclutati 9 pazienti del gruppo A e 5 pazienti del gruppo B, afferenti all'Unità di Riabilitazione Polmonare per esacerbazioni in corso di BPCO (A) oppure per controlli di routine (B). Dopo firma del consenso informato i pazienti sono stati sottoposti a prelievo ematico che è stato utilizzato per l'analisi degli eosinofili, come descritto in precedenza. Per i pazienti del gruppo A, un altro prelievo è stato effettuato il giorno delle dimissioni. L'analisi dell'immunofenotipo ha mostrato come gli eosinofili dei pazienti avessero un aspetto attivato (upregolazione di CD63, CD193 e CD294 rispetto ai controlli sani). La stimolazione con LPS non ha indotto ulteriore aumento dei marcatori, suggerendo che questa popolazione cellulare sia già al massimo dell'attivazione. L'analisi sui prelievi degli stessi pazienti, dopo 3 settimane di riabilitazione, ha mostrato come i marcatori di attivazione degli eosinofili si siano mantenuti alti (superiori ai controlli). Questa osservazione fa immaginare che lo stato di attivazione sia indipendente dallo stato clinico. Il confronto con i pazienti stabili (gruppo B) ha mostrato una differenza nell'espressione del recettore per l'eotassina (CCR3), che è molto più espresso negli eosinofili dei pazienti stabili rispetto agli esacerbati. Nel corso del 2021 saranno reclutati altri 6 pazienti per raggiungere il totale dei 15 del gruppo di ricoverati con esacerbazioni, e saranno reclutati gli altri 10 pazienti con BPCO stabile (gruppo B). L'analisi comparata tra i due gruppi servirà a confermare le differenze osservate.

Promozione della qualità di vita e dell'aderenza terapeutica dei pazienti affetti da malattie respiratorie croniche: personalizzazione dei percorsi riabilitativi

Le malattie respiratorie croniche, severi quadri patologici che includono malattie croniche delle vie aeree e delle altre strutture polmonari, rappresentano le principali cause di morbilità e mortalità, di cui se ne prevede un trend sempre più in crescita nei prossimi anni. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) stima che attualmente circa 300 milioni di persone soffrano di asma, 80 milioni di broncopneumopatia cronico ostruttiva (BPCO), altri per le conseguenze di BPCO lievi, riniti allergiche e altre patologie respiratorie croniche. Nel loro complesso le malattie respiratorie causano il 17% di tutte le morti. In Italia rappresentano la terza causa di morte, dopo le malattie cardiovascolari e neoplasie, con un trend in crescita a causa dell'invecchiamento della popolazione.

Tali patologie insorgono a causa dell'azione di più fattori di rischio: ambientali (fumo attivo e passivo di sigaretta, esposizione occupazionale, inquinamento atmosferico outdoor/indoor, condizioni socio-economiche, alimentazione, infezioni, errati stili di vita) e individuali (predisposizione genetica, familiarità, obesità).

La BPCO, l'asma, le allergie respiratorie, le malattie professionali polmonari, la sindrome da apnee notturne (OSAS) e l'ipertensione polmonare sono prevenibili.

Nonostante esistano efficaci misure di prevenzione, le malattie respiratorie croniche sono sottovalutate, sottodiagnosticate e sottotrattate, compromettendo in modo severo la qualità della vita di coloro che ne sono portatori. Hanno un impatto rilevante sul grado di soddisfazione della vita di tali soggetti e comportano un elevato rischio di distress psicologico, depressione, ansia ed altri disturbi psichici. Tale sintomatologia influenza la risposta psicologica alla malattia e pertanto deve essere attentamente individuata e diagnosticata per una adeguata gestione della relazione terapeutica e del complesso percorso di cura di questi pazienti.

In pazienti con BPCO è stata documentata una prevalenza tre volte superiore di disturbi psichici rispetto alla popolazione generale, doppia nelle donne rispetto agli uomini. Il profilo di personalità, la presenza di distress psicologico e di depressione possono influenzare in modo indipendente la prognosi dei pazienti affetti da malattie respiratorie croniche terminali: nei soggetti con BPCO la presenza di sintomatologia depressiva è risultata essere associata ad un maggior tasso di riacutizzazioni e ri-ospedalizzazioni e ad una maggiore mortalità entro un anno. Si osserva infine che la BPCO ha anche un impatto sulla figura del caregiver. Uno studio ha evidenziato che la qualità della vita dei pazienti con BPCO e dei loro caregiver diminuisce al progredire della disabilità e della dipendenza del paziente [Miravittles M. et al., Caregivers' burden in patients with COPD, *IntJCOPD*, February 2015].

La promozione di una maggiore consapevolezza della patologia respiratoria cronica consentirebbe un intervento terapeutico e riabilitativo migliore specialmente durante le prime fasi della malattia, rallentandone il corso e migliorando la qualità della vita sia dei pazienti che dei loro caregiver. Aumentare la consapevolezza di tali pazienti sulla gravità e la cronicità della loro malattia e sulle sue conseguenze permetterebbe di migliorare il loro ruolo decisionale nel generale processo di cura di sé determinando anche una maggiore comunicazione e collaborazione con i diversi professionisti della salute. Nei pazienti con BPCO, una migliore conoscenza della malattia aumenta il numero di diagnosi e facilita l'invio dei pazienti verso percorsi di cura più adeguati per la loro patologia. La peculiarità della BPCO è che, pur essendo progressivamente invalidante, la maggior parte dei pazienti non sviluppa consapevolezza della malattia: anche nelle fasi più avanzate la terminalità viene considerata un incidente. È pertanto opportuno sviluppare e promuovere il patientempowerment, forme di responsabilizzazione e di coinvolgimento attivo del paziente nel proprio processo di cura di modo che possa acquisire gli strumenti per autogestirsi e collaborare in forma proattiva con i caregiver e i clinici che lo hanno in carico. Il soggetto in cura non è passivo ma deve essere messo in grado di partecipare in modo consapevole e aderire al piano terapeutico proposto.

Tale processo si inserisce nel più ampio contesto della qualità di vita del paziente con malattia respiratoria cronica. Il concetto di qualità di vita (QoL) pone al centro del processo di cura il punto di vista del paziente, la sua soggettività e le sue scelte relativamente alla gestione della malattia e relativi percorsi di cura. Nell'ambito di quadri clinici complessi e ad andamento cronico la valutazione della qualità di vita rappresenta un parametro fondamentale, sia nella pratica clinica che epidemiologica, che si affianca alla valutazione degli indicatori medico/clinici, completando il profilo clinico del singolo paziente.

Tale concetto afferisce ai bisogni, alle credenze, agli stati emotivi, ai vissuti e alle esperienze di vita quotidiana di un soggetto e al suo generale benessere, in un'ottica classica di salute intesa come stato caratterizzato da un completo benessere fisico, mentale e sociale, e non semplicemente dall'assenza di malattia o infermità [The World Organization Quality of Life Assessment (WHO-QOL): position paper from the World Health Organization. *Soc Sci Med* 1995; 41:1403-9].

La consapevolezza della malattia tuttavia è strettamente legata a un corretto supporto educativo alla cui base diventa necessaria un'attenta analisi dei bisogni del paziente. Tali analisi permetterebbe di esplorare in modo più approfondito il modo di intendere e di interpretare la malattia, in una visione più globale, restituendo la centralità al paziente.

La conoscenza dei bisogni del paziente affetto da patologia respiratoria cronica consentirebbe di acquisire dati qualitativi utili a individuare alla formulazione di possibili personalizzazioni di percorsi riabilitativi.

Il progetto è volto alla promozione della qualità di vita dei pazienti affetti da malattie respiratorie croniche mediante il raggiungimento dei seguenti obiettivi:

1. sviluppo e promozione di una reale compliance ed aderenza terapeutica al percorso riabilitativo, attraverso l'analisi dei bisogni e l'empowerment del paziente;
2. sviluppo e promozione di percorsi di riabilitazione personalizzati, attraverso la raccolta sia di dati real word (alla base della Real Word Evidence) che di dati di QoL (Quality of Life);
3. formazione mirata per una gestione ottimale dei pazienti con malattie respiratorie croniche, secondo una cultura di ascolto attivo del paziente.

Negli ultimi anni sta assumendo sempre più importanza la Real Life, ossia l'osservazione dei dati provenienti dalle cartelle cliniche dei pazienti, alla base della Real Word Evidence (RWE), una medicina basata sull'evidenza. La raccolta dei dati real word non coinvolge, non influisce e non modifica l'attività clinica assistenziale.

Tale progetto è uno studio Proof of Principle condotto sulle malattie respiratorie croniche come modello di intervento basato sull'esperienza e la collaborazione tra le Unità di Riabilitazione Respiratoria e di Epidemiologia Clinica e Molecolare.

Ci aspetta di poter ottenere un miglioramento nella gestione dei percorsi riabilitativi dei pazienti con malattie respiratorie in una prospettiva di Real Word Evidence e di poter individuare di dati QoL per la costruzione di profili di aderenza terapeutica e riabilitativa dei pazienti.

La maggior parte dei pazienti con malattia cronica spesso non aderisce in modo adeguato al piano terapeutico prescritto e ciò porta ad effetti deleteri sia sul piano clinico che economico perché ne derivano il prolungarsi della malattia, l'aumento del numero di assenze dal posto di lavoro, l'aumento del numero delle ospedalizzazioni ed una generale compromissione della qualità di vita. Alcuni studi epidemiologici hanno dimostrato che i pazienti cronici che hanno partecipato attivamente a programmi di educazione presentano una riduzione significativa della comparsa di complicanze e un miglioramento dello stato di salute e dell'aderenza alla terapia. Ai fini dell'empowerment del paziente è importante che sviluppi adeguate competenze riguardo alla sua malattia e che tutto il sistema assistenziale sia riorganizzato in modo da porlo al centro del percorso di cura. La partecipazione attiva al proprio processo di cura implica che il soggetto diventi "competente", consapevole e responsabile del proprio stato di salute e del proprio progetto di vita.

Il progetto si articola in diversi WorkPackages (WP):

WP1-Studio retrospettivo per la creazione di un "database", qualitativo e quantitativo, volto all'individuazione di specifiche modalità di risposta del paziente al trattamento riabilitativo - Approccio Real Word Evidence.

WP2-Studio-pilota interventistico non farmacologico volto alla rilevazione dell'impatto della malattia cronica respiratoria sulla qualità di vita del paziente.

WP3- Studio-pilota interventistico non farmacologico volto all'analisi dei vissuti di malattia e della loro influenza nelle modalità di aderenza al percorso riabilitativo.

WP4 – Estensione dello studio ad altre malattie croniche (neuro)degenerative.

Nell'ambito del più ampio progetto volto alla costruzione di profili di aderenza terapeutica e riabilitativa dei pazienti con malattie respiratorie croniche, in un gruppo di 70 pazienti con BPCO, è stato analizzato il ruolo del polimorfismo FKBP5 rs4713916 e la sua correlazione con la risposta alla riabilitazione polmonare.

I pazienti BPCO portatori della variante GA, in tale polimorfismo, mostravano dopo 4 settimane di riabilitazione, una migliore risposta in termini di funzionalità polmonare (6MWD e FEV1) associata anche ad un migliore stato psicologico.

Nello specifico i pazienti FKBP5 rs4713916 GA, rispetto ai pazienti FKBP5 rs4713916 GG, mostrano le seguenti caratteristiche:

1) Migliori prestazioni cognitive, 2) Maggiore grado di indipendenza sia nelle attività quotidiane che nell'uso di strumenti, 3) Migliore qualità di vita, sia prima che dopo la riabilitazione, 4) Assenza di umore depresso e sintomi di ansia, 5) Assenza di familiarità per disturbi psichiatrici, 6) Migliore capacità di far fronte a situazioni stressanti, utilizzando strategie di coping adattive 7) una tendenza a usare meno farmaci per il sistema nervoso centrale.

Recentemente, uno studio (Triestet *al.*, 2019) ha descritto la presenza di uno specifico cluster di comorbidità "psicologica" correlato alla BPCO non presente nella corrispondente popolazione di controllo. Questo cluster rispetto alla caratterizzazione clinica, si distingue per la presenza di disturbi dell'umore ed una peggiore QoL.

Nel gruppo da di pazienti BPCO esaminato per il polimorfismo FKBP5 rs4713916, i pazienti FKBP5 rs4713916 GA sembrano non rientrare nel cluster di comorbidità "psicologico".

Al contrario i pazienti FKBP5 rs4713916 GG possono rientrare nel cluster di comorbidità "psicologica", caratterizzato da condizioni psicologiche degne di attenzione clinica, rappresentando un sottogruppo importante di pazienti cronici per i quali studiare programmi di riabilitazione mirati. In pazienti con BPCO è stata documentata una prevalenza tre volte superiore di disturbi psichici rispetto alla popolazione generale, doppia nelle donne rispetto agli uomini. Il profilo di personalità, la presenza di distress psicologico e di depressione possono influenzare in modo indipendente la prognosi dei pazienti affetti da malattie respiratorie croniche terminali: nei soggetti con BPCO la presenza di sintomatologia depressiva è risultata essere associata ad un maggior tasso di riacutizzazioni e ri-ospedalizzazioni e ad una maggiore mortalità entro un anno. In uno studio longitudinale effettuato su soggetti affetti da BPCO la mortalità a 4 anni risultava influenzata in maniera indipendente dalla presenza di distress psicologico e dalla difficoltà di accettazione della malattia.

Si osserva infine che la BPCO ha anche un impatto sulla figura del caregiver. Uno studio ha evidenziato che la qualità della vita dei pazienti con BPCO e dei loro caregiver diminuisce al progredire della disabilità e della dipendenza del paziente.

Studio della broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) attraverso il danno ossidativo al DNA (CometAssay)

La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) è una malattia progressiva e complessa caratterizzata da un'ostruzione persistente delle vie aeree, non completamente reversibile dopo broncodilatatori e/o cortisonici. La letteratura suggerisce che pazienti con livelli severi di BPCO mostrano un incremento del danno ossidativo al DNA e dell'instabilità genomica, indice di una possibile predisposizione al cancro al polmone. Tali studi sono stati condotti con la metodica del CometAssay, tecnica elettroforetica atta alla misura ed alla visualizzazione dell'integrità del DNA a livello di cellule individuali.

Uno studio proof of principle suggerisce che programmi di riabilitazione polmonare (PR) riducono i livelli di stress ossidativo, misurato come riduzione della lunghezza della coda della cometa. In questo contesto risulta pertanto necessario attuare programmi di PR integrata consistenti in un intervento globale e multidisciplinare basato sull'evidenza dei benefici sui pazienti in base a parametri di efficacia ed efficienza, oggettivi e quantificabili. La valutazione integrata dell'efficacia della PR è complessa e richiede un notevole approfondimento iniziale ed una attenta valutazione degli "outcomes" di risposta. Le classiche caratteristiche al baseline non possono predire l'intensità della risposta.

Il progetto si prefigge di:

- testare, su un gruppo pilota, la possibile efficacia di un intervento globale in confronto all'approccio tradizionale;
- studiare e validare i predittori di risposta (inclusi OMICS);

- creare un algoritmo complesso in grado di predire, all'avvio del trattamento, la risposta del paziente.

La disponibilità di tale algoritmo è lo strumento iniziale per l'avvio di terapie personalizzate, tarate sui principali predittori di risposta al trattamento integrato.

Sebbene gli scopi del progetto siano molti ed applicabili a vari campi, la capacità di predire la risposta è sicuramente l'elemento prioritario, più significativo e con maggiori implicazioni cliniche.

Il test della cometa è una tecnica in grado di valutare il danno al DNA in cellule singole sia in fase riproduttiva che in quiescenza. Richiede piccoli campioni di sospensione cellulare ed i risultati si possono ottenere in pochi giorni. Tale tecnica utilizza una microelettroforesi per visualizzare il danno al DNA in singole cellule. Dai campioni di sangue, sono estratti i linfociti. Sui linfociti conservati in azoto liquido, è eseguito uno studio riguardante lo stress ossidativo in termini di danno al DNA, eseguito mediante Comet Test Alcalino (pH 13). Le cellule, imprigionate in uno strato di agarosio e lisate, sono sottoposte ad elettroforesi. Durante l'elettroforesi gli eventuali frammenti di DNA migrano dal nucleo verso l'anodo della camera elettroforetica fornendo al microscopio a fluorescenza, l'immagine di una cometa, da qui poi il nome "Comet Test". Poiché le rotture su singolo filamento e su siti alcali labili, indotte da agenti genotossici, sono più frequenti di quelle evidenziabili su doppio filamento, questa versione ha offerto un grande incremento della sensibilità del metodo.

Per valutare la migrazione del DNA, sono valutate 100 cellule per ciascuna slide, preparando 2 slides per ogni paziente; quindi sono valutate 200 cellule per paziente. I dati raccolti sono suddivisi in cinque categorie in accordo con l'Olivetail moment score descritto da Collins (2008). Il numero totale di cellule appartenente ad ogni categoria viene conteggiato e moltiplicato per un valore assegnato da 0 a 4 in base alla classe di danno. La somma di tutte le categorie è calcolata e considerata come l'indice di danno.

Le informazioni raccolte nell'ambito del progetto sono così riassunte: valutazione respiratoria (emogasanalisi/ Medical Research Council/dyspnea scale/St. George's Respiratory Questionnaire/Maugeri Respiratory Failure/ Borg-Barthelscales/Functionalexercisecapacity (6-Minute Walking Test); esami strumentali (ECG/spirometria/pressione arteriosa); visita medica/esame obiettivo; esami ematochimici/emocromo/urine; stili di vita/esposizione ambientale/eventi stressanti/relazioni sociali; anamnesi di comorbidità medica/Charlsoncomorbidityindex; rating scales di QoL/abilità della vita quotidiana/stato cognitivo/psicologico (MINI Mental State Examination, il Montreal Cognitive Assessment, la scala di autovalutazione della depressione CES-D, la scala per la valutazione dei livelli di ansia Zung, il test di Beck per la misura della depressione); analisi degli SNPs dei geni coinvolti nella sensibilità/resistenza ai glucocorticoidi. La disponibilità di campioni raccolti e aliquotati, prima/dopo 3 settimane di PR, è in grado di completare il set di informazioni necessarie alla valutazione personalizzata delle performance di ogni singolo paziente.

Sono stati raccolti ed analizzati differenti tipi di informazioni in 89 pazienti con BPCO, afferenti all'Unità di Riabilitazione Polmonare. Sono stati raccolti i campioni IN/OUT di sangue (siero/plasma); sono stati effettuati gli esami ematochimici e di valutazione della funzionalità polmonare, prima e dopo PR. Sono stati inoltre valutati i parametri psico-cognitivi e di qualità di vita per completare il profilo clinico.

Nella tabella 1 sono riportate le caratteristiche demografiche e cliniche degli 89 pazienti partecipanti alla sperimentazione. Per sesso, stato civile, abitudini al fumo, abitudine al bere, occupazione, ossigeno terapia, terapia cortisonica, rispondenti al six minute walking test, sono stati valutati il numero di pazienti e la percentuale. L'età media dei pazienti è di 72 anni e il grado di BPCO è 3-4 in accordo alle linee guida Gold. Dopo 3 settimane di riabilitazione circa il 70% dei pazienti mostra un livello significativo di miglioramento ($D \geq 30$ m).

Tabella 1 . Caratteristiche demografiche e cliniche di 89 pazienti.

Variables	
Gender	
<i>Males</i>	40 (44.9%)
<i>Females</i>	49 (55.1%)
Age (<i>years</i>)	72.42 ± 8.75
Education (<i>years</i>)	8.9 ± 3.88
Marital Status	
<i>Single</i>	4 (4.5%)
<i>Married</i>	49 (55.0%)
<i>Divorced/widow</i>	36 (40.5%)
Current Smokers	15 (18.8%)
Occupational Status	
<i>Active</i>	14 (17.7%)
<i>Retired</i>	57 (72.1%)
<i>Housewife</i>	8 (10.2%)
BMI	27.2 ± 7.6
Living alone	20 (22.5%)
Therapy with O ₂	30 (33.7%)
MMSE	27.12 ± 2.82
MoCa	26.0 ± 3.58
SAS	28.88 ± 8.54
BDI-II	13.93 ± 8.17
SF-36 <i>General Health</i>	72.24 ± 12.28
SF-36 <i>Mental Health</i>	62.44 ± 9.99
CIRS-comorbidity	2.58 ± 1.43
CIRS-severity	1.60 ± 0.23

Tabella 2 .Damageindex dei singoli pazienti

	Admission	Dismission						
			30	2.96	2.66	61	2.38	2.64
			31	2.39	2.74	62	2.27	2.82
1	2.14	2.61	32	2.85	2.89	63	3.01	2.77
2	1.57	2.56	33	2.50	2.89	64	2.06	2.57
3	2.37	2.53	34	2.96	2.82	65	2.24	2.37
4	2.23	2.10	35	2.52	2.65	66	2.62	2.64
5	2.65	2.42	36	2.98	3.32	67	2.51	2.89
6	2.66	2.21	37	2.85	3.30	68	2.06	3.13
7	2.51	2.29	38	2.23	2.81	69	3.08	3.20
8	2.61	2.84	39	2.54	2.70	70	2.72	2.47
9	2.14	3.23	40	2.89	2.96	71	2.68	2.83
10	2.18	2.92	41	2.33	2.65	72	2.77	3.05
11	2.45	2.78	42	3.21	3.40	73	2.66	2.33
12	2.22	2.39	43	3.23	2.77	74	3.08	2.95
13	2.40	3.52	44	3.50	3.12	75	2.92	3.08
14	2.41	2.58	45	3.18	3.05	76	2.21	3.08
15	3.32	2.94	46	3.09	3.05	77	2.11	3.00
16	3.10	2.85	47	3.66	3.72	78	2.64	3.46
17	2.85	2.29	48	3.22	3.19	79	2.83	2.55
18	3.37	3.31	49	2.93	3.02	80	2.90	2.67
19	2.96	2.93	50	3.07	3.52	81	2.86	2.71
20	3.26	3.20	51	3.53	3.19	82	3.01	2.76
21	3.23	3.45	52	3.30	3.33	83	2.93	3.00
22	3.58	3.49	53	3.82	2.89	84	2.60	2.72
23	2.72	2.50	54	2.68	3.26	85	2.77	2.55
24	2.98	3.31	55	2.85	2.94	86	2.92	2.74
25	3.38	3.37	56	2.70	2.31	87	2.89	2.26
26	3.36	3.37	57	2.85	2.57	88	2.81	2.77
27	3.55	3.38	58	2.80	2.79	89	2.84	3.01
28	2.83	2.97	59	2.87	2.83			
29	2.54	2.72	60	2.55	2.77			

Tabella 3. Confronto del livello di damageindex (%TI) di 89 pazienti prima e dopo la riabilitazione

	N.	%TI before PR (<i>x ± SD</i>)	%TI after PR (<i>x ± SD</i>)	ΔTI	p value
All patients	89	19.6 ± 7.3	21.82 ± 7.20	2.46	0.0001
Oxygen supplementation					
Yes	28	21.4 ± 8.6	24.5 ± 8.6	3.14	0.0086
No	56	18.4 ± 6.4	20.5 ± 6.0	2.11	0.0020
Response to PR					
Yes	58	20.00 ± 8.2	21.8 ± 6.8	1.78	0.0040
No	26	17.9 ± 4.5	21.9 ± 8.2	3.97	0.0014

Tabella 4. Parametri clinici e respiratori di 89 pazienti prima e dopo la riabilitazione

	Before PR (<i>x ± SD</i>)	After PR (<i>x ± SD</i>)	Δ%TI	p value
6MWD (<i>meters</i>)	94.04 ± 83.73	187.19 ± 133.81	93.15	< 0.001
FEV1(%)	52.57 ± 27.60	60.80 ± 29.72	8.24	0.012
MRC	4.0 ± 0.00	3.38 ± 0.55	-0.62	< 0.001
Borg	7.89 ± 0.92	5.20 ± 2.48	-2.68	< 0.001
SGRQ	48.42 ± 16.47	42.88 ± 14.86	-5.54	0.004
Barthel	69.74 ± 21.92	86.16 ± 16.31	16.42	< 0.001
MRF	73.01 ± 14.23	48.91 ± 17.92	-24.11	< 0.001
pH	7.42 ± 0.03	7.43 ± 0.03	0.01	0.017
pO ₂ (<i>mmHg</i>)	80.91 ± 20.03	79.13;10.90	-1.78	N.S.
pCO ₂ (<i>mmHg</i>)	44.87 ± 7.92	43.22 ± 8.37	-1.65	0.083
SpO ₂ (<i>mmHg</i>)	94.98 ± 2.60	95.89 ± 1.63	0.91	0.005

Tabella 5. Parametri clinico-patologici di 89 pazienti prima e dopo la riabilitazione

	Before PR (<i>x ± SD</i>)	After PR (<i>x ± SD</i>)	Δ%TI	p value
CRP	0.88 ± 1.39	1.21 ± 1.74	0.33	N.S.
WBC*	10.28 ± 4.08	9.80 ± 3.20	-0.48	N.S.
Neutrophils	7.68 ± 3.67	6.73 ± 3.15	-0.95	0.023
Lymphocytes	1.72 ± 0.91	1.97 ± 0.94	0.25	0.011
Monocytes	0.73 ± 0.40	0.68 ± 0.30	-0.05	N.S.
Eosinophils	0.09 ± 0.12	0.12 ± 0.11	0.03	N.S.
Basophils	0.025 ± 0.02	0.03 ± 0.03	0.005	N.S.
IL-6	81.5 ± 124.4	110.8 ± 138.3	29.3	0.024

* 10³/ml; CRP: C-reactive Protein; WBC: White Blood Cells.

La BPCO mostra diversi segni distintivi dell'invecchiamento e un alto livello di stress ossidativo. Il danno al DNA ha mostrato un aumento molto significativo dopo tre settimane di Riabilitazione Respiratoria.

Danni più elevati al DNA sono stati osservati nei non responder e nei pazienti sottoposti a terapia con ossigeno

La risposta alla riabilitazione differisce tra i pazienti che chiedono un trattamento personalizzato.

Il danno al DNA nei pazienti con BPCO può rappresentare un marcatore biologico significativo di risposta

In conclusione, in accordo con i risultati riportati dalla ricerca, la misura della frequenza del danno al DNA in pazienti con BPCO sottoposti a riabilitazione polmonare può essere un marker biologico significativo di risposta e dovrebbe essere considerato come un criterio diagnostico e prognostico aggiuntivo da prendere in considerazione per programmi di riabilitazione personalizzati.

La gestione della BPCO risulta complessa: in Italia è una malattia respiratoria molto diffusa con alti costi e sostenibilità per il SSN. Nondimeno, il numero di reparti ospedalieri di riabilitazione respiratoria e di posti letto continua a diminuire senza alternative organizzative coerenti. Gli strumenti riportati dalle linee guida della Regione Lazio per la riabilitazione respiratoria comprendono 6MWT, Borg, MRC, MRF26 e BMI. La sfida è fornire agli specialisti nuovi strumenti in grado di valutare ampiamente lo stato globale e il profilo specifico dei pazienti, supportando scelte cliniche e decisioni riabilitative con strategie predittive. L'effettiva possibilità di ridurre le esacerbazioni e le riospedalizzazioni è di fondamentale importanza per la sostenibilità del sistema sanitario, alla luce dei costi sempre maggiori in una popolazione che invecchia sempre più.

Laboratorio di Neurobiologia Molecolare e Cellulare

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

Recentemente, un numero elevato di piccole molecole è stato identificato come in grado di riprogrammare cellule somatiche e determinarne il transdifferenziamento verso un fenotipo neuronale. La generazione di neuroni umani derivanti dalla diretta conversione chimica di fibroblasti prelevati mediante una piccola biopsia della pelle di pazienti (chemical induced Neurons-ciNs), senza l'uso di fattori genetici esogeni, rappresenta uno strumento essenziale per lo sviluppo di modelli alternativi di patologie neurologiche e per applicazioni rilevanti di medicina personalizzata, traslazionale e rigenerativa. A tale scopo, il Laboratorio ha identificato un primo sistema di riprogrammazione cellulare chimico per valutare la presenza di marcatori di patologia in ciNs derivanti da fibroblasti di pazienti affetti da Malattia di Alzheimer (AD) e Malattia di Parkinson (PD). I risultati ottenuti indicano che ciNs di pazienti AD e PD, rispetto a soggetti di controllo, presentano la conservazione e l'espressione di conformeri proteici neurotossici quali la beta-amiloide, l'alfa-Sinucleina e la proteina Tau iper-fosforilata, esclusivamente dopo riprogrammazione chimica in cellule neuronali.

Obiettivi dello studio riguardano:

1. Preparazione di chip per microfluidica in polidimetilsilossano (PDMS).
2. Messa a punto di nuovi protocolli di transdifferenziamento utilizzando diverse combinazioni di composti chimici al fine di ottimizzare l'efficienza di conversione dei fibroblasti in cellule neuronali.
3. Applicazione del transdifferenziamento chimico in sistemi di microfluidica (chip), dei protocolli identificati come più efficaci nella riprogrammazione cellulare.
4. Caratterizzazione funzionale dei ciNs derivati dai nuovi protocolli mediante tecniche elettrofisiologiche e di microscopia elettronica.

Il Laboratorio ha messo a punto la preparazione di colture cellulari neuronali umane indotte chimicamente (ciNs), derivanti da fibroblasti di pazienti affetti da Malattia di Alzheimer (AD) e malattia di Parkinson (PD) utilizzando dispositivi microfluidici (chip). L'obiettivo di questa tecnologia è quello di progettare sistemi di coltura cellulare che imitino il microambiente fisico dei tessuti e replichino i segnali chimici naturali. Le grandi potenzialità di questa tecnologia sono rappresentate dalla replicazione dei meccanismi all'interno degli organi e dei tessuti, dalla modellizzazione delle malattie, da una sperimentazione farmaceutica senza l'uso degli animali.

I ciNs di controllo, AD e PD a 17 DIV piastrati su gli a murina, saranno fissati in glutaraldeide 2.5% in tampone fosfato per poi essere lavati più volte in tampone fosfato e successivamente fissate in tetraossido di osmio 1%. Dopo la fissazione in osmio si procederà alla disidratazione in ordine

crescente di etanolo 30,50,70,95 e assoluto, fino ad inclusione, in resina epon812 lasciate polimerizzare in stufa a 60° C per 36h. Una volta ottenuto un blocchetto, i campioni cellulari, saranno tagliati con ultramicrotomo ottenendo sezioni da 70nm. Le sezioni ottenute verranno colorate ed infine osservate al microscopio elettronico a trasmissione (JEOL1400P).

Per la valutazione funzionale (elettrofisiologia) dei ciNs, ottenuti in microfluidica, i fibroblasti saranno piastrati su gelatina (10.000-15.000 cellule / pozzetto in piastre da 24 pozzetti) e coltivati per 1 giorno in terreno DMEM contenente alto glucosio con 10 % Siero fetale bovino, 1 mM glutamax, 0.1 mM aminoacidi non essenziali e antibiotici. Quindi, le cellule saranno coltivate in un mezzo di induzione neuronale contenente: DMEM/F12: Neurobasal [1:1] con 0,5% N-2, 1% B-27, 100 microMcAMP e 20 ng/ml bFGF ed antibiotici, aggiungendo il cocktail VCRFSGY (VPA, CHIR99021, Repsox, Forskolin, SP600125, GO6983, Y-27632). Dopo 8 giorni, le cellule saranno piastrate su chip (canali di altezza 200micron x lunghezza 10mm x larghezza 1,5mm) su un monostrato di cellule gliali murine e coltivate in un terreno di iniziale maturazione neuronale contenente DMEM/F12: Neurobasal [1: 1] con 0,5% N-2, 1% B-27, 100 microMcAMP, 20 ng/ ml bFGF e il cocktail CFD (CHIR99021, Forskolin, Dorsomorphin). Infine le cellule saranno coltivate in un terreno neuronale contenente: DMEM/F12: Neurobasal [1:1] con 0,5% N-2, 1% B-27, 100 microMcAMP e 20 ng/ml bFG, 20ng / ml BDNF, 20 ng / ml GDNF e 20 ng / ml NT3. Una volta ottenuti Neuroni maturi (17Div) si procede all'apertura del chip e successiva analisi elettrofisiologica.

Queste metodiche permetteranno approcci di diagnostica a costi e invasività ridotti.

Si intende pertanto sviluppare e ottimizzare un nuovo modello cellulare umano di patologie neurologiche sia per lo studio dei meccanismi patogenetici, che per lo sviluppo di strategie diagnostiche a basso costo e poco invasive rispetto ad altre metodiche in uso (imaging, biomarcatori nel liquor).

Ci si auspica di ottenere risultati sia mediante microscopia a fluorescenza, che microscopia elettronica che evidenzino sostanziali differenze tra ciNS di soggetti sani in confronto a ciNS di pazienti AD e PD, a livello di potenziali biomarcatori quali aggregati di α -Amiloide, pTAU e α -Sinucleina in immunofluorescenza; e grazie alla microscopia elettronica a trasmissione l'osservazione di danno mitocondriale (fissione, fusione) presenti nei ciNS dei pazienti AD e PD.

La messa a punto della preparazione di colture cellulari neuronali umane indotte chimicamente (ciNs), derivanti da fibroblasti di pazienti affetti da Malattia di Alzheimer (AD) e malattia di Parkinson (PD), utilizzando dispositivi microfluidici (chip), potrebbe rappresentare uno strumento diagnostico meno invasivo ed a basso costo rispetto ad altre metodiche come quelle di imaging e la ricerca di marcatori nel liquor, utile soprattutto per valutazioni in parallelo di cellule provenienti da molteplici pazienti.

Studio del ruolo antiapoptotico del complesso DNA-PK in un modello neuronale sottoposto a stress ossidativo

Le specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono un gruppo di molecole ad emivita breve e altamente reattive che possono indurre danni al DNA e influire sulla risposta al danno del DNA (DDR). Le rotture al doppio filamento del DNA (DSBs), sono le lesioni più pericolose e sono generalmente riparate da pathway che coinvolgono le chinasi ATM / ATR e DNA-PK.

In aggiunta alla sua nota funzione nella riparazione dei DSBs, evidenze emergenti suggeriscono che il complesso della DNA-PK svolge un ruolo antiapoptotico nella risposta cellulare allo stress ossidativo. Nel presente progetto di ricerca, è stato indagato il ruolo della DNA-PK durante lo stress ossidativo, avvalendosi di un modello cellulare neuronale (cellule PC12) sottoposto a trattamenti con H₂O₂. La crescente comprensione del coinvolgimento del DNA-PK nella risposta allo stress ossidativo offrirà nuove possibilità per il trattamento delle malattie correlate alla formazione di ROS.

Recenti studi hanno evidenziato un ruolo della DNA-PK nella risposta allo stress ossidativo, ma il meccanismo molecolare con cui la DNA-PK funziona in risposta allo stress ossidativo rimane ancora da chiarire.

L'obiettivo è quello di verificare l'ipotesi che la DNA-PK possa svolgere un ruolo nella risposta allo stress ossidativo indipendente dal suo ruolo nella riparazione del DNA. A tal proposito, è stato costruito un modello di danno cellulare indotto da H₂O₂ utilizzando cellule PC12 per osservare l'effetto del complesso della DNA-PK in seguito alla formazione di ROS e separarlo dal suo ruolo di riparazione dei DSBs.

È stato dimostrato che: (i) il trattamento con H₂O₂ delle cellule PC12 induce una sovraespressione dei livelli del complesso della proteina complessa DNA-PK; (ii) l'inibizione dell'attività chinasi della DNA-PK, in cellule PC12 proliferanti, mediante l'utilizzo del inibitore selettivo per la DNA-PK NU7026, provoca un aumento dell'apoptosi senza influenzare la riparazione del DNA; (iii) nelle cellule in proliferazione il ruolo anti-apoptotico della DNA-PK è indipendente dalla sua attività di riparazione del DNA, mentre nelle cellule neuronali, dove i DSB sono per lo più riparati dalla NHEJ, l'inibizione dell'attività del DNA-PK provoca un accumulo di danni al DNA che porterà alla morte cellulare; (iv) la funzione anti-apoptotica della DNA-PK è associata alla fosforilazione di AKT in Ser-473 e determina l'attivazione della cascata della Caspase-3.

Poiché precedentemente è stato dimostrato che nelle cellule PC12 gli aggregati di β -amiloide alterano l'attività chinasi della DNA-PK, principalmente attraverso la produzione di ROS, è possibile ipotizzare che in presenza di proteine amiloidogeniche, come la β -amiloide nella malattia di Alzheimer e la huntingtina nel morbo di Huntington, in seguito a stress ossidativi provocano la morte delle cellule neuronali mediante la soppressione della funzione anti-apoptotica della DNA-PK, contribuendo al processo neurodegenerativo.

Lo stress ossidativo è coinvolto in diverse patologie neurodegenerative. È stato anche suggerito come una possibile causa del processo di invecchiamento fisiologico. L'identificazione e la comprensione dei fattori chiave responsabili della riparazione del DNA, potrebbero rivelare potenziali bersagli terapeutici strategici per la cura di patologie umane causate da stress ossidativo. In conclusione, i risultati ottenuti forniscono informazioni sui meccanismi fisiopatologici alla base del danno da stress ossidativo e suggeriscono trattamenti innovativi ed efficaci per le malattie correlate ai ROS, sfruttando terapie basate sulla stimolazione dell'attività della DNA-PK.

Laboratorio di Biochimica dell'Invecchiamento

Identificazione di determinanti cellulari e molecolari di malattia o di risposta alle terapie in pazienti affetti da patologie degenerative

Il mantenimento dell'omeostasi metabolica e funzionale dei tessuti periferici è di fondamentale importanza per salvaguardare la funzionalità del sistema nervoso centrale. Alcuni organi e tessuti hanno un ruolo cardine nel bilanciamento energetico e metabolico, come il fegato e il tessuto adiposo, altri invece sono in processi regolatori di segnalazione mediati da citochine, vescicole circolanti come il tessuto adiposo stesso, il muscolo e il sistema immunitario. Lo sviluppo delle patologie associate all'invecchiamento, sia di carattere metabolico che neurologico, sono il risultato di disfunzioni che non interessano un distretto specifico e dipendono da alterazioni in meccanismi biologici comuni come lo stress ossidativo, l'epigenetica e le necessità metaboliche.

Recentemente, il ruolo dell'omeostasi metabolica degli organi periferici è stato ridisegnato e reinterpretato dalla scoperta di nuovi mediatori della segnalazione specialmente a carico del tessuto adiposo e muscolare da/verso il sistema nervoso centrale. Nuove ricerche che possano chiarire i meccanismi cellulari alla base dell'invecchiamento e della neurodegenerazione sia a livello del sistema nervoso centrale che degli organi periferici con funzioni metaboliche, endocrine e infiammatorie sono fondamentali per disegnare nuove prospettive terapeutiche per la cura e la riabilitazione di diverse patologie di carattere metabolico (diabete, malattie cardiovascolari) e/o neurodegenerativo.

Lo studio si prefigge di:

- studiare i fattori coinvolti nei processi di invecchiamento e neurodegenerazione focalizzando l'attenzione sulla regolazione dello stress ossidativo, del metabolismo e dell'epigenetica.
- Studiare le alterazioni dell'omeostasi del tessuto adiposo ed epatico con ricadute metaboliche sulla bioenergetica, stress ossidativo e infiammazione di tessuti periferici

Ci si aspetta di poter individuare nuovi meccanismi fisiopatologici per ampliare le prospettive terapeutiche in ambito di molteplici patologie strettamente connesse con il metabolismo, altre inesplorate sotto questo aspetto (neurodegenerative, neuromotorie) ma fortemente associate con alterazioni del metabolismo energetico a livello sistemico.

Le malattie neurodegenerative sono spesso associate a disfunzioni metaboliche e perdita della massa grassa oltre alla massa muscolare; tuttavia gli aspetti correlati alla perdita o al malfunzionamento degli organi periferici, del loro metabolismo e del loro secretoma risultano fortemente inesplorati, pertanto il progetto di ricerca è innovativo.

Cellule e trattamenti: Sono utilizzate cellule di preadipociti bianchi (3T3-L1) e bruni (T37i), mioblasti murini (C2C12), linee macrofagiche murine e umane, e cellule trasformate come modello di studio ideale vista la loro adattabilità a cambiamenti metabolici.

Per analizzare gli effetti dei cambiamenti metabolici sono utilizzati specifici protocolli di privazione di nutrienti o molecole che vanno ad impattare con le principali vie di catabolismo degli zuccheri, lipidi e carboidrati

Trasfezioni. Trasfezione con Nucleofector 4D® o agenti lipidici per la modulazione dell'espressione di proteine target in dipendenza del modello sperimentale (ad esempio, ATGL, NAT8L, SOD1 wt e mutata)

Modelli in vivo. Topi C57BL/6 WT, Modelli murini di patologia

Altre metodologie. Saggi biochimici: trigliceridi, glicerolo, enzimi della beta-ossidazione, ATP, consumo di ossigeno, citochine infiammatorie. Immunoistochimica; Analisi delle proteine: BN-PAGE, co-IP, Western blot. Biologia molecolare: RT-qPCR, Stell Array, ChIP. Determinazione di NAA tramite HPLC. Metodi genetici: genotipizzazione (SNPs). Biologia cellulare: microscopia confocale, citofluorimetria. Analisi istologiche. Lipidomica e trascrittomica di diversi tessuti in relazione al tipo di neurodegenerazione e di trattamento.

L'aumento della durata della vita e delle abitudini alimentari delle persone ha portato alla luce l'elevato rischio di contrarre patologie associate all'invecchiamento sia di carattere metabolico che neurodegenerativo. L'individuazione di nuovi meccanismi patofisiologici permette di validare eventuali biomarcatori per la diagnosi, la cura e la riabilitazione nella popolazione più fragile. Il valore aggiunto delle tematiche affrontate risiede nella caratterizzazione innovativa del ruolo degli organi periferici nel concorrere allo sviluppo di patologie che riguardano il sistema nervoso centrale. Il forte interesse nello sviluppo di terapie mirate a modulare le funzioni metaboliche e le risposte infiammatorie pongono il nostro studio al centro di indagini che potranno essere utili a definire protocolli terapeutici innovativi.

Laboratorio di Farmacologia Cellulare e Molecolare

Individuazione e studio di markers biologici coinvolti nel pathway del dolore acuto e cronico

Il dolore cronico rimane ancora una sfida importante della medicina moderna; è una condizione che affligge milioni di persone in tutto il mondo, ne limita la produttività e ne diminuisce la qualità della vita. Il dolore neuropatico, ad esempio, rappresenta una condizione dolorosa cronica derivante da una patologia o dalla lesione del sistema nervoso somato-sensoriale e costituisce una sofferenza globale che colpisce persone di ogni età, genere ed etnia con un impatto socioeconomico significativo.

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

collaterali ad essi associati (Doyle et al., 2011). Anche gli analgesici oppiacei, come la morfina, sono i pilastri della gestione del dolore acuto e cronico; la loro utilità clinica è spesso ostacolata dallo sviluppo della tolleranza analgesica e dall'ipersensibilità dolorosa, nota anche come iperalgesia indotta dalla morfina (Lauro et al. 2016). Lo sviluppo della tolleranza al trattamento con morfina richiede dosi crescenti per ottenere un equivalente sollievo dal dolore (Mao et al. 1995), causando, a lungo termine, effetti collaterali debilitanti come un over-sedazione, ridotta attività fisica, depressione respiratoria, stitichezza e persino dipendenza. Una migliore comprensione dei meccanismi molecolari e cellulari alla base della patogenesi della "malattia da stato di dolore" è cruciale per lo sviluppo di strategie terapeutiche per mantenere l'efficacia degli oppiacei durante il dosaggio cronico senza generare tolleranza o effetti collaterali inaccettabili. La problematica cruciale del dolore è quella di identificare a livello molecolare i pathway(s) che sostengono la segnalazione nocicettiva una volta che l'infiammazione ha esaurito il suo ruolo omeostatico fisiologico.

È noto che l'iperalgesia, che si manifesta in seguito a un danno tissutale o infiammazione, è il risultato di uno stato persistente iniziale di sensitizzazione delle fibre afferenti periferiche e di una successiva sensitizzazione spinale dovuta al rilascio dell'amminoacido eccitatorio glutammato (Watkins et al., 2001). Il meccanismo alla base di questo processo è molto complesso e vede il coinvolgimento di mediatori dell'infiammazione sia a livello periferico che centrale. Numerosi studi hanno dimostrato come sia il superossido (SO) che il perossinitrito (PN) siano fortemente coinvolti nello sviluppo e nel mantenimento dell'iperalgesia (Salvemini et al., 2006).

Come conseguenza della respirazione e dell'attività enzimatica, le cellule possono generare forme ridotte di O₂ chiamate generalmente "specie reattive dell'ossigeno" (ROS). La molecola gassosa ossido nitrico (NO) ed i suoi derivati, prodotti anch'essi all'interno della cellula, definiscono una sottoclasse di specie reattive denominate "specie reattive dell'azoto" (RNS) (Pryor et al., 2006). Quando la produzione in eccesso di ROS/RNS supera la capacità della cellula di eliminare queste specie si parla, rispettivamente, di stress "ossidativo" o "nitrosativo" (Pryor et al., 2006). L'aumento della produzione di ROS intracellulare è regolato non solo dalla fisiologica produzione da parte del metabolismo, ma anche da una molteplicità di fattori quali xenobioti, farmaci, citochine e fattori ambientali (radiazione ultravioletta solare, radiazione ionizzante e fumo di sigaretta) (Halliwell et al., 1999). I ROS, quando prodotti ad alte concentrazioni, causano una progressiva modificazione o degradazione a carico delle principali macromolecole biologiche (Halliwell et al., 1999) causando lo sviluppo di diverse patologie come malattie cardiovascolari, disordini neurodegenerativi, artrite reumatoide e malattie infiammatorie del polmone (Droge, 2002). Numerosi studi hanno dimostrato che l'inibizione farmacologica della sintesi di ossido nitrico (NO) e la rimozione farmacologica di SO e PN possono prevenire e revertire meccanismi associati con il dolore infiammatorio, dolore neuropatico e stati di tolleranza indotta dalla morfina (Muscoli C. et al, 2004, 2007; Doyle T. et al 2010).Considerando tutti questi dati, sembra che lo stress ossidativo sia in grado di avviare il processo ed è anche in grado di far rispettare lo stato del dolore attraverso modifiche post-traduzionali come la nitrificazione, la carbonilazione, l'acetilazione, creando un circolo vizioso.

Nella pratica clinica, il dolore cronico è un importante problema di salute che colpisce circa un sesto della popolazione mondiale. La maggior parte degli studi sul dolore sono centrati sugli esseri umani. Il più grande limite di questo approccio è che questi studi mirano principalmente a caratterizzare gli stati del dolore e, solo una piccola percentuale verifica direttamente i meccanismi biochimici o patofisiologici del dolore.

Lo scopo di questa ricerca è quello di identificare i meccanismi molecolari coinvolti nel mantenimento e nell'amplificazione del dolore cronico anche dopo che l'infiammazione ha esaurito il suo ruolo omeostatico.

Recentemente è stato attribuito alla disfunzione mitocondriale un ruolo fondamentale nella patogenesi del dolore cronico (Schwartz et al., 2008). In seguito a una prolungata esposizione a stress biochimici, l'over-produzione di ROS supera la capacità d'azione dei sistemi antiossidanti, causando un eccesso di accumulo di superossido, perossido d'idrogeno e radicale idrossile. L'aumentata produzione di ROS altera il genoma mitocondriale e il proteoma attraverso una serie di

meccanismi quali la produzione dei prodotti della perossidazione lipidica (malonildialdeide e 4-idrossinonenale), che si accumulano in quantità patologiche vicino alle membrane cellulari ricche di lipidi (Roede et al. 2010). Uno studio recente ha dimostrato che circa il 20% delle proteine mitocondriali sono acetilate, identificando la sirtuina 3 (SIRT3) come enzima chiave nella regolazione del proteoma mitocondriale.

I ricercatori hanno quindi ipotizzato che la modificazione post-traduzionale delle proteine cellulari chiave (come ad esempio SIRT3, MnSOD) è un importante pathway utilizzato dai radicali liberi per mediare lo sviluppo e il mantenimento del dolore di diversa eziologia. Si intende ottenere una dimostrazione del coinvolgimento di proteine target cellulari (quali le sirtuine) nel dolore cronico utilizzando agenti farmacologici consolidati e innovativi (antiossidanti) per alleviare lo stress ossidativo correlato alla produzione di ROS.

Inoltre, è noto come la terapia con gli oppiacei è al centro di un lungo dibattito a causa del loro duplice ruolo nell'alleviare il dolore cronico e nello stesso tempo indurre tolleranza e dipendenza. Il trattamento con oppioidi per il dolore non oncologico non ha una standardizzazione a causa della mancanza di dati statistici sull'efficacia a lungo termine e sulla giusta dose di utilizzo dei farmaci. Non è chiaro se diverse formulazioni possano portare a effetti diversi, né se l'obiettivo principale dovrebbe essere quello di raggiungere il controllo del dolore o meglio recuperare le capacità funzionali.

Recentemente è stato osservato come un'eccessiva risposta infiammatoria svolga un ruolo chiave nella patofisiologia del dolore cronico e diversi oppioidi o la diversa somministrazione di oppioidi mostra vari effetti sul sistema immunitario come la stimolazione immunitaria o l'immunosoppressione, o entrambi. Questa evidenza permette di studiare un approccio innovativo per controllare lo sviluppo e la progressione della malattia (Morgan et al. 2011). Al giorno d'oggi nessuno ha studiato se: l'uso di farmaci analgesici oppioidi genera un fattore protettivo o peggiora le condizioni del paziente in base alla loro azione immunosoppressiva; se per ottenere un'azione protettiva, che si esplicita attraverso l'interazione con il sistema immunitario, sono necessari regimi di dosaggio diversi da quelli che consentono una semplice gestione del dolore; se esiste una tempistica standardizzata per il trattamento da somministrare, al fine di evitare lo sviluppo della cronicizzazione patologica indipendente dall'operazione chirurgica effettuata.

Le profonde interazioni tra sistema nocicettivo-immunitario e oppioide e la presenza di un recettore oppioide periferico, estratto dal sangue, su cui i sistemi esprimono le loro interazioni, apre nuovi scenari sulla possibilità di avere un trattamento guidato da marker biologici, che definiscono uno standard terapeutico.

Pertanto, i recettori per gli oppioidi sulle cellule periferiche del sangue potrebbero essere considerati dei marcatori biologici, portando a innovative diagnosi e trattamenti del dolore cronico. L'espressione e la funzione dell'analisi dei recettori in cellule del sangue potrebbero essere rilevanti per la selezione dei farmaci e l'impostazione della dose standard personalizzata.

Pertanto, attraverso un approccio genetico ed epigenetico, sarà possibile rilevare dei marcatori biologici utili a prevedere la risposta agli oppioidi. Questo potrebbe essere utile per ottenere il trattamento più sicuro ed efficace, riducendo al minimo gli effetti collaterali, come l'OIH e la tolleranza.

Nel corso del progetto verranno perseguiti i seguenti obiettivi:

- Trovare nuovi target biologici per approcci terapeutici innovativi per la diagnosi e la cura del dolore di diversa eziologia.
- Coinvolgimento di proteine target cellulari nel dolore cronico utilizzando agenti farmacologici consolidati e innovativi (antiossidanti) per alleviare lo stress ossidativo correlato alla produzione di ROS.
- Analisi qualitativa e quantitativa dei recettori oppioidi sulla membrana dei linfociti di sangue periferico per valutare se possono essere identificati come marker idonei per lo sviluppo del dolore cronico.

I risultati attesi dallo studio sosterrebbero l'ipotesi secondo la quale la nitratura di determinate proteine, e la carbonilazione delle sirtuine coinvolte nella regolazione dell'omeostasi della

trasmissione del segnale, sono degli elementi chiave dell'azione citotossica dei radicali liberi, durante lo sviluppo ed il mantenimento del dolore sia acuto che cronico.

Lo sviluppo di un nuovo schema terapeutico permetterebbe l'inibizione della modulazione post-traduzionale causata dai radicali liberi, tramite la regolazione della trasmissione dei segnali intra- e intercellulari, senza bloccare, però, l'azione dei neurotrasmettitori coinvolti.

Risultati significativi dell'approccio tecnologico e dell'ipotesi possono identificare nuovi pathways, che possono essere sfruttati, per esempio, nel trattamento con gli oppioidi o per gestire il dolore di varia natura. L'ampia implicazione delle scoperte suggerisce che, la nitratura proteica dei residui tirosinici e la carbonilazione, sono dei possibili bersagli per la manipolazione terapeutica.

Inoltre, studiare i recettori oppioidi presenti sulla membrana del tessuto periferico è utile a valutarne la loro possibile funzione di biomarcatori al fine di identificare una terapia personalizzata in pazienti che soffrono di dolore di diversa eziologia.

Questo progetto si focalizza sugli aspetti più innovativi della ricerca sul dolore, la cui integrazione è importante per progredire nel campo della medicina personalizzata. L'approccio epigenetico e immunologico sembra essere promettente per un approccio terapeutico innovativo e più personalizzato che implica la possibilità di prescrivere il farmaco più adatto per i pazienti dolorosi, evitando perdite di tempo e possibili effetti collaterali nel trovare il farmaco giusto. Il progetto di ricerca è rivolto all'identificazione di nuovi farmaci e/o markers biologici al fine di trovare una nuova terapia che potrebbe essere più efficace e sicura per il paziente. La scoperta di questo tipo di farmaco è fondamentale nella terapia del dolore in cui la complessità della patofisiologia della malattia richiede un nuovo approccio terapeutico per trattare la malattia, migliorare la funzione del paziente e le sue capacità lavorative. In questo modo si contribuisce a trovare nuovi approcci terapeutici finalizzati al miglioramento della qualità della vita e non solo per il trattamento di una specifica malattia.

Gli animali sono sottoposti a somministrazione di carragenina/oxaliplatino, rispettivamente per via intraplantare o intraperitoneale in presenza o assenza di diversi antiossidanti di origine naturale. Per dimostrare il coinvolgimento delle sirtuine durante lo stato di dolore, gli animali vengono sottoposti anche alla legatura del nervo sciatico (CCI) utilizzando il modello ben noto di Bennett (Bennett G.J. & Xie Y.K. 1988) in presenza o meno di antiossidanti.

L'iperalgia termica viene valutata misurando il tempo di latenza del ritiro della zampa a uno stimolo termico attraverso l'apparato di Hargreaves (Planta test), l'allodinia e l'iperalgia meccanica vengono misurate rispettivamente attraverso i filamenti di Von Frey e il Randall-Selitto.

Vengono effettuati saggi enzimatici funzionali per la valutazione della formazione dei prodotti della perossidazione lipidica, come la malondialdeide (MDA), e a questi, saranno associati ad analisi biochimiche per la misurazione dell'attività di enzimi target e per l'identificazione di biomarkers periferici. Inoltre, viene esaminata la correlazione temporale tra la produzione dei prodotti della perossidazione lipidica, quali la malondialdeide (MDA), la nitratura e disattivazione di proteine target, come MnSOD, GLT1, GS.

Attraverso analisi comportamentali si è osservato come lo sviluppo dell'iperalgia termica (misurata attraverso il plantar test), dell'iperalgia meccanica (misurata attraverso lo strumento Randall-Selitto) e dell'allodinia (misurata attraverso i filamenti di Von Frey), in modelli animali di dolore neuropatico, indotto dalla legatura del nervo sciatico (CCI, Chronic Constriction Injury) in ratti, ha portato ad un aumento dei livelli della carbonilazione di SIRT3, nitratura e inattivazione della MnSOD (valutate per mezzo di western blotting), accompagnati da un aumento dei livelli di 4-HNE, portando ad una riduzione dell'attività enzimatica di SIRT3 (valutata per mezzo di saggi enzimatici). La somministrazione di antiossidanti (pregabalin e frazione polifenolica del bergamotto) ha ridotto significativamente i livelli di nitratura e carbonilazione di tali proteine, ripristinandone, in maniera dose dipendente, l'attività enzimatica e, di conseguenza, l'iperalgia e l'allodinia indotta dal dolore neuropatico.

Inoltre, si è osservato come anche la somministrazione intraplantare di carragenina in ratti, attraverso lo sviluppo di iperalgia termica (misurata tramite plantar test) e infiammazione (evidenziata dalla formazione di edema nella zampa, misurata tramite Pletismometro), porta ad una

modificazione post-traduzionale di SIRT3 e quindi ad una sua inattività, accompagnata da modificazioni post-traduzionali e quindi ad una inattivazione della MnSOD. Si è inoltre osservato come la somministrazione di antiossidanti di origine naturale come il resveratrolo e/o di antiossidanti di origine sintetica come MnTBAP, sono stati in grado di bloccare questi eventi.

Ci si aspetta di poter effettuare:

- Valutazione il ruolo della sirtuina in un modello di dolore di neuropatia periferica indotta da un chemioterapico
- Analisi qualitativa e quantitativa dei recettori oppioidi sulla membrana dei linfociti di sangue periferico per valutare se possono essere identificati come marker idonei per lo sviluppo del dolore cronico.

Laboratorio di Immunopatologia Sinaptica

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

La Sclerosi Multipla (SM) è una malattia neurodegenerativa demielinizzante del sistema nervoso centrale (SNC), che causa disabilità neurologica più comunemente nel giovane adulto. Per molti anni è stata considerata una malattia infiammatoria della sostanza bianca, tuttavia un numero crescente di studi ha dimostrato anche un coinvolgimento della sostanza grigia. A tal proposito, grazie all'utilizzo di un valido modello animale sperimentale di SM, l'Encefalomyelite autoimmune sperimentale (Experimental Autoimmune Encephalomyelitis, EAE), è stato dimostrato che le citochine pro-infiammatorie inducono danno tissutale e deficit neurologici alterando la trasmissione sinaptica, indipendentemente dal danno alla sostanza bianca. In particolare, è stato riscontrato una sinaptopatia o danno/disfunzione nel compartimento sinaptico a carico del sistema eccitatorio ed inibitorio in diverse aree del cervello EAE. Il prolungato aumento di glutammato nel SNC, accompagnato da un abbassamento del tono inibitorio mediato da GABA, costituiscono un alto rischio di danno eccitotossico, probabile causa della patologia neuronale nella SM (Mandolesi et al., 2015; Henstridge et al., 2016).

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

Tale ricerca viene condotta utilizzando un approccio multidisciplinare che comprende l'utilizzo di tecniche di elettrofisiologia, biologia molecolare, biochimica, immunoistochimica, e di analisi comportamentale. Inoltre si utilizzano modelli animali di SM, quali l'encefalomyelite autoimmune sperimentale (EAE) e il modello Cuprizone, e modelli chimerici ex vivo di SM.

Gli obiettivi della ricerca sono i seguenti:

Obiettivo 1: approfondire il ruolo di fattori solubili rilasciati dalle cellule immunitarie (linfociti, microglia), quali citochine, fattori neurotrofici e microRNA, nella sinaptopatia infiammatoria e nella plasticità sinaptica in modelli murini di SM e tramite i modelli chimerici ex vivo di SM. L'ipotesi del progetto è che tali fattori solubili, alterati nel cervello di topi EAE e/o circolanti nel liquido cerebrospinale dei pazienti SM, potrebbero svolgere un ruolo diretto nella comunicazione tra sistema immunitario e sistema nervoso, e quindi avere un ruolo determinante nei meccanismi sinaptotossici e neurodegenerativi.

Obiettivo 2: la sinaptopatia infiammatoria è attualmente oggetto di studio per poter spiegare l'effetto neuroprotettivo di alcuni farmaci immunomodulanti/immunosoppressori, che passando la BBB, potrebbero svolgere un ruolo diretto nel SNC. Obiettivo della ricerca è di verificare se assi

regolatori (es. IL1 β -miR142-3p-GLAST) coinvolti nella sinaptopatia infiammatoria della SM/EAE, costituiscano un bersaglio molecolare per le terapie farmacologiche attualmente in uso o per quelle future.

Obiettivo 3: La sinaptopatia infiammatoria e gli assi regolatori coinvolti sono oggetto di studio nei modelli murini di SM per verificare un loro potenziale coinvolgimento a livello comportamentale, andando a studiare deficit cognitivi o comportamenti simil ansiosi e –depressivi. Circa metà dei pazienti affetti da SM soffre di disturbi d’ansia e depressione, ma scarsa attenzione è stata rivolta a tali disturbi probabilmente a causa della limitata conoscenza dei meccanismi fisiopatologici che le determinano.

Obiettivo 4: l’esercizio fisico è diventato una parte consolidata di molti programmi di riabilitazione SM. Studi clinici e preclinici indicano con forza l’effetto benefico delle terapie riabilitative per i pazienti con SM. Tuttavia, i meccanismi cellulari e molecolari alla base dell’effetto benefico dell’attività fisica nei pazienti affetti da SM non è stato ancora del tutto esplorato. Tramite l’utilizzo dei modelli murini di SM si studia l’effetto benefico dell’esercizio sulla sinaptopatia e processi di demielinizzazione in varie aree cerebrali.

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

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

Materiali e metodi previsti nel progetto di ricerca:

A. INDUZIONE DELL’EAE CRONICO PROGRESSIVO L’induzione dell’EAE cronico-progressivo è condotta su topi femmine C57BL/6) di 7-9 settimane. I topi vengono anestetizzati ed **IMMUNIZZATI** attraverso somministrazione sottocutanea della glicoproteina maggiore oligodendrocitaria (MOG)_{35–55} (per dettagli vedi Mandolesi et al., 2017).

B. MODELLO CUPRIZONE: Topi C57BL/6 di 8 settimane vengono trattati con mangime standard arricchito con cuprizone allo 0,2% (chelante del rame) oppure con mangime standard (gruppo placebo) ad libitum o per tre-sei settimane.

C. MODELLO CHIMERICO EX VIVO DI SM: Linfociti T isolati da pazienti SM o liquido cerebrospinale prelevato per motivi diagnostici da pazienti SM viene incubato per circa due ore su fettine di cervello di topo per studiare l’effetto elettrofisiologico dei mediatori solubili rilasciati e potenzialmente sinaptotossici (Mandolesi et al., 2017).

D. TRATTAMENTI IN VIVO Impianti di minipompe osmotiche Alzet a lento rilascio (fino a 4 settimane) o cannule per iniezioni acute vengono applicate su topi EAE e controlli per indurre il rilascio intracerebroventricolare di sostanze di interesse (Mandolesi et al., 2017). La modulazione del miRNA è eventualmente effettuata anche tramite vettori lenitivrali che vengono iniettati in vivo nella regione di interesse.

E. ELETTROFISIOLOGIA: RegISTRAZIONI elettrofisiologiche vengono effettuate su fettine di cervello di topo (Cervelletto, striato, ippocampo) o colture neuronali/organotipiche, tramite tecniche di patch clamp e fieldpotential per studiare le correnti spontanee GABA-ergiche, glutammatergiche e per studiare fenomeni di plasticità sinaptica (LTP, LTD) (Mandolesi et al., 2017; Gentile et al., 2017; Nisticò et al., 2013).

F. IMMUNOISTOCHEMICA ED IBRIDAZIONE IN SITU. Fettine di cervello derivate da tessuto fissato o fresco vengono processate per effettuare esperimenti di immunofluorescenza (target specifici, marker infiammatori) o in situ (microRNA). Imaging confocale o tramite brightfield viene eseguito per acquisizione ed analisi delle immagini (Mandolesi et al. 2013, 2017).

G. BIOLOGIA MOLECOLARE: L’analisi quantitativa di micro-RNA circolanti in fluidi biologici o presenti nel tessuto nervoso o immunitario viene eseguita tramite la tecnica della Real TIME PCR (RT-PCR). Analogamente, si studia l’espressione dell’mRNA di marcatori di interesse nel tessuto nervoso di topi EAE trattati e non trattati tramite la tecnica della RT-PCR (Mandolesi et al., 2017).

H. BIOCHIMICA: La quantificazione di molecole di interesse nel tessuto nervoso viene eseguita tramite la tecnica del WESTERN BLOT o ELISA. La quantificazione di molecole solubili nel

liquido cerebrospinale di pazienti o rilasciati da cellule del sistema immunitario in coltura viene eseguita tramite LUMINEX o ELISA assay.

I. ISOLAMENTO LINFOCITI: Linfociti T e B verranno isolati da milze di topi EAE o dal sangue di pazienti SM per effettuare studi di elettrofisiologia su fettine di cervello di topo (Mandolesi et al., 2013; 2017)

J. TEST COMPORTAMENTALI ED ESERCIZIO FISICO: Open Field Test (OFT); Elevated Plus Maze (EPM); Light-Dark Test (LDT); Murble Burying; Tail Suspension Test (TST); Forced Swim Test (FST). Nest Building test; Rotarod performance test; GripStrenght Test. Per stimolare l'esercizio, i topi vengono stabulati in delle gabbie speciali arricchite con una Running Wheel a cui gli animali avranno libero accesso. Vengono valutate quotidianamente le prestazioni motorie mediante un conta giri magnetico associato alle ruote (Haji et al., 2015; Gentile et al., 2017).

Nel corso del 2020 sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Obiettivo 1:

Per approfondire il ruolo della neuro infiammazione nel danno sinaptico che caratterizza la SM è stato fatto uno studio sistematico dei principali lavori scientifici che valutano le alterazioni sinaptiche nell'SM e nell'EAE ed i come queste alterazioni possano essere influenzate da uno specifico stato infiammatorio (Stampanoni et al., 2020). Nell'ambito della correlazione tra neuroinfiammazione, danno sinaptico e neurodegenerazione è stato poi esaminato nello specifico il ruolo delle citochine pro-infiammatorie IL-1beta (Musella et al., 2020) e TNF (Fresegna et al., 2020), ovvero le principali citochine coinvolte nella patogenesi della SM. Inoltre, un'analisi dei dati presenti in letteratura ha messo in evidenza come negli ultimi anni si stia consolidando il ruolo delle vescicole extracellulari (EVs) nella fisiopatologia della SM. Esse rappresentano infatti una nuova e alternativa forma di comunicazione intercellulare e sembrano svolgere un'azione chiave nei processi patologici della SM, che comprendono le alterazioni della funzionalità neuronale e il loro ruolo nel veicolare segnali pro-infiammatori e microRNA (Dolcetti et al., 2020).

Sono attualmente in corso due studi in collaborazione con il prof. Centonze, volti ad indagare la relazione tra microRNA e la patogenesi della SM. Il primo studio riguarda il ruolo del miR-142-3p nella sinaptopatia infiammatoria a livello dello striato, un'area cerebrale particolarmente colpita nel modello EAE. In lavori precedenti i ricercatori hanno osservato che in questa regione del cervello la citochina pro-infiammatoria TNF è molto elevata in corso di EAE ed è direttamente coinvolta nell'aumento delle correnti glutammatergiche sinaptotossiche. Poichè è stato osservato che i livelli di miR-142-3p aumentano nello striato durante la fase acuta della malattia ed il miR-142-3p è regolato dalle citochine pro-infiammatorie, i ricercatori si sono chiesti se il TNF possa indurre le suddette alterazioni glutammatergiche tramite un' up-regolazione dei livelli di miR-142-3p. Al momento, tramite tecniche di biologia molecolare ed elettrofisiologiche, si sta indagando il coinvolgimento di un potenziale nuovo asse regolatorio – TNF-miR142-3p- coinvolto nella sinaptopatia infiammatoria striatale analogamente quanto osservato nel cervelletto di topi EAE.

Il secondo studio è volto ad indagare il microRNA let-7b-5p come nuovo potenziale biomarcatore rilevabile nei fluidi biologici dei pazienti SM. Nello specifico è stato osservato che in un'ampia corte di pazienti i livelli di let-7b-5p nel liquor (CSF) correlano con quelli di altri microRNA già associati alla SM e con una serie di fattori proteici legati all'infiammazione. Inoltre è stato dimostrato che i livelli di let-7b-5p nel CSF sono significativamente ridotti nei pazienti con SM progressiva rispetto ai pazienti con SM recidivante-remittente ed correlano negativamente con i processi caratteristici delle due fasi della malattia: nella fase non progressiva let-7b-5p è inversamente associato all'infiammazione (sia centrale che periferica), mentre nella SM progressiva i livelli di let-7b-5p correlano negativamente con la disabilità clinica valutata all'esordio della malattia e dopo un periodo di follow-up. Nel complesso, attraverso un approccio multidisciplinare e l'uso di analisi statistiche multifattoriali, i risultati mostrano una nuova possibile azione pleiotropica di let-7b-5p nella SM e identificano un suo potenziale uso come biomarcatore.

Obiettivo 2:

Per quanto riguarda lo studio dell'effetto neuroprotettivo dei farmaci attualmente in uso nella SM, è stato testato nel modello EAE la capacità del dimetilfumarato (farmaco di prima linea) e

dell'ozanimod (farmaco in sperimentazione) di interferire con le alterazioni sinaptiche osservate nel cervelletto e striato di topi E. In collaborazione con il prof. Centonze sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Tramite esperimenti di elettrofisiologia abbiamo osservato un ruolo benefico del DMF mediato da un effetto inibitorio sul miR-142-3p, micro-RNA direttamente coinvolto nella sinaptopatia nel modello EAE. In seguito a trattamento in vivo ed ex-vivo con DMF i ricercatori hanno osservato una riduzione delle correnti ecitotossiche glutammatergiche a livello del cervelletto di topi EAE senza interferire con i livelli di infiammazione o con la principale via di segnalazione intracellulare NfR2 tipicamente attivata da DMF. Questi risultati hanno permesso di identificare un nuovo pathway, legato all'asse miR-142-3p-GLAST, attraverso il quale il DMF può svolgere un ruolo neuro protettivo. I dati preclinici sono stati poi validati in uno studio clinico su una coorte di 151 pazienti con SM. In questi pazienti è stata identificata una correlazione positiva tra i livelli liquorali di miR-142-3p, la progressione clinica della malattia, i livelli di l'IL-1 β e l'eccitabilità sinaptica misurata tramite stimolazione magnetica transcranica. È stato inoltre dimostrato che nei pazienti con livelli di "miR-142-3p bassi" il trattamento farmacologico con dimetilfumarato (DMF) mostrava un'efficacia terapeutica maggiore rispetto a quella riscontrata nei pazienti con livelli di "miR-142-3p alti". Tali risultati sono stati supportati da studi effettuati su topi EAE eterozigoti miR-142 (miR-142-HE) e trattati con DMF. Questo studio dimostra quindi che il miR-142-3p potrebbe essere un potenziale nuovo marker prognostico negativo nella SM e uno strumento promettente per identificare terapie personalizzate (De Vito et al., in revisione).

Per quanto riguarda Ozanimod, farmaco appartenente alla famiglia degli agonisti dei recettori per la sfingosina 1 fosfato (S1PR1 e S1PR5), i ricercatori hanno osservato un effetto benefico del trattamento ex-vivo a livello delle correnti glutammatergiche corticostriatali (non a livello cerebellare) nel modello EAE, analogamente a quanto osservato in seguito a trattamento in vivo con un agonista specifico S1P1. Il recupero funzionale delle correnti glutammatergiche da parte dell'Ozanimod è stato associato ad un effetto anti-infiammatorio diretto su microglia e cellule T con conseguente riduzione di TNF ed IL-1 β , le principali citochine proinfiammatorie coinvolte nella patologia SM/EAE (Musella et al., Cells 2020).

Infine sono stati indagati anche potenziali fattori circolanti nel CSF di pazienti con SM, in grado di predire l'efficacia del trattamento IFN β - considerando che la risposta al farmaco è ben diversa da paziente a paziente. Sono stati analizzati 116 pazienti (CIS e RR-MS) sottoposti a trattamento con IFN β per un anno. I ricercatori hanno osservato che livelli misurabili del fattore di crescita piastrinico (PDGF) e livelli non misurabili della proteina infiammatoria dei macrofagi 1 α (MIP-1 α) nel CSF alla diagnosi, sono in grado di predire l'assenza di tre fattori clinici - ovvero ricadute cliniche, attività radiologica e progressione della disabilità (absence of clinical relapses, radiological activity and disability progression – NEDA-3), ad un anno di distanza dalla terapia. Tali correlazioni non sono state osservate in due gruppi di pazienti trattati con copaxone e dimetilfumarato (Stampanoni- Bassi et al., Ther Adv Neurol Disord . 2020).

Obiettivo 3:

Da un'analisi dei dati presenti in letteratura i ricercatori del Laboratorio hanno messo in evidenza come nella SM la neuroinfiammazione e il danno sinaptico rappresentino non solo una probabile causa della neurodegenerazione, ma anche un fattore determinante nel promuovere i sintomi depressivi. Nei pazienti SM l'incidenza di disturbi d'ansia e depressione è nettamente più elevata rispetto a quella di altri disordini neurologici, suggerendo che questi disordini possano essere una conseguenza diretta del processo patogenetico stesso della malattia e in modo particolare della neuroinfiammazione. Tali disturbi dell'umore sono stati associati alla comparsa di disfunzioni sinaptiche in diverse aree cerebrali, indipendentemente dalla presenza di lesioni cerebrali e demielinizzazione, ma dipendenti dall'infiammazione. Questa evidenza suggerisce che una forte interazione tra il sistema immunitario e quello nervoso può avere un enorme impatto su diverse funzioni neurologiche (Bruno et al., 2020). In futuro si dovrebbe maggiormente tenere in considerazione l'impatto di approcci terapeutici farmacologici e non farmacologici - come la neuro riabilitazione - anche sui sintomi ansiosi/depressivi tipici di questa patologia.

Riguardo allo studio dello stato ansioso-depressivo nei modelli murini di SM in associazione ad alterazioni del sistema immunitario e del sistema endocannabinoide (ECS) con conseguente effetto sulla funzionalità della circuiteria striatale, è in programma l'esecuzione di esperimenti in vivo ed ex vivo per testare farmaci i) anti-depressivi con effetto anti-infiammatorio o ii) in grado di interferire con il sistema ECS. Nel caso i) si utilizzano inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI) e degli inibitori dei recettori della serotonina; nel caso ii) si utilizzano sostanze in grado di bloccare l'inibitore della lipasi monoacilglicerolo (MAGL), l'enzima idrolitico responsabile dell'inattivazione della 2-AG. L'obiettivo è quello di studiare il potenziale effetto benefico di tali trattamenti non solo a livello comportamentale ma anche a livello di disabilità motoria e sinaptopatia infiammatoria.

Obiettivo 4:

Nell'ambito dello studio sul ruolo benefico dell'esercizio fisico nei modelli animali SM, l'attenzione è stata focalizzata sul modello EAE con l'obiettivo di studiare l'effetto dell'esercizio fisico sull'asse immuno-sinaptico. I dati ottenuti mostrano che l'esercizio fisico (runningwheel) è in grado di correggere i deficit motori e cognitivi associati all'EAE e di ripristinare una corretta plasticità sinaptica nell'ippocampo dei topi EAE. Questi dati si associano ad un significativo effetto antiinfiammatorio centrale, in particolare con attenuazione della microglia, e l'aumentata sopravvivenza degli interneuroni GABAergici parvalbumina positivi. Inoltre, i ricercatori hanno dimostrato che l'esercizio attenua l'ecitotossicità glutammatergica, determinata da un aumentato rilascio di glutammato nel nucleo striato. Dati preliminari indicano inoltre un miglioramento dell'immunometabolismo dei linfociti isolati dalla milza dei topi-esercizio (Gentile et al., submitted).

Attualmente è in corso un ulteriore studio per poter indagare l'effetto benefico dell'esercizio fisico sulla sinaptotossicità mediata dai linfociti isolati dalle milze dei topi EAE. Esperimenti di elettrofisiologia permetteranno di rivelare se i linfociti dei topi EAE che hanno effettuato esercizio fisico non inducono le stesse alterazioni della trasmissione sinaptica glutammatergica tipicamente indotte dai linfociti di topi EAE sedentari quando incubate su fettine di topi sano.

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

Laboratorio di Neurofisiologia Sperimentale

Analisi morfologica ed elettrofisiologica degli effetti della neuroinfiammazione nei processi neurodegenerativi, in presenza di α -sinucleina oligomerica e protofibrillare su colture neuronali animali e ciNs umane

La Malattia di Parkinson (MP) è una malattia neurodegenerativa che coinvolge il sistema nervoso centrale, caratterizzata da deficit cognitivi e motori come: bradicinesia, rigidità e tremore a riposo. Le caratteristiche neuropatologiche sono la progressiva perdita di neuroni dopaminergici nella SNc e la presenza di CL inclusioni multiproteiche essenzialmente composti da aggregati di α -syn (Spillantini et al., Nature 1997). La proteina α -syn è implicata nella regolazione delle attività sinaptiche a livello delle spine dendritiche. Nelle fasi iniziali della malattia, la proteina α -syn perde la sua funzione originaria ed inizia a formare oligomeri di dimensioni via via crescenti, sino a formare protofibrille e fibrille, costituendo così i CL (Durante et al. Brain 2019). Durante il processo di oligomerizzazione iniziano a manifestarsi, come dimostrato in recenti studi (Tozzi et al.

2016), i primi danni neuronali, e la comparsa di deficit cognitivi e motori ad essi dovuti. Nelle aree coinvolte in questi processi di neurodegenerazione è possibile osservare l'attivazione del sistema neuroinfiammatorio, che potrebbe essere la causa stessa della progressione della MP.

Con l'intento di comprendere come i processi di neuroinfiammazione siano coinvolti nella neurodegenerazione, in corso di MP, e come siano correlati ai danni osservati dalla presenza di α -syn oligomerica e protofibrillare, sono stati individuati alcuni modelli sperimentali che permettono di svolgere un'indagine ad ampio spettro su questi meccanismi, partendo da modelli più semplici a più complessi: Neuron dopaminergici da cellule immortalizzate di ratto N27, neuron dopaminergici differenziati da cellule di neoblastoma denominate PC12, colture primarie di neuron piramidali ippocampali, per arrivare a studiare, in fine neuron ottenuti dalla transdifferenziazione di fibroblasti di pazienti affetti da MP (ciNs) (Hu W. et al. 2015). Queste diverse tipologie cellulari rappresentano, nel loro insieme, un modello funzionale della MP per le loro diverse caratteristiche specifiche. In particolar modo i dati raccolti dallo studio sulle ciNs saranno di fondamentale importanza, per l'individuazione di nuovi target di trattamento e lo sviluppo di nuove strategie farmacologiche personalizzate.

In questo studio si propone di comprendere a livello cellulare, mediante l'uso di diverse linee neuronali in coltura, i meccanismi molecolari, elettrofisiologici e morfologici alla base delle alterazioni causate dai processi di neuroinfiammazione in concomitanza con l'accumulo di α -syn e di altri agenti neurotossici, tipici della MP. Il progetto è diviso in due parti: uno studio su neuron dopaminergici in colture immortalizzate e colture primarie di topo; e uno studio mediante cellule transdifferenziate, ciNs, a partire da fibroblasti di pazienti.

Il progetto è organizzato in quattro studi specifici condotti su colture neuronali dopaminergiche immortalizzate e primarie:

1. Studio delle alterazioni morfologiche e sinaptiche indotte dall'applicazione in vitro di α -syn nelle diverse forme di aggregazione, monomerica, oligomerica e protofibrillare;
2. Studi elettrofisiologici e morfologici dei processi neuroinfiammatori indotti dall'applicazione in vitro di α -syn;
3. Studi degli effetti delle interleuchine proinfiammatorie sulle caratteristiche intrinseche di membrana, e attività sinaptica neuronale, da sole o in presenza di α -syn;
4. Studi su agenti neuroprotettivi.

Sui neuron ciNs:

1. Caratterizzazione elettrofisiologica e morfologica di neuron ciNS derivanti da pazienti MP

Nel corso del 2020 i ricercatori hanno proseguito nello sviluppo di neuron dopaminergici, ottenuti per differenziamento di cellule di feocromocitoma di ratto (PC12) mantenute in un mezzo di coltura ricco di DMEM/F12 (Gibco) integrato con 10% di siero bovino fetale (Gibco), 100 U/mL di penicillina streptomina (Gibco). Le cellule immortalizzate sono state sottoposte a passaggio ogni due giorni per mantenere la loro crescita esponenziale. Le cellule sono state seminate su piastre da 24 pozzetti rivestiti di collagene Rat-Tail (Corning) e mantenute in un incubatore a 37°C e 5% CO₂. Al quarto giorno dalla semina, è stata eseguita la differenziazione delle cellule con l'aggiunta, nel mezzo di coltura, del fattore di crescita (Nerve Growth Factor, NGF, 50 ng/mL; Gibco). L'inizio del trattamento con NGF è stato definito DIV 0 e al DIV 12 le cellule sono state considerate a tutti gli effetti neuron maturi, consentendo l'avvio di esperimenti elettrofisiologici e morfologici.

Negli studi i ricercatori sono riusciti a caratterizzare e registrare le principali proprietà di membrana tipiche dei neuron dopaminergici e ad osservare una risposta glutammatergica indotta. Con tecniche morfologiche è stata già valutata l'attivazione della microglia, in seguito ad incubazione con α -syn.

Negli studi su colture cellulari dopaminergiche, sono stati effettuati studi sulle caratteristiche intrinseche di membrana, e nelle aspettative future ci si attende che l'incubazione con le diverse forme di α -syn e di interleuchine proinfiammatorie possano causare profonde alterazioni dell'attività sinaptica e delle attività intrinseche di membrana, nonché la riduzione del rilascio di Dopamina. Ad oggisi stanno conducendo esperimenti per valutare la risposta infiammatoria, di per

sé, dovuta all'incubazione di α -syn su neuroni dopaminergici in coltura attraverso tecniche morfologiche.

Per trovare un modello sperimentale più idoneo allo studio della plasticità neuronale in corso di MP e per individuare i possibili effetti sinergici di neuroinfiammazione e danno da α -syn, è stato scelto di sviluppare culture di neuroni ippocampali, ottenute da embrioni (E14) di topo. Su questo modello sperimentale i ricercatori sono ancora in fase di messa appunto, in quanto i campioni vengono prelevati in uno stabulario convenzionato, successivamente trasportati in laboratorio per completare la semina e la maturazione della coltura.

Ad oggi è stata realizzata l'attività propedeutica necessaria ad ottenere i cervelli embrionali. In prima fase sono state allestite colonie di topo individuando coppie di riproduttori. Successivamente, al 14 giorno di gestazione sono stati prelevati gli embrioni, dai quali è stato estratto l'ippocampo. Per risolvere il problema dello spostamento delle colture da una struttura ad un'altra è stata testata una soluzione di trasporto (Milteni), valutando la vitalità dei neuroni raccolti.

In collaborazione con il laboratorio di Neurobiologia Molecolare e Cellulare, si stanno caratterizzando morfologicamente i neuroni ottenuti per transdifferenziamento diretto da fibroblasti di donatori MP. Ci si aspetta una prossima caratterizzazione elettrofisiologica che completi i dati, per poter poi iniziare un'attività sperimentale tesa allo studio della MP, nel tentativo di individuare nuovi target farmacologici nel trattamento di questa malattia.

In collaborazione con l'IRCCS Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli, è stata svolta una caratterizzazione morfologica dei cervelli di ratto iniettati con protofibrille di α -syn, comparati con animali iniettati con PBS. I cervelli forniti dal gruppo del Prof. Calabresi sono stati tagliati ed incubati con anticorpi specifici per α -syn per individuare la diffusione nelle diverse aree cerebrali di questa proteina, partendo dal sito di iniezione, allo scopo di comprendere meglio i processi di neurodegenerazione legati al misfolding e all'aggregazione prima e allo spreading poi dell' α -syn.

Nel corso del 2020 sono state svolte le seguenti attività:

- Messa appunto delle culture cellulari di PC12 e differenziamento in neuroni maturi (fig.1);
- Prima caratterizzazione delle proprietà intrinseche di membrana di questi neuroni, mediante registrazioni di Patch-clamp whole-cell (fig.1- 2);
- Messa a punto delle colture di neuroni ippocampali;
- Analisi morfologica dei neuroni ciNs da pazienti MP coltivate in chip;
- Studi morfologici sui danni da α -syn su fettine di cervello di ratto (fig.3).

Fig 1. PC12 differenziate

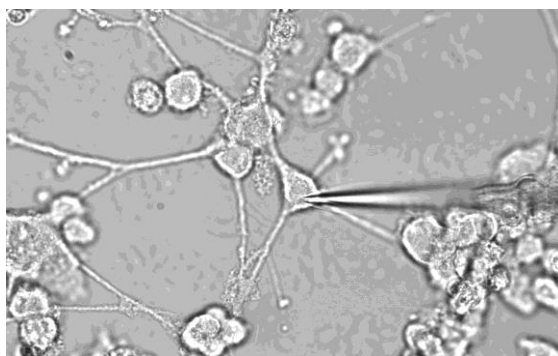


Fig.2. Firing di PC12 differenziato in neurone

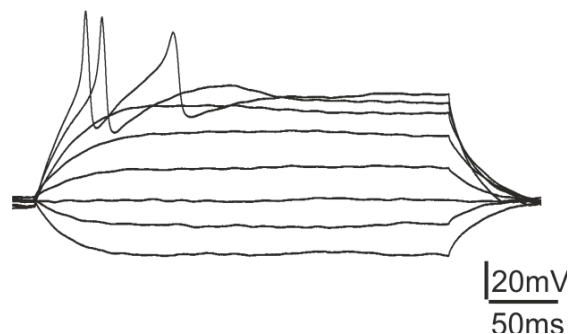
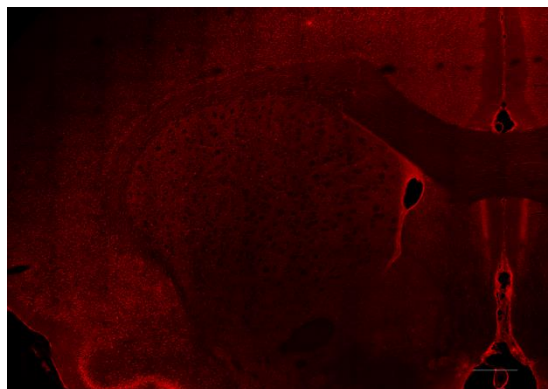


Fig. 3. Sezione coronale della regione corticostriatale di cervello di ratto lesionato con iniezione di protofibrille di α -syn, marcata con anticorpo specifico.



I progetti di ricerca sinora descritti verranno portati avanti e sviluppati anche nel corso del 2021, durante il quale ci si attende che .

Per gli esperimenti programmati per il 2021 ci attendiamo che l'incubazione, con le diverse forme di α - syn e di interleuchine pro infiammatorie, possano causare profonde alterazioni dell'attività sinaptica e delle attività intrinseche di membrana, nonché la riduzione del rilascio di Dopamina.

Laboratorio di Elettrofisiologia

Studio delle alterazioni GABAergiche nelle sindromi del neuro sviluppo

I processi patologici che interferiscono con il neurosviluppo normale, come mutazioni genetiche o alterazioni istologiche, hanno la peculiarità di non determinare semplicemente una compromissione acuta dello “stato di salute” del paziente, ma esercitano una forte influenza sulle potenzialità cognitive nel lungo termine (Morel et al., 2018; Nickels et al., 2016). Inoltre, la terapia farmacologica allo stato attuale delle conoscenze non costituisce sempre un metodo di intervento efficace (van Karnebeek et al., 2016).

La compromissione dello “stato cognitivo” del paziente, insieme alla frequente predisposizione a generare crisi epilettiche tipica delle patologie del neurosviluppo (Rakhade and Jensen, 2009), costituiscono grandi fattori peggiorativi per la qualità di vita dei pazienti, che riescono a trarre benefici quasi esclusivamente da trattamenti “sintomatici” che non risolvono la causa della patologia.

Quanto descritto rende ragione della molta attenzione dedicata al ruolo del recettore GABA_A in queste patologie poiché esso, oltre ad essere il principale responsabile della neurotrasmissione inibitoria nel cervello maturo è anche un fattore chiave per molteplici processi fisiologici rilevanti ai fini del neurosviluppo (Ben Ari, 2012). Di conseguenza, una sua disfunzione potrebbe contribuire sia a spiegare le disfunzioni cognitive dei pazienti che la loro predisposizione all' epilessia, con il vantaggio di poter rappresentare anche un utile target terapeutico (Braat e Kooy, 2015.)

Recenti ricerche suggeriscono che intervenendo su “meccanismi chiave” del neurosviluppo prima del consolidamento della neuropatologia, si possa arrivare ad un approccio terapeutico “*disease modifying*”, in grado quindi di modificare la prognosi della patologia nel lungo termine al contrario degli approcci oggi maggiormente usati, di tipo “sintomatico”.

L’ipotesi centrale della ricerca è che il sistema GABAergico possa fungere da “meccanismo chiave” bersaglio e che il suo studio permetta quindi non solo di ottenere una migliore conoscenza della fisiopatologia del neuro sviluppo, ma anche, allo stesso tempo, di caratterizzare un possibile target terapeutico comune a molte patologie che guardi quindi a future strategie terapeutiche modificanti il decorso della patologia e anche estremamente versatili.

Questa ipotesi è supportata dalla quasi costante presenza in diverse sindromi del neurosviluppo (TSC, FCD, RS, FRAX – Steel et al., 2017; Abdijadid et al., 2015; Tang et al., 2016) di un ritardo nella maturazione della trasmissione GABAergica, che mantiene un’azione meno iperpolarizzante tipica del cervello immaturo, come riportato da studi pubblicati da questo (*Palma et al., 2006; Ruffolo et al., 2016;2018*) ed altri gruppi di ricerca (*Talos et al., 2011; Tang et al., 2016; Stern et al., 2017*).

Gli obiettivi specifici del progetto sono focalizzati sullo studio elettrofisiologico e molecolare delle patologie del neurosviluppo. In particolare nella ricerca corrente del 2019 è rientrato lo studio della sindrome di Rett (RS), con i seguenti obiettivi:

- 1) caratterizzazione delle proprietà elettrofisiologiche delle correnti evocate dal GABA (ampiezza, decadimento, affinità, sensibilità a modulatori recettoriali) su tessuti cerebrali di pazienti con RS e di ratti *Mecp2* KO.
- 2) Studio del potenziale di inversione di delle correnti evocate dal GABA in pazienti RS e modelli animali *Mecp2* KO.
- 3) Test di farmaci in grado di recuperare un potenziale di inversione del GABA più fisiologico (bumetanide)

Fine ultimo di questo studio, e linea di ricerca del laboratorio, è la caratterizzazione delle risposte evocate dal GABA nella RS e altre patologie del neurosviluppo, con l’intento di trovare alterazioni GABAergiche comuni alle varie sindromi, che possano costituire un utile bersaglio terapeutico. Farmaci in grado di normalizzare la trasmissione GABAergica durante lo sviluppo potrebbero infatti prestarsi al trattamento di diverse neuropatologie in cui questa alterazione è comune.

Il principale significato della ricerca riguarda la possibilità offerta dalla tecnica del microtrapianto di membrane di studiare recettori funzionali direttamente su tessuti umani ottenuti da pazienti affetti da rare sindromi dello sviluppo, ovvero in questo caso da sindrome di Rett. Ciò permette sia lo studio funzionale di proteine “genuine”, non modificate dal modello in cui vengono espresse (*Eusebi et al., 2009*) approfondendo quindi la conoscenza della fisiopatologia e inoltre grazie a ciò permette di testare l’efficacia nuove molecole sul sistema GABAergico e glutammatergico.

I tessuti di pazienti affetti da sindrome di Rett (RS – tabella 1) sono stati ottenuti grazie alla collaborazione con il Dipartimento di Neuropatologia dell’Università di Amsterdam (AMC). L’uso di questi tessuti è stato autorizzato, oltre che dalle Commissioni Etiche del citato istituto, dalla Commissione Etica dell’Università Sapienza.

Tabella 1. Caratteristiche dei tessuti Rett e di controllo studiati

PATIENTS	AGE/GENDER	AREA	PMI	DIAGNOSIS
#1	20/F	T	6	RTT/ <i>Mecp2</i> mut
#2	22/F	T	6	RTT/ <i>Mecp2</i> mut
#3	29/F	T	5	RTT/ <i>Mecp2</i> mut
#4	17/F	T	8	-
#5	31/F	T	8	-
#6	38/F	T	7	-

F, female; T, temporal; PMI, post-mortem index. Patients #1-3, Rett syndrome; Patients #4-6, control individuals.

Gli esperimenti sono stati effettuati con la tecnica del microtrapianto di membrane in oociti di *Xenopus*, descritto in dettaglio in letteratura (Miledi et al., 2002; Eusebi et al., 2009).

I principali risultati ottenuti studiando il tessuto corticale dei pazienti con RS sono i seguenti:

1. Registrazione di una modifica del potenziale di inversione del cloro (E_{GABA}) verso valori più depolarizzati, tipici di tessuti immaturi (Fig.1);
2. Recupero del suddetto spostamento di E_{GABA} tramite un bloccante del trasportatore del cloro NKCC1 (bumetanide), dato che conferma la centralità dell'alterazione dell'equilibrio dei trasportatori del cloro nel neurosviluppo, allo stesso tempo indicandoli come possibile target terapeutico (Fig.1);
3. Una differenza nel rapporto tra correnti AMPA/GABA, minore nella RS che nei tessuti di controllo (Fig.1).
4. Risultati confermati sia nell'uomo che nel tessuto del modello murino "Mecp2 KO." (Fig.1-2).

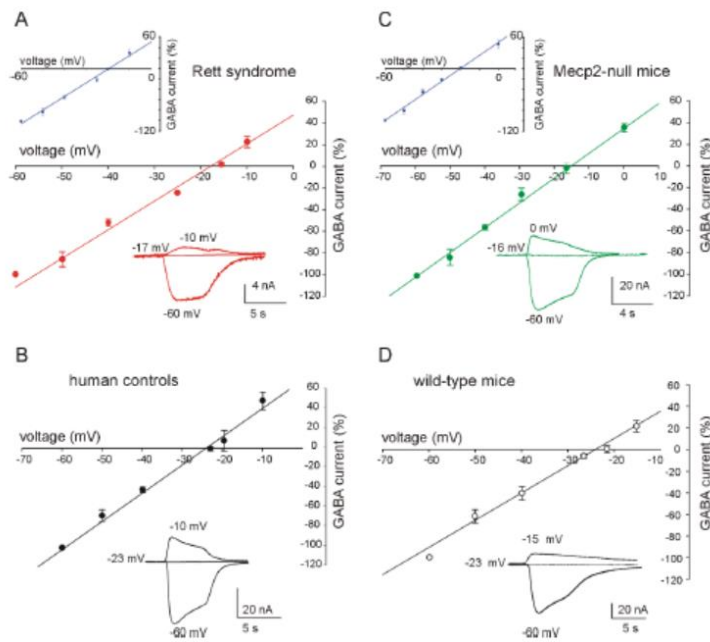


Figura 1. Registrazione di relazioni corrente (I) voltaggio (V) della corrente GABA in oociti iniettati con membrane ottenute da tessuti corticali di A) sindrome di Rett; B) controlli umani C) topi Mecp2 KO D) topi wild type. L' inset in A e C rappresenta l' effetto del bumetanide sulla I/V nei due diversi casi (Ruffolo et al., 2019)

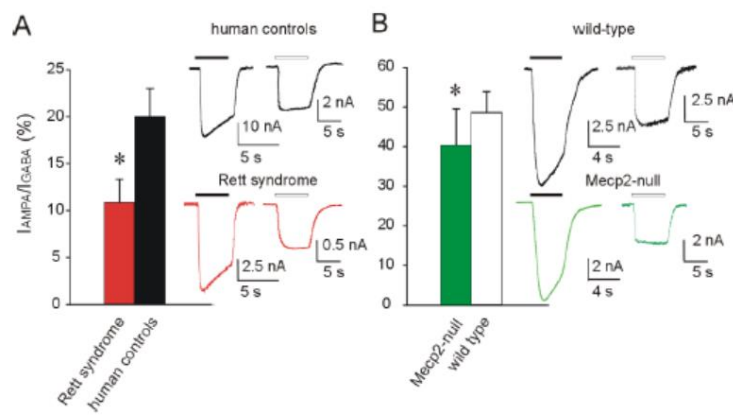
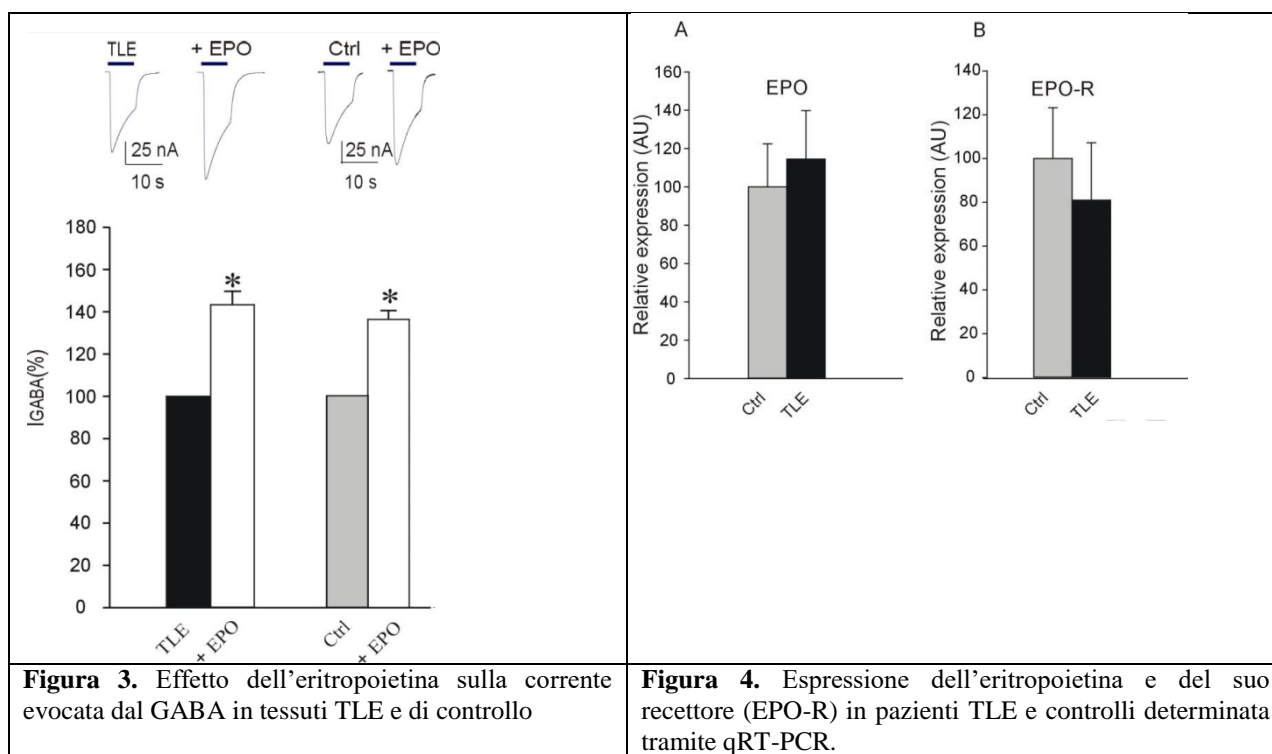


Figura 2. Rapporto tra l'ampiezza delle correnti AMPA e GABA nella sindrome di Rett (A) e nel modello Mecp2 KO (B) e rispettivi controlli.

Inoltre, lo studio dell'effetto dell'eritropoietina sulla corrente GABA, effettuato su tessuti corticali di pazienti affetti da epilessia del lobo temporale (TLE) ha permesso di ottenere i seguenti risultati:

1. Caratterizzazione dell'aumento di corrente GABA indotto dall'esposizione all'EPO, sia in tessuti TLE che in tessuti non-TLE microtrapiantati in oociti di Xenopus (Figura 3);
2. Conferma della presenza del suddetto effetto in neuroni di Purkinje studiati in patch-clamp su cervelletto di ratto;
3. Studio dell'espressione del recettore dell'EPO (EPOR) in tessuti epilettici TLE e di controllo, che ha dimostrato livelli di espressione paragonabili tra i tessuti patologici e non. Ciò conferma che l'effetto dell'EPO non è dipendente dall'up-regolazione recettoriale. (Figura 4).



Dal punto di vista della neurofarmacologia e sviluppo di nuovi farmaci, abbiamo firmato una interessante review in cui vengono discussi gli effetti di diverse molecole appartenenti alla classe dei fitocannabinoidi sulla trasmissione GABAergica (Cifelli et al., 2020, vedi figura 5)

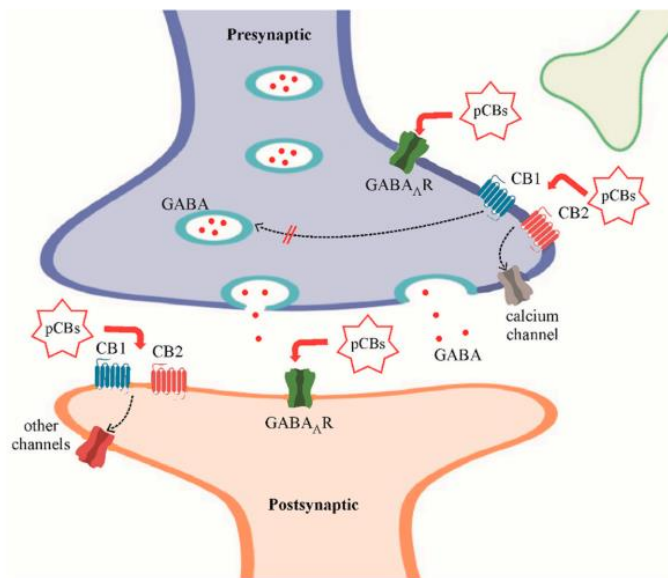


Figura 5. Effetto dei fito-cannabinoidi sulla trasmissione GABAergica

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

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è una patologia caratterizzata da progressiva degenerazione dei motoneuroni che portano i pazienti ad atrofia muscolare e morte per insufficienza respiratoria. Uno dei meccanismi biologici principali presenti nella SLA è la perdita di una efficace connessione tra muscolo e nervo. La denervazione muscolare e l'alterazione della giunzione neuromuscolare sono caratteristiche ineluttabili della progressione della malattia della SLA (Palma et al., 2011), sebbene non siano ancora noti i fattori fisiopatologici che sono alla base della suddetta progressione.

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

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

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

Nel progetto si è indagato più a fondo come fattori muscolari siano alterati nella SLA con il fine di aggiungere importanti pezzi al puzzle del dying back. In particolare, si valuta quali siano gli effetti della stimolazione magnetica sui vari determinanti molecolari ed elettrofisiologici della normale fisiologia muscolare, come fattori di trascrizione o anabolizzanti ed il recettore dell'acetilcolina.

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

Un altro importante aspetto ancora non del tutto chiaro in merito alla patogenesi della SLA riguarda l'incertezza su quali siano i fattori fisiopatologici che favoriscono la progressione della patologia. A tal proposito sono stati messi a punto due diversi modelli murini caratterizzati da progressione della patologia rispettivamente lenta e rapida, al fine di identificare i determinanti elettrofisiologici e molecolari alla base della diversa progressione della patologia.

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

Gli obiettivi del progetto sono quelli di indagare gli effetti della stimolazione magnetica sul muscolo dei pazienti SLA e nei modelli murini slow e fast progressing sotto vari aspetti:

- **FUNZIONALE:** Indagare se la stimolazione magnetica sia in grado di aumentare la forza muscolare nei pazienti.
- **ELETTROFISIOLOGICO:** Studiare se la NMMS possa indurre modificazioni (Es: ampiezza della corrente, decadimento, affinità per il neurotrasmettitore) che possano influenzare la funzionalità del recettore dell'Acetilcolina. Gli stessi parametri saranno studiati nei muscoli dei topi slow- e fast-progressing al fine di capire come essi si mettano in relazione con la diversa velocità di progressione della patologia nel modello murino.
- **ISTOLOGICO:** Analizzare se la NMMS possa indurre cambiamenti sul grado di atrofia muscolare e sulla composizione del tipo di fibre.
- **MOLECOLARE:** Valutare attraverso un'analisi di RT-PCR eventuali cambiamenti nei livelli di mRNA di un gruppo selezionato di geni coinvolti nella crescita e plasticità muscolare in campioni trattati con NMMS e nei controlli.

Questo progetto vuole fornire nuove evidenze scientifiche riguardo l'impiego della NMMS nel trattamento della SLA. Con questo progetto ci si prefigge di ottenere sia dati oggettivi sugli effetti della stimolazione magnetica direttamente sul paziente SLA, sia un'analisi dettagliata dei meccanismi fisiologici e molecolari che possono attivarsi nel tessuto muscolare di questi pazienti in seguito al trattamento.

Inoltre, lo studio sui modelli murini contribuirà ad evidenziare nuovi possibili marcatori prognostici e bersagli terapeutici.

La migliore comprensione del modello del dying-back e quindi del ruolo attivo del muscolo nella patogenesi della SLA permetterà di aprire nuove prospettive sullo studio di questa patologia neuromuscolare.

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

I pazienti sono stati divisi in due gruppi: un primo gruppo ha ricevuto una stimolazione magnetica reale (rNMMS) del braccio destro e una stimolazione sham (sNMMS) del braccio sinistro mentre il

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

Per gli studi su modello murino, i muscoli dei topi slow progressing (C57-G92A) e fast progressing (129Sv-G93A) verranno ottenuti grazie alla collaborazione con il gruppo dell'IRCCS Mario Negri e verranno utilizzati principalmente per esperimenti di elettrofisiologia, come dettagliato in seguito.

NMMS

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

Analisi istologica

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

Preparazione dell'RNA e RT-PCR

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

Elettrofisiologia

Preparazione di membrane:

Le membrane sono state preparate come descritto precedentemente (Palma E, et al. 2011). Circa 0.1-0.5 gr di tessuto congelato è stato omogeneizzato in 2 ml di buffer di glicina usando un omogenizzatore Ultra Turrex (Ika, Germania). Il filtrato è stato centrifugato per 15 min a 9500 g con un centrifuga Beckmann (rotore C1015) e il super raccolto e centrifugato per due ore a 100.000 g usando una centrifuga TL100 a 4 °C. Il pellet, dopo essere stato lavato e risospeso in buffer di glicina (5 mM), è stato usato direttamente oppure conservato a -80 °C fino all'uso.

Registrazioni voltage-clamp:

Dopo 24 ore dall'iniezione citoplasmatica di membrane sono state registrate negli ovociti le correnti totali con la tecnica del voltage-clamp intracellulare con due elettrodi (3 M KCl) come descritto precedentemente (Palma et al., 2011).

Il principale risultato dello studio è stato la dimostrazione della efficacia della stimolazione magnetica neuromuscolare (NMMS) per il miglioramento della forza muscolare, misurata con dinamometro (fig 1A), in pazienti affetti da SLA.

L'aumento di forza muscolare è inoltre correlato a:

- una modifica dell'espressione di alcuni fattori catabolici, come ad esempio MuRF-1 e SREBP-1 (fig 1B)
- il miglioramento della funzione del recettore nicotinico dell'acetilcolina (ACh) (fig 1C)
- una conservazione delle fibre muscolari fast a scapito delle fibre slow (fig 1D) esclusivamente nei muscoli trattati.

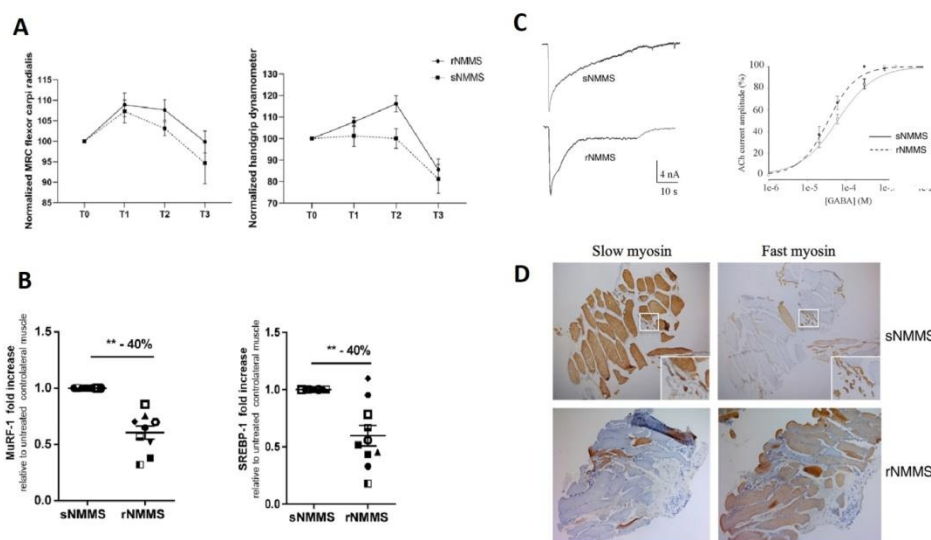


Figura 1. A) misurazione tramite dinamometro della forza a livello del flessore radiale del carpo di muscoli sottoposti a stimolazione (rNMMS) o trattamento sham (sNMMS). B) Espressione di mRNA misurata tramite qPCR dei fattori MuRF-1 e SRBP-1 (qui sono mostrati i risultati più rappresentativi, ma sono stati testati anche IGF-1EA, myostatin, atrogin-1 e MiR-24). C) Studio della funzione del recettore nicotinico dell' ACh in oociti di *Xenopus*. Nei muscoli sottoposti a rNMMS si notano correnti più rapide (tipiche del muscolo maturo) e una maggiore affinità per l' ACh. D) aumento della fast myosin visualizzato istologicamente.

Questi risultati non solo forniscono solidi meccanismi fisiopatologici di base a supporto dell'efficacia di una nuova potenziale terapia nel trattamento della SLA, ma supportano con forza il modello del "dying-back" (ovvero della centralità del tessuto muscolare nella patogenesi della malattia) portando contemporaneamente avanti una nuova ipotesi, quella del "saving-back". Questi dati infatti dimostrano che agendo sul muscolo non solo si migliora la condizione clinica del paziente ma si innescano dei meccanismi molecolari che potrebbero determinare una variazione positiva dell'evoluzione a lungo termine della patologia.

La ricerca su questo tema proseguirà anche durante l'anno 2021, in virtù della collaborazione con l'IRCCS "Mario Negri" e con il Centro SLA del Policlinico Umberto I di Roma. I futuri esperimenti si concentreranno sullo studio di due diversi modelli murini di SLA caratterizzati l'uno da una lenta progressione della patologia (C57-G92A) e l'altro da una rapida progressione della patologia (129Sv-G93A).

Su questi animali verranno condotti studi elettrofisiologici, immunohistologici e biochimici al fine di valutare differenze nei processi di atrofia e rigenerazione muscolare e relative alla funzione del recettore dell'acetilcolina.

I risultati attesi da questo studio permetteranno di sviluppare marcatori prognostici e potenziali terapie che rallentino la progressione della patologia.

Laboratorio di Microbiologia delle Patologie Cronico-degenerative

Combattere l'antibiotico-resistenza per migliorare l'efficacia degli interventi terapeutici e riabilitativi in pazienti fragili e affetti da patologie croniche

Sebbene la prevenzione e il trattamento delle malattie infettive siano migliorate negli ultimi anni, le infezioni batteriche sono ancora importanti causa di morbilità e mortalità in ambito ospedaliero ma anche comunitario, come le strutture di riabilitazione. Il trattamento di tali infezioni si è reso sempre più difficoltoso a causa dell'incremento del numero di ceppi batterici resistenti agli antibiotici. Nell'Unione europea, solo nell'anno 2015, sono state riportate circa 671.689 infezioni causate da batteri multiresistenti (MDR) di cui il 63,5% associate all'assistenza sanitaria, con un numero totale di decessi di 33.110 (Cassini et al., 2019). Negli Stati Uniti, vengono registrate 2.8 milioni di

infezioni da batteri MDR ogni anno, con un numero approssimativo di morti di 35.000 (<https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>). Gli agenti patogeni clinicamente più rilevanti in ambito ospedaliero e comunitario sono *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridium difficile*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, ed *Enterobacter*, noti come gli ESK/CAPE per sottolineare che sfuggono alle terapie antibiotiche (Rice, 2008). L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha richiesto l'elaborazione di una lista di microrganismi per i quali è fondamentale attuare sistemi di sorveglianza, di prevenzione e supportare la ricerca scientifica e lo sviluppo di strategie alternative efficaci. Tra i microrganismi con priorità critica sono stati elencati *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e alcune specie della famiglia delle Enterobatteriaceae (Tacconelli et al., 2017). Negli ultimi anni, *A. baumannii* è emerso tra i patogeni polmonari più preoccupanti in ambito ospedaliero e comunitario a causa della sua resistenza a numerose o tutte le classi di antibiotici. Infatti, *A. baumannii* possiede diversi meccanismi di resistenza che includono la produzione di enzimi che idrolizzano o modificano gli antibiotici, pompe di efflusso e la capacità di alterare la permeabilità cellulare e/o modificare i target degli antibiotici. La mancanza di terapie antibiotiche efficaci per i batteri MDR evidenzia l'importanza della sorveglianza microbiologica dei principali patogeni nei centri di riabilitazione ed in particolare rispetto ad *A. baumannii*. Inoltre, poiché la perdita di efficacia degli antibiotici non è compensata dalla scoperta di nuove molecole antimicrobiche, appare quanto mai necessaria la ricerca di strategie terapeutiche alternative. Un approccio promettente è basato sullo sviluppo di molecole anti-virulenza atte ad interferire con i meccanismi di patogenicità batterica che sono alla base del meccanismo patogenetico dell'infezione (Mühlen e Dersch, 2016). Questo tipo di strategia “disarmerebbe” i batteri patogeni consentendo la loro eliminazione da parte del sistema immunitario dell'ospite, senza danneggiare o modificare la composizione del microbiota dell'ospite. In questo contesto si inserisce un progetto che mira ad identificare le proteine coinvolte nell'adesione e/o invasione di *A. baumannii*, i meccanismi batterici che gli garantiscano la sopravvivenza e/o persistenza durante l'infezione e i meccanismi attuati dall'ospite per la modulazione del sistema immunitario in risposta all'infezione batterica.

Il progetto mira ad attuare una sorveglianza microbiologica nei centri di riabilitazione respiratoria dei patogeni multiresistenti (MDR) per i quali sono disponibili scarse opzioni terapeutiche (i.e. *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*). Lo sviluppo di sistemi di sorveglianza nei centri di riabilitazione permetterà il monitoraggio microbiologico dei pazienti e l'attuazione di programmi di intervento che limitino la diffusione di MDR all'interno delle strutture. Parallelamente, verranno condotte delle ricerche mirate all'identificazione di determinanti di virulenza e dei meccanismi di difesa dell'ospite che rappresentino la base del processo infettivo causato da *A. baumannii* per lo sviluppo di terapie anti-virulenza. Pertanto, questo studio ha come obiettivi:

- fornire precise e tempestive conoscenze sulla presenza e circolazione di batteri patogeni MDR all'interno dei centri di riabilitazione;
- consentire la messa a punto di efficaci azioni di prevenzione delle infezioni batteriche causate da batteri MDR;
- identificare le proteine che garantiscono l'adesione e/o l'invasione di *A. baumannii*, i meccanismi che utilizza per garantire la sua sopravvivenza e/o persistenza durante l'infezione e quelli coinvolti nella modulazione del sistema immunitario;
- individuare nuovi bersagli molecolari per lo sviluppo di nuove strategie antimicrobiche in grado di contrastare patogeni MDR;
- individuare *pathways* cellulari che possano potenziare la risposta cellulare e immunologica dell'ospite in modo da prevenire o contrastare l'insorgenza e/o la progressione dell'infezione batterica.

Lo studio si propone i seguenti obiettivi specifici:

- attuare una sorveglianza microbiologica dei patogeni MDR delle vie respiratorie con scarse opzioni terapeutiche che causano infezioni acute e/o croniche;
- convalidare o modificare le strategie di contenimento per la diffusione di batteri patogeni MDR;

- identificare le proteine procariotiche/eucariotiche che garantiscono l'adesione e/o l'invasione di *A. baumannii*;
- individuare i meccanismi molecolari che *A. baumannii* utilizza per garantire la sua sopravvivenza e/o persistenza durante l'infezione;
- analizzare i meccanismi molecolari coinvolti nei signaling cellulari delle cellule ospiti innescati dal processo infettivo;
- caratterizzare la risposta immunitaria e infiammatoria dell'ospite a seguito dell'infezione batterica;
- convalidare i nuovi bersagli molecolari per approcci terapeutici innovativi.

Obiettivo dell'attivazione di un sistema di sorveglianza microbiologica è quello di ottenere dati specifici a livello della riabilitazione respiratoria, per monitorare l'andamento delle infezioni respiratorie all'interno della struttura e valutarne i fattori di rischio comportamentali e gli interventi di prevenzione al fine di limitarli. Questi dati permetterebbero di contenere la morbilità e mortalità delle infezioni acute e croniche associate a patogeni MDR. Inoltre, sulla base della letteratura corrente, questo studio potrebbe contribuire alla identificazione del meccanismo con cui *A. baumannii* è in grado di causare l'infezione, caratterizzare la risposta immunitaria e infiammatoria dell'ospite e individuare delle strategie anti-virulenza per contrastare l'infezione batterica soprattutto nell'ambito delle patologie respiratorie acute e croniche.

I sistemi di sorveglianza consentono di attuare piani di contenimento e prevenzione delle infezioni batteriche garantendo ai pazienti una riabilitazione microbiologicamente sicura all'interno del centro e, conseguentemente, migliorando il processo e l'esito clinico della riabilitazione. Inoltre, la comprensione dettagliata di meccanismi molecolari alla base dell'interazione tra ospite e patogeno pone le basi per lo sviluppo di terapie anti-virulenza per batteri patogeni con scarse opzioni terapeutiche. L'innovazione di questo tipo di approccio risiede nel fatto che la terapia anti-virulenza esercita una pressione selettiva inferiore a quella indotta dagli antibiotici, garantendone una maggiore efficacia nel tempo. In più, il vantaggio di tale terapia è che prenderebbe in considerazione target che vengono espressi esclusivamente da batteri patogeni, senza danneggiare o modificare la composizione del microbiota dell'ospite.

La sorveglianza dei principali batteri patogeni respiratori verrà attuata mediante esami colturali microbiologici, utilizzando terreni standard, selettivi e differenziali. L'esame microbiologico sarà eseguito su campioni di espettorato all'ammissione e alla dimissione del paziente nel centro di riabilitazione, con un'attenzione particolare per i pazienti affetti da Bronco Pneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO), asma bronchiale, insufficienza respiratoria cronica, bronchiectasie. Invece, la sorveglianza della diffusione di enterobatteri MDR verrà eseguita sui pazienti ammessi nella struttura se provenienti da altri presidi sanitari attraverso lo screening con tampone rettale al momento del ricovero; questo tipo di sorveglianza permetterebbe il tempestivo isolamento dei pazienti colonizzati o infetti da enterobatteri MDR, e l'adozione, da parte del personale d'assistenza, delle precauzioni da contatto di tali pazienti. L'identificazione dei microrganismi sarà eseguita sia a livello colturale che molecolare, mentre l'analisi di suscettibilità antimicrobica (AST), con la definizione della minima concentrazione inibente (MIC), verrà condotta utilizzando i metodi tradizionali manuali ed automatizzati (<http://www.salute.gov.it>).

Lo studio dei fattori di virulenza coinvolti nell'interazione ospite-patogeno inizierà conducendo degli esperimenti di adesione ed invasione utilizzando il ceppo MDR di *A. baumannii* AB5075, precedentemente caratterizzato sia fenotipicamente che geneticamente, e modelli di infezione su monostrati di cellule polmonari *in vitro* (Ambrosi et al., 2016, 2017; Scribano et al., 2019). Identificate possibili strutture cellulari coinvolte nell'adesione batterica, si eseguiranno esperimenti volti alla comprensione dei meccanismi molecolari coinvolti nel processo di invasione batterica, nelle fasi precoci dell'*engulfment* batterico, nella risposta cellulare e immunologica degli epitelii infetti. A tal fine, verranno condotti esperimenti di interazione ligando-batteri *in vitro* (*pull down*), immunofluorescenza diretta ed indiretta, Western blot e dosaggio delle principali citochine infiammatorie (i.e. IL-8 e IL-6). I dati così ottenuti potranno essere validati grazie all'arruolamento dei pazienti del reparto di Riabilitazione Polmonare del IRCCS San Raffaele Pisana positivi per

infezione respiratoria da *A. baumannii*, dopo approvazione del comitato etico e firma da parte dei pazienti del consenso informato. I campioni degli espettorati verranno analizzati per la risposta infiammatoria ed espressione dei ligandi precedentemente identificati. Se validati, tali risultati avrebbero un rilevante impatto clinico sulla gestione microbiologica dei pazienti della riabilitazione polmonare a rischio infettivo.

L'emergenza sanitaria COVID-19 non ha reso possibile effettuare la ricerca di batteri MDR all'interno della struttura. Tuttavia, le ricerche eseguite dal gruppo, hanno contribuito a delineare il metodo di estrazione manuale dell'RNA di SARS-CoV2 più efficace per la diagnosi molecolare da tampone oro-naso-faringeo. Inoltre, è stata scritta e pubblicata una review sull'emergenza sanitaria dovuta a SARS-CoV2 che prendesse in considerazione le origini, la genetica, l'epidemiologia, la sintomatologia, la diagnosi, la prevenzione e il trattamento terapeutico dell'infezione pandemica. Appena le condizioni sanitarie lo hanno consentito, sono stati conclusi gli studi volti alla rivalutazione dell'utilizzo della fosfomicina, antibiotico privo di break point nell'EUCAST, per i ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* MDR al fine di fornire uno strumento terapeutico efficace per il trattamento di queste infezioni. Inoltre, sono stati analizzati ed individuati alcuni dei meccanismi molecolari attraverso i quali *Acinetobacter baumannii* è in grado di aderire ed invadere le cellule polmonari; il signaling cellulare innescato da questa interazione è stato definito in modelli *in vitro*. L'importanza di micro RNA come biomarkers di malattie intestinali e il loro utilizzo come approcci clinici alternativi è stata descritta in una review. Infine, nell'ambito degli studi inerenti l'individuazione di strategie terapeutiche alternative agli antibiotici nella cura delle infezioni urinarie, è stato valutato l'effetto del D-mannosio sulla crescita ed il metabolismo dell'*Escherichia coli* uropatogeno. Grazie a questi studi è stato possibile mettere in evidenza l'effetto antimicrobico di questo composto che si attua con meccanismi non farmacologici permettendo di "risparmiare" l'uso di antibiotici convenzionali. I risultati ottenuti sono alla base di una review scritta e pubblicata su questo tipo di approccio terapeutico per le cistiti. Le ricerche citate hanno dato luogo alle pubblicazioni riportate di seguito.

Laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

I topi (maschi e femmine) knock out per MR macrofagico, sottoposti a dieta obesogena, non mostrano una variazione in peso totale e nell'espansione del tessuto adiposo, rispetto ai topi di controllo dopo tre mesi di HFD o ND, suggerendo che l'assenza di MR nel macrofago non altera l'accumulo di tessuto adiposo.

Accanto ai parametri metabolici, si sta effettuando la caratterizzazione istologica dei tessuti prelevati (tessuto adiposo bianco e bruno, muscolo scheletrico, fegato, cuore e reni). Risultati preliminari indicano che i topi maschi knock out per ApoE trattati con dieta aterogena contenente CORT118335 e iniettati con Aldosterone non mostrano differenze nella formazione della placca aterosclerotica al livello della radice aortica, rispetto ai topi trattati con dieta aterogena senza CORT118335 e iniettati con Aldosterone. Questo suggerisce che la concomitante combinazione del blocco di MR e di GR non altera la formazione - stimolata da Aldosterone e da dieta aterogena - della placca aterosclerotica. Si stanno svolgendo analisi ulteriori per investigare eventuali cambiamenti, modulati da CORT118335, nella struttura delle placche. In particolare si valuteranno il contenuto di collagene e l'infiltrato macrofagico in esse presenti.

Laboratorio di Patologia Molecolare, Cellulare e Ultrastrutturale

Nuovi approcci terapeutici per lo scompenso cardiaco

HMGB1 è una proteina costitutivamente espressa in molti tipi cellulari. Nelle cellule, HMGB1 è un fattore di trascrizione coinvolto nel riparo del DNA, nell'omeostasi dei telomeri e nell'autofagia. HMGB1 può essere anche secreta o rilasciata dalle cellule sotto stress e in questo caso agisce come allarmine, citochina o fattore di crescita in grado di attivare la risposta immunitaria. Studi recenti hanno dimostrato che HMGB1 può avere funzioni opposte ovvero indurre danno cardiaco in quanto mediatore dell'infiammazione ma allo stesso tempo promuovere rigenerazione cardiaca e rimodellamento del ventricolo sinistro in seguito a danno. Quale sia il ruolo di HMGB1 nella senescenza dei cardiomiociti non è ancora noto.

Inoltre, siccome HMGB1 è stata identificata come un importante mediatore dell'infiammazione nella fase precoce dell'infarto in seguito a rilascio passivo da parte di cellule necrotiche e, in una fase successiva del rimodellamento ventricolare, in seguito a rilascio attivo da parte delle cellule mononucleate, diversi studi clinici hanno dimostrato che questa proteina può rappresentare un interessante biomarcatore in pazienti con sindromi coronariche.

Obiettivi:

Aim 1: Studio in vitro dell'effetto di HMGB1 sulla senescenza dei cardiomiociti.

L'obiettivo consisteva nel determinare l'effetto della somministrazione di HMGB1 WT sulla senescenza di cardiomiociti di ratto dopo trattamento con doxorubicina.

Aim 2: Studio dei livelli circolanti di HMGB1 in pazienti MINOCA

In questa parte del progetto, sono stati misurati i livelli di HMGB1 WT circolante in campioni provenienti da soggetti sani, pazienti STEMI ovvero con infarto acuto del miocardio in presenza di placche aterosclerotiche e pazienti MINOCA ovvero pazienti con infarto acuto del miocardio in assenza di placche aterosclerotiche.

Per questo studio, per il primo obiettivo, è stato messo a punto innanzitutto il modello di senescenza delle cellule H9C2 (cellule atriali di ratto) al fine di determinare gli intervalli di tempo e la concentrazione ottimale di doxorubicina da utilizzare per il trattamento.

Per il secondo obiettivo, sono stati utilizzati campioni di siero da 15 soggetti sani, 30 pazienti STEMI e 30 pazienti MINOCA. Su tutti i campioni è stato effettuato un saggio ELISA per la determinazione dei livelli circolanti di HMGB1 espressi in ng/ml.

I risultati hanno dimostrato che la dose ottimale di doxorubicina risulta essere quella di 0.1 μ M per 24 ore. In queste condizioni sperimentali, infatti, è stata ottenuta mediante WB una marcata modulazione dei marcatori della senescenza quali p53, p21, p16, TRF2 e dell'apoptosi quali bax, bcl2 e cleaved PARP1.

Mediante test ELISA per HMGB1, sono stati determinati i livelli circolanti di HMGB1 espressi come ng/ml in 15 soggetti sani, 30 pazienti STEMI e 30 pazienti MINOCA ottenendo valori significativamente superiori negli STEMI rispetto ai MINOCA e valori comparabili tra i MINOCA e i pazienti sani considerati come pazienti di controllo.

Utilizzando un sistema in vitro, i ricercatori sono riusciti a determinare dose e tempi di trattamento con doxorubicina tali da ottenere la senescenza delle cellule H9C2 su cui poi effettuare diversi tipi di trattamento.

I risultati ottenuti mediante ELISA hanno permesso di distinguere i pazienti MINOCA dai pazienti STEMI, fino ad oggi indistinguibili nelle fasi iniziali del ricovero dei pazienti con sintomatologia da infarto acuto del miocardio. In pratica, i risultati hanno confermato l'ipotesi che HMGB1 (noto marcatore dell'infiammazione) poteva rappresentare un marcatore in grado di distinguere le due classi di pazienti, visto che i pazienti MINOCA presentano un'infiammazione localizzata mentre i pazienti STEMI sono caratterizzati da un'infiammazione estesa.

I risultati del progetto hanno permesso di individuare HMGB1 circolante come un potenziale biomarcatore in grado di distinguere precocemente i pazienti MINOCA dai pazienti STEMI. Il risultato è di grande rilevanza clinica in quanto, all'ammissione in ospedale, questi pazienti non vengono attualmente distinti necessitando di un'analisi strumentale che viene effettuata solo in una fase successiva.

Sirtuine mitocondriali mantenimento e recupero dell'integrità mitocondriale e sopravvivenza cellulare in presenza di stress

Le sirtuine mitocondriali SIRT3, SIRT4 e SIRT5 deacilano diverse proteine mitocondriali controllando la fosforilazione ossidativa, il metabolismo della glutammina, il ciclo di Krebs, ecc. A loro volta i mitocondri hanno un ruolo fondamentale nel regolare lo stato energetico cellulare mantenendo la vitalità cellulare. Questo è particolarmente importante in cellule post-mitotiche come neuroni, cardiomiociti e adipociti in cui è richiesto il prolungato mantenimento dell'integrità strutturale e funzionale della cellula.

L'ipotesi del progetto è che le sirtuine, ed in particolare quelle mitocondriali, svolgono un ruolo fondamentale per il differenziamento cellulare e per il mantenimento e recupero delle funzioni cellulari nei tessuti post-mitotici.

Considerando il ruolo fondamentale per l'omeostasi cellulare che le sirtuine dimostrano, questo progetto propone di perseguire lo studio dei seguenti obiettivi:

- 1) Ruolo delle sirtuine mitocondriali nella regolazione del metabolismo cellulare.
- 2) Ruolo delle sirtuine mitocondriali nel mantenere l'integrità, funzionalità e vitalità cellulare.

Ci si aspetta di riuscire a chiarire il ruolo di SIRT3 e SIRT5 nella regolazione di vari pathways metabolici, nel mantenimento dei mitocondri e della cellula e del loro possibile ruolo nell'invecchiamento. Inoltre, di individuare biomarcatori di perdita di funzione e loro recupero.

Ci si aspetta inoltre di fornire evidenze del ruolo della sirtuina 5 nel differenziamento del tessuto adiposo e delle variazioni della sua attività nell'obesità e di individuare un biomarcatore di progressione dell'obesità.

Glisesperimenti dimostrano che le sirtuine hanno un ruolo fondamentale nel controllare e mantenere la funzionalità dei mitocondri attivando il processo chiamato mitofagia con il fine di eliminare i mitocondri non funzionali. Inoltre, la funzione delle sirtuine può essere modulata attraverso diverse strategie come l'uso di attivatori/inibitori e nanomateriali.

Un altro aspetto che è stato studiato è il controllo da parte delle sirtuine del metabolismo della glutammina. In questo caso è stato dimostrato che SIRT5 desuccinila e inibisce l'enzima chiave e cioè la glutaminasi con conseguente diminuzione del metabolismo. I ricercatori hanno anche utilizzato inibitori di SIRT5 che si sono rivelati importanti nel regolare il differenziamento delle cellule adipose da grasso bianco a grasso bruno.

I risultati finali del progetto consentiranno di individuare indicatori del recupero di funzione e di valutazione del danno.

Si effettua quindi uno studio delle sirtuine mitocondriali e nucleari in diverse linee cellulari, le misurazioni di carattere molecolare, proteico e biochimico. Vengono utilizzati anche di tessuti animali per verificare l'espressione e la funzione delle sirtuine.

Sono state utilizzate linee cellulari C2C12, 3T3 e H9C2. Queste sono state trasfettate o silenziata per le varie sirtuine mitocondriali tramite vettori plasmidici. Le linee parentali o trasfettate sono state trattate con apoptogeni.

I livelli delle sirtuine mitocondriali (SIRT3 e SIRT5) sono stati misurate tramite western blot nelle frazioni mitocondriali. Sempre nelle frazioni mitocondriali è stata misurata l'attività deacetilasi delle sirtuine tramite l'utilizzo di un substrato fluorescente e misurazione della fluorescenza emessa in un fluorimetro.

La vitalità cellulare è stata misurata usando un saggio MTT e la conta al trypan blue. Il metabolismo cellulare è stato misurato attraverso saggi biochimici. In particolare il metabolismo della glutammina è stato misurato utilizzando la produzione di ammoniaca, glutammato e alfa-ketoglutarato. Sono stati usati anche inibitori dei vari enzimi coinvolti nel metabolismo come glutaminasi e glutammato deidrogenasi. Infine il metabolismo della glutammina è stato bloccato utilizzando una forma solubile di alfa-ketoglutarato.

Questo studio permette di avere a disposizione dei parametri oggettivi con cui misurare i benefici di una riabilitazione finora solo empirici.

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

Il trattamento dello scompenso cardiaco 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.

Studiando il tessuto cardiaco di pazienti affetti da scompenso cardiaco, è possibile valutare i livelli di morte e proliferazione cellulare, il grado di miofibrillolisi, il livello di alterazione del metabolismo energetico cellulare, ed i pathways intracellulari che mediano l'instaurarsi ed il perpetuarsi del danno, come ad esempio l'espressione di geni e di proteine implicate nella necrosi, e nella apoptosi e nello stress ossidativo. Inoltre, è possibile valutare le alterazioni della struttura e della funzione mitocondriale e il ruolo delle sirtuine, una famiglia di deacilasi coinvolte in molteplici processi cellulari incluso il metabolismo energetico, la riparazione cellulare e la proliferazione attraverso l'attivazione delle cellule staminali.

L'ipotesi del progetto è che studiando biopsie endomiocardiche di pazienti affetti da scompenso cardiaco sarà possibile individuare gli aspetti patogenetici cellulari e molecolari che costituiranno i bersagli per nuove strategie terapeutiche che possono portare al recupero di funzione (contrattilità e frazione di eiezione) e di morfologia (recupero della massa sarcomerica).

L'obiettivo si prefigge di:

- Studiare i meccanismi di danno irreversibile e reversibile e l'attivazione dei processi di riparazione e rigenerazione cellulare dei cardiomiociti di pazienti affetti da miocarditi non-virali che esitano in cardiomiopatia dilatativa e miocardite scompenso grave.
- Studiare la struttura e la funzione mitocondriale e il grado di stress ossidativo miocardico in alcuni sottogruppi di pazienti.
- Studiare il ruolo delle sirtuine nel processo di danno e di recupero cellulare dopo opportuna terapia

Ci si aspetta di :

- Identificare i biomarcatori specifici di danno in pazienti con miocardite croniche virus-free, con cardiomiopatia dilatativa idiopatica e secondaria (i.e tossica, da deficit nutrizionali), e con cardiopatie a fenotipo ipertrofico (i.e. cardiomiopatia ipertrofica, malattia di Fabry, cardiopatia ipertensiva).
- Individuare target di strategie terapeutiche (riparazione cellulare con espressione di isoforme molecolari immature)
- Recuperare funzione contrattile (Aumento della EF) e dei componenti funzionali ultrastrutturali (mitocondri e massa sarcomerica)

E' stato osservato in biopsie endomiocardiche del ventricolo sinistro, che la miocardite, spesso virale, può essere una causa frequente che porta allo scompenso grave, causa di trapianto/morte.

E' stata inoltre descritta una cardiomiopatia reversibile da deficit di Selenio e Zinco indotta da malassorbimento intestinale cronico. Riconosciuti Sono stati identificati i meccanismi caratterizzati che portano a un declino della riserva anti-ossidante cardiaca facente capo alla glutatione perossidasi ed alla superossido-dismutasi rispettivamente selenio e zinco-dipendenti, cui consegue danno ossidativo del sarcolemma e di altri componenti subcellulari dei miocardiociti e conseguente danno e aumento dell'autofagia cellulare.

E' stata identificata e quantificata in termini di incidenza l'associazione malformativa fra cardiomiopatia ipertrofica e teleangiectasia coronarica ed i risvolti che questa può assumere in termini di ischemia miocardica ed instabilità elettrica, richiedente impianto di defibrillatore al fine di prevenirne la complicità più temibile, la morte cardiaca improvvisa. E' stato riportato attraverso un'ampia casistica biptica, che in pazienti con fenotipo clinico di cardiomiopatia ipertrofica, la biopsia endomiocardica del ventricolo sinistro è in grado di identificare patologie infiltrative o da accumulo nel 18% dei 155 pazienti studiati. Tale studio ha sottolineato il limite degli strumenti non-invasivi nella diagnostica dei pazienti con ipertrofia idiopatica del ventricolo sinistro e come il riconoscimento tramite indagine biptica della malattia di base possa cambiare il trattamento e la prognosi. Per la prima volta è stato descritto un diretto coinvolgimento muscolare in pazienti con malattia di Fabry. In rapporto all'interessamento cardiaco, il danno muscolare è più lieve e più tardivo. La causa più verosimile di tale divergenza è la differenza nella attività dei due organi con diverso consumo del α -galattosidasi A residua.

Infine è stata documentata una cardiomiopatia ipertrofica-ipocinetica clinicamente sovrapponibile alla malattia di Fabry dovuta a tossicità da Idrossiclorochina. Attraverso una analisi istologica, ultrastrutturale e della attività degli enzimi lisosomiali su biopsie endomiocardiche eseguite prima e dopo risoluzione della malattia, è stato evidenziato un deficit farmaco-mediato dell'alfa-galattosidasi A che porta ad un accumulo intracellulare di Gb3 simile a quello che occorre per difetto genetico nella malattia di Fabry. L'osservazione implica che in casi di tossicità cardiaca da idrossiclorochina può essere adottata l'infusione di agalsidasi, per ottenere un completo recupero del danno.

In questo tipo di studio è stato possibile individuare nuovi marcatori e nuove vie patogenetiche che portano allo scompenso cardiaco e, quindi, suggerire strategie riabilitative specifiche, necessarie a un corretto recupero funzionale. Il recupero di struttura (EMBs sequenziali) si è dimostrato parallelo a quello funzionale (EF).

Il progetto di ricerca si svolge in collaborazione con l'IRCCS Spallanzani. Sono stati reclutati 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 sono stati sottoposti ad esami cardiologici invasivi (ECG, ecocardiogramma color Doppler con TDI) e, previo consenso informato, ad esami cardiologici invasivi, incluso il cateterismo cardiaco, la coronarografia, la ventricolografia bi ventricolare e la biopsia endomiocardica bi ventricolare.

Alcuni frammenti biptici sono stati utilizzati per l'esame istologico con colorazioni di routine per identificare il processo patologico alla base della disfunzione cardiaca. Alcuni frammenti congelati sono stati utilizzati per valutare la presenza di virus cardiotropi miocardici, in grado di causare una

cardiomiopatia dilatativa virale. In pazienti affetti da miocardite virus-negativa è stato intrapreso un trattamento specifico immunosoppressore e verranno eseguite biopsie di controllo dopo sei mesi di trattamento per valutare il grado di recupero cellulare.

Le biopsie endomiocardiche di base e di controllo sono state 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 è stato anche prelevato del sangue periferico per ottenere un anello linfomonocitario da cui ricavare proteine e mRNA per analisi di real time-PCR, di western blotting e di saggi enzimatici. In particolare l'espressione e l'attività delle sirtuine è stata messa in relazione alla patologia e al recupero funzionale dopo terapia nel paziente.

L'individuazione dei diversi stimoli che portano all'insorgenza dello scompenso cardiaco permette di avere dei dati personalizzati per il paziente al fine di formulare una terapia personalizzata in funzione del tipo di danno subito e della sua insorgenza. Questo consente di risparmiare al paziente e al SSN delle cure inutili e costose.

Studio dei meccanismi di riparazione cellulare in cellule postmitotiche: ruolo delle proteine CRP e delle sirtuine

Le sirtuine sono una classe di deacilasi coinvolte nella risposta a diversi tipi di stress e associate all'allungamento della vita. E' necessario approfondire lo studio dei meccanismi che regolano la funzione delle sirtuine nella risposta allo stress nel tessuto neuronale e muscolare.

- Le Cysteine-rich proteins (CRP1, CRP2, CRP3/MLP and TLP) hanno un ruolo importante nell'organizzazione del citoscheletro, nella miogenesi e nella trasduzione del segnale generato da meccano-recettori. CRP1 e 2 sono espresse per lo più nella muscolatura liscia e scheletrica, MLP è espresso per lo più nel muscolo cardiaco e scheletrico.
- L'ipotesi di questo progetto è che le cellule post-mitotiche possono recuperare la loro funzione dopo uno stress di danno e che in tale recupero le sirtuine hanno un ruolo fondamentale.
- Il progetto si prefigge di
- Indagare il ruolo dell'interazione tra sirtuine e delle CRP nei meccanismi di morte e di riparo cellulare.
- Studiare l'impatto sulla morte cellulare e sul riparo molecolare nei miociti e nei cardiomiociti delle CRP valutando la risposta al danno della cellula indotto da stimolo meccanico.
- Studiare il ruolo di attivatori farmacologici delle sirtuine in tessuti neuronali, muscolari e cardiaco.

Ci si aspetta di dimostrare l'associazione tra sirtuine e CSRP nei tessuti post-mitotici e di individuare e sfruttare strategie riabilitative per incrementare la sopravvivenza di tali tessuti eventualmente danneggiati da stimoli meccanici e da stress cellulari.

Ci si aspetta che le sirtuine e le CRP intervengano nella regolazione di pathway di morte e sopravvivenza, ad esempio che interagiscano e regolino il pathway apoptotico mitocondriale. Lo studio della morte cellulare e del riparo molecolare nei miociti e nei cardiomiociti fornirà informazioni sull'eventuale ruolo di CRP e sirtuine.

I ricercatori aspettano che il trattamento delle cellule con attivatori delle sirtuine porti ad una maggiore sopravvivenza e differenziamento delle cellule muscolari.

La linea cellulare di mioblasti murini C2C12 è stata differenziata in vitro mediante semina in terreno contenente il 2% di siero di cavallo. Cloni di tali cellule overesprimenti e silenziati per CRP3/MLP sono stati ottenuti. Il danno cellulare è stato indotto tramite trattamento con etoposide o in assenza di gravità. Lo studio dei meccanismi indotti dai trattamenti sopra indicati e del ruolo delle sirtuine e delle CRP è stato effettuato mediante Real Time-PCR, Western blotting e immunoprecipitazione su cellule proliferanti e differenziate. Mediante immunoprecipitazione è stata studiata l'interazione tra queste proteine, fattori trascrizionali coinvolti nella sopravvivenza e markers di apoptosi. Per il recupero funzionale è stata analizzata la morfologia tramite microscopia elettronica e delle proteine sarcomeriche per le cellule muscolari. L'espressione proteica, l'interazione proteica e la localizzazione cellulare è stata valutata mediante western blotting, immunoprecipitazione e immunofluorescenza.

I risultati consentiranno di individuare indicatori del recupero di funzione nei miocardiociti e miociti danneggiati. In questo modo si potranno avere informazioni sia sul tipo di danno che sul meccanismo e i tempi di recupero. Infine, una volta individuate le molecole più importanti si potrà procedere ad una loro attivazione con lo scopo di accelerare il recupero stesso.

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 è responsabile attraverso l'attivazione di HIF dell'espressione di recettori delle allarmine. Questi, a loro volta attivano una risposta genica dipendente da NFkB, che si manifesta come una coordinata risposta riparativa infiammatoria (IRR). L'ipossia infatti induce due fenomeni:

a) Necrosi delle cellule che sono più distanti dai vasi del tessuto ospite. Il danno necrotico porta alla frammentazione della membrana plasmatica e al rilascio di allarmine o DAMPS (Damage-Associated Molecular Patterns).

b) Attivazione di HIF-1a con la nuova espressione genica, che permette alle cellule tumorali di sopravvivere, crescere e acquistare il fenotipo maligno. I risultati sperimentali dimostrano, tra l'altro, che l'attivazione di HIF-1a incrementa l'espressione dei recettori delle allarmine come RAGE (per HMGB1), P2X7 (per ATP/ADP), alcuni toll-like. Tutti questi recettori, quando stimolati dalle allarmine, attivano NFkB che a sua volta aumenta l'espressione di geni dell'IRR, inducendo così cambiamenti nelle proprietà biologiche delle cellule tumorali.

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

Lo studio si prefigge di:

- Studiare il ruolo di HIF1alfa NFkB e IRR nelle cellule tumorali.
- Identificare quali allarmine/DAMPs sono più efficaci nell'indurre la IRR.
- Identificare quale sottopopolazione di cellule tumorali si adatta più facilmente all'ipossia e attiva più facilmente la IRR. Gli effetti dell'ipossia e delle allarmine saranno studiati su queste popolazioni cellulari effettuando esperimenti descritti già nel secondo obiettivo.
- Esplorare in modelli sperimentali in vitro e in vivo il meccanismo di homing specifico delle cellule di cancro attivate dall'ipossia.
- Studiare la possibilità di bloccare o rallentare la progressione tumorale inibendo NFkB e/o HIF1a in vitro e in vivo.

Ci si aspetta di osservare in vitro diversi gradi di invasione a seconda del trattamento delle cellule tumorali o delle cellule bersaglio come descritto nei metodi. Inoltre, che il silenziamento di alcuni recettori permetterà di capirne il ruolo primario o secondario per la progressione tumorale.

Ci si aspetta che In vivo 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. Si potrà evidenziare che le metastasi formate dalle cellule tumorali potranno essere condizionate da un gradiente chemiochinico distante, legato per esempio, a infiammazioni

distrettuali, a un sito di necrosi, alla presenza di molecole di adesione/controrecettori costitutivi di un tessuto (polmone, osso, ecc.) , nel caso di organotropismo di alcuni tipi di metastasi.

Ci si aspetta pertanto da questi risultati, di poter predire il sito in cui le metastasi si formeranno.

Infine, poter fornire motivazioni precliniche alla strategia che l'inibizione di HIF-1alfa e NFkB potrebbe aiutare a bloccare/rallentare la progressione di un tumore e ridurre la formazione di metastasi con conseguente aumento della sopravvivenza.

Campioni di biopsie umane di carcinoma della vescica sono state sezionate (5µm) e sottoposte a laser capture microdissection (LCMD) per separare le cellule tumorali, da quelle peritumorali e da quelle del tessuto ospite normali. L'espressione di mRNA di 48 geni proinfiammatori (inflammocard) è stata studiata mediante Real-time PCR; l'espressione proteica di diversi fattori pro infiammatori quali P2X7, RAGE, COX2, NOS2, SOCS1, TLR2-3-4, e MMP2 è stata studiata mediante Western Blotting; l'attivazione di HIF1a and NF-kB è stata analizzata mediante western blotting o ELISA su frazioni cellulari citosoliche e nucleari. L'ipossia è stata ottenuta incubando le cellule in 1%O2 in una camera ipossica. Le CS/P sono state preparate da: Campioni chirurgici di tumori solidi umani: Le popolazioni CS/P sono state purificate e caratterizzate mediante analisi di citofluorimetria usando diversi markers. Per studiare gli effetti dell'ipossia sul guadagno di funzione delle MMPs, le linee cellulari MCF7, PC3 e BCPAP sono state trattate con estratti totali di membrane o con frazioni di essi. L'invasione cellulare è stata misurata mediante uno specifico kit della chemicon in grado di discriminare tra cellule che invadono e cellule che non invadono.

E' stata valutata l'aumentata abilità di migrare associata al trattamento ipossico e la conseguente overespressione di CXCR4 sulle linee cellulari sopra descritte. La migrazione cellulare è stata studiata mediante il "wound healing assay". L'homing delle cellule tumorali è stato studiato mediante: cocultura di cellule di cancro attivate da ipossia o di controllo e cellule HUVEC preattivate da LPS (0.3µg/ml) o un mix di citochine di tipo Th1 e Th2. Real-time PCR mediante inflammocard di RNA estratto da tessuto granuloso ottenuto da microdissezione. Per gli esperimenti in vivo: a) le cellule CS/P o tumorali isolate da biopsie o da linee cellulari attivate mediante ipossia sono iniettate in topi nudi. Successivamente viene valutato il numero e il tipo di metastasi formatesi. b) viene creato un sito usando rispettivamente batteri Gram+ o LPS o una ferita. Di nuovo, viene valutato il numero e il tipo di metastasi formatesi. Gli studi in vivo sono condotti in topi nudi (4-6 settimane) (Charles River Laboratories) le cellule sono precedentemente trasfettate con GFP. La formazione del tumore è studiata dopo iniezione sottocutanea. La formazione del tumore è seguita in vivo per 3-4 settimane mediante microscopio a fluorescenza. Iniezioni nella vena caudale permetteranno di osservare il pattern metastatico nei polmoni, nel cervello e i altri siti mediante immunisto chimica, RealTime-PCR e western blotting negli animali sacrificati.

I risultati dello studio consentiranno di suggerire le strategie per rallentare la progressione maligna e ridurre l'impatto devastante delle metastasi tumorali puntando al mantenimento del tumore primario o ad una sua riduzione.

Inoltre, vengono suggeriti trattamenti farmacologici volti a bloccare le risposte complesse scatenanti la progressione maligna (invasione, metastasi, alterazioni metaboliche, ecc.): adattamento all'ipossia e attivazione della risposta infiammatoria-riparativa.

PUBBLICAZIONI

Raparelli V, Romiti GF, Spugnardi V, Borgi M, Cangemi R, Basili S, Proietti M; The Eva Collaborative Group.

Gender-related determinants of adherence to the Mediterranean Diet in adults with ischemic heart disease.

Nutrients. 2020 Mar 13;12(3):759

The reasons behind low adherence to the Mediterranean diet (Med-diet) are still not entirely known. We aimed to evaluate the effect of biological (i.e., sex-related) and psycho-socio-cultural (i.e., gender-related) factors on Med-diet adherence.

Baseline Med-diet adherence was measured using a self-administered questionnaire among adults with ischemic heart disease (IHD) from the EVA (Endocrine Vascular Disease Approach) study. A multivariable analysis was performed to estimate the effect of sex- and gender-related factors (i.e., identity, roles, relations, and institutionalized gender) on low adherence.

Among 366 participants (66 ± 11 years, 31% women), 81 (22%) adults with low adherence demonstrated higher rates of diabetes, no smoking habit, lower male BSRI (Bem Sex Role Inventory) (median (IQR) 4.8 (4.1 to 5.5) vs. 5.1 (4.5 to 5.6) and $p = 0.048$), and higher Perceived Stress Scale 10 items (PSS-10) (median (IQR) 19 (11 to 23) vs. 15 (11 to 20) and $p = 0.07$) scores than those with medium-high adherence. In the multivariable analysis, only active smoking (odds ratio, OR = 2.10, 95% confidence interval, CI 1.14 to 3.85 and $p = 0.017$), PPS-10 (OR = 1.04, 95% CI 1.00 to 1.08, and $p = 0.038$) and male BSRI scores (OR = 0.70, 95% CI 0.52 to 0.95, and $p = 0.021$) were independently associated with low adherence.

Male personality traits and perceived stress (i.e., gender identity) were associated with low Med-diet adherence regardless of the sex, age, and comorbidities. Therefore, gender-sensitive interventions should be explored to improve adherence in IHD.

Ferroni P, Zanzotto FM, Scarpato N, Spila A, Fofi L, Egeo G, Rullo A, Palmirotta R, Barbanti P, Guadagni F.

Machine learning approach to predict medication overuse in migraine patients.

Comput Struct Biotechnol J. 2020 Jun 12;18:1487-1496.

Machine learning (ML) is largely used to develop automatic predictors in migraine classification but automatic predictors for medication overuse (MO) in migraine are still in their infancy. Thus, to understand the benefits of ML in MO prediction, we explored an automated predictor to estimate MO risk in migraine. To achieve this objective, a study was designed to analyze the performance of a customized ML-based decision support system that combines support vector machines and Random Optimization (RO-MO). We used RO-MO to extract prognostic information from demographic, clinical and biochemical data. Using a dataset of 777 consecutive migraine patients we derived a set of predictors with discriminatory power for MO higher than that observed for baseline SVM. The best four were incorporated into the final RO-MO decision support system and risk evaluation on a five-level stratification was performed. ROC analysis resulted in a c-statistic of 0.83 with a sensitivity and specificity of 0.69 and 0.87, respectively, and an accuracy of 0.87 when MO was predicted by at least three RO-MO models. Logistic regression analysis confirmed that the derived RO-MO system could effectively predict MO with ORs of 5.7 and 21.0 for patients classified as probably (3 predictors positive), or definitely at risk of MO (4 predictors positive), respectively. In conclusion, a combination of ML and RO - taking into consideration clinical/biochemical features, drug exposure and lifestyle - might represent a valuable approach to MO prediction in migraine and holds the potential for improving model precision through weighting the relative importance of attributes.

Santini D, Galvano A, Pantano F, Incorvaia L, Rizzo S, Vincenzi B, Castellana L, Giuliana G, Guadagni F, Toia F, Tonini G, Russo A, Badalamenti G, Bazan V.

How do skeletal morbidity rate and special toxicities affect 12-week versus 4-week schedule zoledronic acid efficacy? A systematic review and a meta-analysis of randomized trials.

Crit Rev Oncol Hematol. 2019 Oct;142:68-75.

Zoledronic Acid is a bisphosphonate used in a 4-week schedule for the treatment of bone metastases. Some randomized trials supported its role also when administered every 12 weeks. We performed a systematic

review and a meta-analysis in order to evaluate the two different schedules in terms of skeletal morbidity rate (SMR), skeletal related events (SRE) and adverse events (AEs). Our results showed a clinical difference favouring the 12-week schedule in terms of AEs (RR 1.17, 95% CI 1.06-1.29). No significant differences were found for SMR (RR 0.97, 95% CI 0.84-1.13) and SRE (RR 1.02, 95% CI 0.89-1.16). Our findings support in clinical practice the 12-week schedule an alternative to the standard 4-week schedule in advanced breast and prostate cancer, in particular when the clinical comorbidities of the patients suggest a higher risk of renal failure or hypocalcaemia.

Morelli C, Formica V, Riondino S, Russo A, Ferroni P, Guadagni F, Roselli M.

Irinotecan or Oxaliplatin: which is the first move for the mate?

Curr Med Chem.2020 Oct 16. Epub ahead of print.

The aim of the present review is to discuss the potential link between RAS, BRAF and microsatellite instability (MSI) mutational patterns and chemotherapeutic agent efficacy [Irinotecan (IRI) vs. Oxaliplatin (OXA)], and how this can potentially influence the choice of the chemotherapy backbone.

Following a review of the research literature, all pertinent articles published in the core journals were selected for study. The inclusion criteria regarded relevant clinical and pre-clinical studies on the topic of interest (Relationship of OXA and IRI to KRAS/BRAF mutations and MSI).

Excision repair cross complementation group 1 (ERCC1) expression is inhibited by KRAS mutation, making tumor cells more sensitive to OXA. Results from OPUS, COIN and PRIME trials support that. No conclusive data are available for BRAF mutant population because of the small number of patients. Enhanced IRI cytotoxicity to MSI cell lines is due to the participation of some of the mismatch repair (MMR) components into various DNA repair processes and their role in maintenance of the pro-apoptotic effect of IRI and G2/M cell arrest.

OXA and IRI are indispensable drugs for mCRC treatment and their selection must be as careful as that of targeted agents. We suggest to take into consideration the interaction between known genomic alterations and OXA and IRI activity to personalize chemotherapy in mCRC patients.

Cellai F, Bonassi S, Cristaudo A, Bonotti A, Neri M, Ceppi M, Bruzzone M, Milić M, Munnia A, Peluso M.

Chromatographic detection of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine in leukocytes of asbestos exposed workers for assessing past and recent carcinogen exposures.

Diagnostics (Basel). 2020 Apr 21;10(4). pii: E239.

Asbestos fibers include a group of silicate minerals that occur in the environment and are widely employed in occupational settings. Asbestos exposure has been associated to various chronic diseases; such as pulmonary fibrosis; mesothelioma; and lung cancer; often characterized by a long period of latency. Underlying mechanisms that are behind the carcinogenic effect of asbestos have not been fully clarified. Therefore, we have conducted an epidemiological study to evaluate the relationship between 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-oxodG), one of the most reliable biomarkers of oxidative stress and oxidative DNA damage; and asbestos exposure in the peripheral blood of residents in Tuscany and Liguria regions; Italy; stratified by occupational exposure to this carcinogen. Levels of 8-oxodG were expressed such as relative adduct labeling (RAL); the frequency of 8-oxodG per 105 deoxyguanosine was significantly higher among exposed workers with respect to the controls; i.e., 3.0 ± 0.2 Standard Error (SE) in asbestos workers versus a value of 1.3 ± 0.1 (SE) in unexposed controls ($p < 0.001$). When the relationship with occupational history was investigated; significant higher levels of 8-oxodG were measured in current and former asbestos workers vs. healthy controls; 3.1 ± 0.3 (SE) and 2.9 ± 0.2 (SE), respectively. After stratification for occupational history; a significant 194% excess of adducts was found in workers with 10 or more years of past asbestos exposure ($p < 0.001$). 8-oxodG can be used for medical surveillance programs of cohorts of workers with past and recent exposures to carcinogens for the identification of subjects requiring a more intense clinical surveillance.

Fenech M, Holland N, Kirsch-Volders M, Knudsen LE, Wagner KH, Stopper H, Knasmueller S, Bolognesi C, El-Zein R, Bonassi S.

Micronuclei and disease -Report of HUMN project workshop at Rennes 2019 EEMGS conference.

Mutat Res. 2020 Feb - Mar;850-851:503133. Epub 2020 Jan 10. PubMed PMID: 32247551.

The "Micronuclei and Disease" workshop was organized by the HUMN Project consortium and hosted by the European Environmental Mutagen and Genomics Society at their annual meeting in Rennes, France, on 23 May 2019. The program of the workshop focused on addressing the emerging evidence linking micronucleus (MN) frequency to human disease. The first objective was to review what has been published and evaluate the level and quality of evidence for the connection between MN frequency and various diseases through all life stages. The second objective was to identify the knowledge gaps and what else needs to be done to determine the clinical utility of MN assays as predictors of disease risk and of prognosis when disease is active. Speakers at the workshop discussed the association of MN frequency with inflammation, infertility, pregnancy complications, obesity, diabetes, cardiovascular disease, kidney disease, cervical and bladder cancer, oral head and neck cancer, lung cancer, accelerated ageing syndromes, neurodegenerative diseases, and a road-map on how to utilise this knowledge was proposed. The outcomes of the workshop indicated that there are significant opportunities for translating the application of MN assays into clinical practice to improve disease prevention and risk management and to inform public health policy.

Azqueta A, Ladeira C, Giovannelli L, Boutet-Robinet E, Bonassi S, Neri M, Gajski G, Duthie S, Del Bo' C, Riso P, Koppen G, Basaran N, Collins A, Møller P.

Application of the comet assay in human biomonitoring: An hCOMET perspective.

Mutat Res. 2020 Jan - Mar;783:108288. Epub 2019 Nov 9. Review.

The comet assay is a well-accepted biomonitoring tool to examine the effect of dietary, lifestyle, environmental and occupational exposure on levels of DNA damage in human cells. With such a wide range of determinants for DNA damage levels, it becomes challenging to deal with confounding and certain factors are inter-related (e.g. poor nutritional intake may correlate with smoking status). This review describes the effect of intrinsic (i.e. sex, age, tobacco smoking, occupational exposure and obesity) and extrinsic (season, environmental exposures, diet, physical activity and alcohol consumption) factors on the level of DNA damage measured by the standard or enzyme-modified comet assay. Although each factor influences at least one comet assay endpoint, the collective evidence does not indicate single factors have a large impact. Thus, controlling for confounding may be necessary in a biomonitoring study, but none of the factors is strong enough to be regarded a priori as a confounder. Controlling for confounding in the comet assay requires a case-by-case approach. Inter-laboratory variation in levels of DNA damage and to some extent also reproducibility in biomonitoring studies are issues that have haunted the users of the comet assay for years. Procedures to collect specimens, and their storage, are not standardized. Likewise, statistical issues related to both sample-size calculation (before sampling of specimens) and statistical analysis of the results vary between studies. This review gives guidance to statistical analysis of the typically complex exposure, co-variate, and effect relationships in human biomonitoring studies.

Calabrò M, Mandelli L, Crisafulli C, Porcelli S, Albani D, Politis A, Papadimitriou GN, Di Nicola M, Janiri L, Colombo R, Martinotti G, Bellomo A, Vieta E, Bonassi S, Frustaci A, Ducci G, Landi S, Boccia S, Serretti A.

Correction to: Psychiatric disorders and SLC6A4 gene variants: possible effects on alcohol dependence and alzheimer's disease.

Mol Biol Rep. 2020 Mar;47(3):2415.

Calabrò M, Mandelli L, Crisafulli C, Porcelli S, Albani D, Politis A, Papadimitriou GN, Di Nicola M, Janiri L, Colombo R, Martinotti G, Bellomo A, Vieta E, Bonassi S, Frustaci A, Ducci G, Landi S, Boccia S, Serretti A.

Psychiatric disorders and SLC6A4 gene variants: possible effects on alcohol dependence and alzheimer's disease.

Mol Biol Rep. 2020 Jan;47(1):191-200. Epub 2019 Oct 8. Erratum in: Mol Biol Rep. 2020 Mar;47(3):2415.

Serotonergic system is one of the most important neurotransmission systems investigated in the field of psychiatry. Extensive evidence reveals how alterations of this system, and especially of the SLC6A4 gene, may be associated with psychiatric disorders. In this study we aimed to evaluate the pleiotropic nature of

SLC6A4 alterations and their association with the overall risk of brain diseases rather than disorder-specific. SLC6A4 variants, namely 5HTTLPR, STin2, rs2066713, rs25531, rs4251417, rs6354 and rs7224199 were investigated in 4 independent cohorts of subjects with specific psychiatric disorders, including Alcohol dependence disorder (ALC), Alzheimer disease (ALZ), Schizophrenia (SCZ) and Bipolar disorder (BPD). Other variables (biochemical parameters and Psychiatric scales scores) were also tested for association. SLC6A4 polymorphisms are not associated with the risk of developing major psychiatric disorders (SCZ and BPD); however some signals were detected in ALC (HTTLPR $pd = 9.25 \times 10^{-03}$, $pr = 7.24 \times 10^{-03}$; rs2066713 $pd = 6.35 \times 10^{-08}$; rs25531 $pd = 2.95 \times 10^{-02}$; rs4251417 $pd = 2.46 \times 10^{-03}$), and ALZ (rs6354 $pr = 1.22 \times 10^{-02}$; rs7224199 $pd = 1.00 \times 10^{-08}$, $pr = 2.65 \times 10^{-02}$) cohorts. Some associations were also observed on exploratory analyses. Our findings did not reveal any major influence on SCZ and BPD development; On the other hand, some alteration of the SLC6A4 sequence were associated with an increased risk of ALC and ALZ disorders, suggesting common pathways. The results of this study should be carefully interpreted since it suffers of some inherent limitations (e.g. cohort size, slight ethnic heterogeneity). Further analyses may provide better detail on the molecular processes behind SLC6A4 alterations.

Calabrò M, Porcelli S, Crisafulli C, Albani D, Kasper S, Zohar J, Souery D, Montgomery S, Mantovani V, Mendlewicz J, Bonassi S, Vieta E, Frustaci A, Ducci G, Landi S, Boccia S, Bellomo A, Di Nicola M, Janiri L, Colombo R, Benedetti F, Mandelli L, Fabbri C, Serretti A.
Genetic variants associated with psychotic symptoms across psychiatric disorders.
Neurosci Lett. 2020 Feb 16;720:134754. Epub 2020 Jan 13.

Ioannilli L, Ciccarone F, Ciriolo MR.
Adipose tissue and FoxO1: Bridging physiology and mechanisms.
Cells. 2020 Mar 31;9(4).

Forkhead box O class proteins (FoxOs) are expressed nearly in all tissues and are involved in different functions such as energy metabolism, redox homeostasis, differentiation, and cell cycle arrest. The plasticity of FoxOs is demonstrated by post-translational modifications that determine diverse levels of transcriptional regulations also controlled by their subcellular localization. Among the different members of the FoxO family, we will focus on FoxO1 in adipose tissue, where it is abundantly expressed and is involved in differentiation and transdifferentiation processes. The capability of FoxO1 to respond differently in dependence of adipose tissue subtype underlines the specific involvement of the transcription factor in energy metabolism and the "browning" process of adipocytes. FoxO1 can localize to nuclear, cytoplasm, and mitochondrial compartments of adipocytes responding to different availability of nutrients and source of reactive oxygen species (ROS). Specifically, fasted state produced-ROS enhance the nuclear activity of FoxO1, triggering the transcription of lipid catabolism and antioxidant response genes. The enhancement of lipid catabolism, in combination with ROS buffering, allows systemic energetic homeostasis and metabolic adaptation of white/beige adipocytes. On the contrary, a fed state induces FoxO1 to accumulate in the cytoplasm, but also in the mitochondria where it affects mitochondrial DNA gene expression. The importance of ROS-mediated signaling in FoxO1 subcellular localization and retrograde communication will be discussed, highlighting key aspects of FoxO1 multifaceted regulation in adipocytes.

Ciccarone F, Di Leo L, Lazzarino G, Maulucci G, Di Giacinto F, Tavazzi B, Ciriolo MR.
Aconitase 2 inhibits the proliferation of MCF-7 cells promoting mitochondrial oxidative metabolism and ROS/FoxO1-mediated autophagic response.
Br J Cancer. 2020 Jan;122(2):182-193.

Deregulation of the tricarboxylic acid cycle (TCA) due to mutations in specific enzymes or defective aerobic metabolism is associated with tumour growth. Aconitase 2 (ACO2) participates in the TCA cycle by converting citrate to isocitrate, but no evident demonstrations of its involvement in cancer metabolism have been provided so far.

Biochemical assays coupled with molecular biology, in silico, and cellular tools were applied to circumstantiate the impact of ACO2 in the breast cancer cell line MCF-7 metabolism. Fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM) of NADH was used to corroborate the changes in bioenergetics.

We showed that ACO2 levels are decreased in breast cancer cell lines and human tumour biopsies. We generated ACO2- overexpressing MCF-7 cells and employed comparative analyses to identify metabolic adaptations. We found that increased ACO2 expression impairs cell proliferation and commits cells to redirect pyruvate to mitochondria, which weakens Warburg-like bioenergetic features. We also demonstrated that the enhancement of oxidative metabolism was supported by mitochondrial biogenesis and FoxO1-mediated autophagy/mitophagy that sustains the increased ROS burst.

This work identifies ACO2 as a relevant gene in cancer metabolic rewiring of MCF-7 cells, promoting a different utilisation of pyruvate and revealing the potential metabolic vulnerability of ACO2-associated malignancies.

Ciccarone F, De Falco P, Ciriolo MR.

Aconitase 2 sensitizes MCF-7 cells to cisplatin eliciting p53-mediated apoptosis in a ROS-dependent manner.

Biochem Pharmacol. 2020 Aug 18;180:114202. Epub ahead of print.

Aconitase 2 (ACO2) belongs to the tricarboxylic acid (TCA) cycle, which represents a key metabolic hub for cellular metabolism that is frequently altered in cancer for satisfying bioenergetic and biosynthetic requirements of proliferating cells. The promotion of ACO2 activity in breast cancer cell lines was shown to slow down proliferation imposing a switch from aerobic glycolysis to oxidative metabolism. The alteration of metabolic pathways in cancer also impinges on the sensitivity to chemotherapeutic interventions. In this work, we evidence that the presence of ACO2 sensitizes cells to the treatment with the genotoxic agents cisplatin (CDDP) and doxorubicin activating the apoptotic cell death mechanism. This response was driven by the accumulation of reactive oxygen species (ROS) following both ACO2 overexpression and CDDP exposure that permit the stabilization/activation of p53 in nuclear and mitochondrial compartments. Collectively, our results highlight that in ACO2 overexpressing cells the promotion of mitochondrial metabolism accounts for increased ROS production that was buffered by p53 mitochondrial recruitment and autophagy induction. However, these systems are not able to counteract the CDDP-mediated oxidative stress that becomes the Achilles heel for increasing susceptibility to apoptotic cell death.

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

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

Oncogene. 2019 Mar;38(11):1860-1875. Epub 2018 Oct 26.

Metabolic reprogramming is a typical feature of cancer cells aimed at sustaining high-energetic demand and proliferation rate. Here, we report clear-cut evidence for decreased expression of the adipose triglyceride lipase (ATGL), the first and rate-limiting enzyme of triglyceride hydrolysis, in both human and mouse-induced hepatocellular carcinoma (HCC). We identified metabolic rewiring as major outcome of ATGL overexpression in HCC-derived cell lines. Indeed, ATGL slackened both glucose uptake/utilization and cell proliferation in parallel with increased oxidative metabolism of fatty acids and enhanced mitochondria capacity. We ascribed these ATGL-downstream events to the activity of the tumor-suppressor p53, whose protein levels-but not transcript-were upregulated upon ATGL overexpression. The role of p53 was further assessed by abrogation of the ATGL-mediated effects upon p53 silencing or in p53-null hepatocarcinoma Hep3B cells. Furthermore, we provided insights on the molecular mechanisms governed by ATGL in HCC cells, identifying a new PPAR- α /p300 axis responsible for p53 acetylation/accumulation. Finally, we highlighted that ATGL levels confer different susceptibility of HCC cells to common therapeutic drugs, with ATGL overexpressing cells being more resistant to glycolysis inhibitors (e.g., 2-deoxyglucose and 3-bromopyruvate), compared to genotoxic compounds. Collectively, our data provide evidence for a previously uncovered tumor-suppressor function of ATGL in HCC, with the outlined molecular mechanisms shedding light on new potential targets for anticancer therapy.

Innocenzi E, De Domenico E, Ciccarone F, Zampieri M, Rossi G, Cicconi R, Bernardini R, Mattei M, Grimaldi P.

Paternal activation of CB₂ cannabinoid receptor impairs placental and embryonic growth via an epigenetic mechanism.

The cannabinoid receptor type 2 (CB2) is the peripheral receptor for cannabinoids, involved in the homeostatic control of several physiological functions. Male mitotic germ cells express a high level of CB2, whose activation promotes their differentiation in both in vitro and in vivo experiments, controlling the correct progression of spermatogenesis. However, it remains elusive if CB2 activation in spermatogonia could affect reproductive success in terms of fertility and healthy pregnancy outcomes. In this study, we explored the effects of male CB2 activation on sperm number and quality and its influence on next generation health. We show that exposure of male mice to JWH-133, a selective CB2 agonist, decreased sperm count, impaired placental development and reduced offspring growth. These defects were associated with altered DNA methylation/hydroxymethylation levels at imprinted genes in sperm and conserved in placenta. Our findings reveal that paternal selective activation of CB2 alters the sperm epigenome and compromises offspring growth. This study demonstrates, for the first time, a new role of CB2 signaling in male gametes in causing epigenetic alterations that can be transmitted to the next generation by sperm, highlighting potential risks induced by recreational cannabinoid exposure.

Sandonà M, Consalvi S, Tucciarone L, De Bardi M, Scimeca M, Angelini DF, Buffa V, D'Amico A, Bertini ES, Cazzaniga S, Bettica P, Bouché M, Bongiovanni A, Puri PL, Saccone V.

HDAC inhibitors tune miRNAs in extracellular vesicles of dystrophic muscle-resident mesenchymal cells.

EMBO Rep. 2020 Sep 3;21(9):e50863. Epub 2020 Aug 5.

We show that extracellular vesicles (EVs) released by mesenchymal cells (i.e., fibro-adipogenic progenitors-FAPs) mediate microRNA (miR) transfer to muscle stem cells (MuSCs) and that exposure of dystrophic FAPs to HDAC inhibitors (HDACis) increases the intra-EV levels of a subset of miRs, which cooperatively target biological processes of therapeutic interest, including regeneration, fibrosis, and inflammation. Increased levels of miR-206 in EVs released by FAPs of muscles from Duchenne muscular dystrophy (DMD) patients or mdx mice exposed to HDACi are associated with enhanced regeneration and decreased fibrosis. Consistently, EVs from HDACi-treated dystrophic FAPs can stimulate MuSC activation and expansion ex vivo, and promote regeneration, while inhibiting fibrosis and inflammation of dystrophic muscles, upon intramuscular transplantation in mdx mice, in vivo. AntagomiR-mediated blockade of individual miRs reveals a specific requirement of miR-206 for EV-induced expansion of MuSCs and regeneration of dystrophic muscles, and indicates that cooperative activity of HDACi-induced miRs accounts for the net biological effect of these EVs. These data point to pharmacological modulation of EV content as novel strategy for therapeutic interventions in muscular dystrophies.

Nardi M, Baldelli S, Ciriolo MR, Costanzo P, Procopio A, Colica C.

Oleuropein Aglycone Peracetylated (3,4-DHPEA-EA(P)) Attenuates H₂O₂-Mediated Cytotoxicity in C2C12 Myocytes via Inactivation of p-JNK/p-c-Jun Signaling Pathway.

Molecules. 2020 Nov 23;25(22):5472.

Oleuropein, a glycosylated secoiridoid present in olive leaves, is known to be an important antioxidant phenolic compound. We studied the antioxidant effect of low doses of oleuropein aglycone (3,4-DHPEA-EA) and oleuropein aglycone peracetylated (3,4-DHPEA-EA(P)) in murine C2C12 myocytes treated with hydrogen peroxide (H₂O₂). Both compounds were used at a concentration of 10 μM and were able to inhibit cell death induced by the H₂O₂ treatment, with 3,4-DHPEA-EA(P) being more. Under our experimental conditions, H₂O₂ efficiently induced the phosphorylated-active form of JNK and of its downstream target c-Jun. We demonstrated, by Western blot analysis, that 3,4-DHPEA-EA(P) was efficient in inhibiting the phospho-active form of JNK. This data suggests that the growth arrest and cell death of C2C12 proceeds via the JNK/c-Jun pathway. Moreover, we demonstrated that 3,4-DHPEA-EA(P) affects the myogenesis of C2C12 cells; because MyoD mRNA levels and the differentiation process are restored with 3,4-DHPEA-EA(P) after treatment. Overall, the results indicate that 3,4-DHPEA-EA(P) prevents ROS-mediated degenerative process by functioning as an efficient antioxidant.

Martinelli S, Cordeddu V, Galosi S, Lanzo A, Palma E, Pannone L, Ciolfi A, Di Nottia M, Rizza T, Bocchinfuso G, Traversa A, Caputo V, Farrotti A, Carducci C, Bernardini L, Cogo S, Paglione M, Venditti M, Bentivoglio A, Ng J, Kurian MA, Civiero L, Greggio E, Stella L, Trettel F, Sciacaluga M, Roseti C, Carozzo R, Fucile S, Limatola C, Di Schiavi E, Tartaglia M, Leuzzi V.

Co-occurring WARS2 and CHRNA6 mutations in a child with a severe form of infantile parkinsonism.

Parkinsonism Relat Disord. 2020 Mar;72:75-79. Epub 2020 Feb 15.

The aim of the study is to investigate the molecular cause(s) underlying a severe form of infantile-onset parkinsonism and characterize functionally the identified variants.

A trio-based whole exome sequencing (WES) approach was used to identify the candidate variants underlying the disorder. In silico modeling, and in vitro and in vivo studies were performed to explore the impact of these variants on protein function and relevant cellular processes.

WES analysis identified biallelic variants in WARS2, encoding the mitochondrial tryptophanyl tRNA synthetase (mtTrpRS), a gene whose mutations have recently been associated with multiple neurological phenotypes, including childhood-onset, levodopa-responsive or unresponsive parkinsonism in a few patients. A substantial reduction of mtTrpRS levels in mitochondria and reduced OXPHOS function was demonstrated, supporting their pathogenicity. Based on the infantile-onset and severity of the phenotype, additional variants were considered as possible genetic modifiers. Functional assessment of a selected panel of candidates pointed to a de novo missense mutation in CHRNA6, encoding the $\alpha 6$ subunit of neuronal nicotinic receptors, which are involved in the cholinergic modulation of dopamine release in the striatum, as a second event likely contributing to the phenotype. In silico, in vitro (Xenopus oocytes and GH4C1 cells) and in vivo (C. elegans) analyses demonstrated the disruptive effects of the mutation on acetylcholine receptor structure and function.

Our findings consolidate the association between biallelic WARS2 mutations and movement disorders, and suggest CHRNA6 as a genetic modifier of the phenotype.

Cifelli P, Ruffolo G, De Felice E, Alfano V, van Vliet EA, Aronica E, Palma E.

Phytocannabinoids in Neurological Diseases: could they restore a physiological GABAergic transmission?

Int J Mol Sci. 2020 Jan 22;21(3).

γ -Aminobutyric acid type A receptors (GABAARs) are the main inhibitory mediators in the central nervous system (CNS). GABAARs are pentameric ligand gated ion channels, and the main subunit composition is usually $2\alpha 2\beta\gamma$, with various isotypes assembled within a set of 19 different subunits. The inhibitory function is mediated by chloride ion movement across the GABAARs, activated by synaptic GABA release, reducing neuronal excitability in the adult CNS. Several studies highlighted the importance of GABA-mediated transmission during neuro-development, and its involvement in different neurological and neurodevelopmental diseases, from anxiety to epilepsy. However, while it is well known how different classes of drugs are able to modulate the GABAARs function (benzodiazepines, barbiturates, neurosteroids, alcohol), up to now little is known about GABAARs and cannabinoids interaction in the CNS. Endocannabinoids and phytocannabinoids are lately emerging as a new class of promising drugs for a wide range of neurological conditions, but their safety as medication, and their mechanisms of action are still to be fully elucidated. In this review, we will focus our attention on two of the most promising molecules ($\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol; $\Delta 9$ -THC and cannabidiol; CBD) of this new class of drugs and their possible mechanism of action on GABAARs.

Ruffolo G, Cifelli P, Miranda-Lourenço C, De Felice E, Limatola C, Sebastião AM, Diógenes MJ, Aronica E, Palma E.

Rare diseases of neurodevelopment: maintain the mystery or use a dazzling tool for investigation? The case of Rett Syndrome.

Neuroscience. 2020 Jul 15;439:146-152. Epub 2019 Jun 21.

The investigation on neurotransmission function during normal and pathologic development is a pivotal component needed to understand the basic mechanisms underlying neurodevelopmental pathologies. To study these diseases, many animal models have been generated which allowed to face the limited availability

of human tissues and, as a consequence, most of the electrophysiology has been performed on these models of diseases. On the other hand, the technique of membrane microtransplantation in *Xenopus* oocytes allows the study of human functional neurotransmitter receptors thanks to the use of tissues from autopsies or surgeries, even in quantities that would not permit other kinds of functional studies. In this short article, we intend to underline how this technique is well-fit for the study of rare diseases by characterizing the electrophysiological properties of GABAA and AMPA receptors in Rett syndrome. For our purposes, we used both tissues from Rett syndrome patients and *Mecp2*-null mice, a well validated murine model of the same disease, in order to strengthen the solidity of our results through the comparison of the two. Our findings retrace previous results and, in the light of this, further argue in favor of Prof. Miledi's technique of membrane microtransplantation that proves itself a very useful tool of investigation in the field of neurophysiology. This article is part of a Special Issue entitled: Honoring Ricardo Miledi - outstanding neuroscientist of XX-XXI centuries.

Mandatori S, Pacella I, Marzolla V, Mammi C, Starace D, Padula F, Vitiello L, Armani A, Savoia C, Taurino M, De Zio D, Giampietri C, Piconese S, Cecconi F, Caprio M, Filippini A.

Altered tregs differentiation and impaired autophagy correlate to atherosclerotic disease.

Front Immunol. 2020 Mar 13;11:350.

Atherosclerosis is a progressive vascular disease representing the primary cause of morbidity and mortality in developed countries. Formerly, atherosclerosis was considered as a mere passive accumulation of lipids in blood vessels. However, it is now clear that atherosclerosis is a complex and multifactorial disease, in which the involvement of immune cells and inflammation play a key role. A variety of studies have shown that autophagy-a cellular catalytic mechanism able to remove injured cytoplasmic components in response to cellular stress-may be proatherogenic. So far, in this context, its role has been investigated in smooth muscle cells, macrophages, and endothelial cells, while the function of this catabolic protective process in lymphocyte functionality has been overlooked. The few studies carried out so far, however, suggested that autophagy modulation in lymphocyte subsets may be functionally related to plaque formation and development. Therefore, in this research, we aimed at better clarifying the role of lymphocyte subsets, mainly regulatory T cells (Tregs), in human atherosclerotic plaques and in animal models of atherosclerosis investigating the contribution of autophagy on immune cell homeostasis. Here, we investigate basal autophagy in a mouse model of atherosclerosis, apolipoprotein E (ApoE)-knockout (KO) mice, and we analyze the role of autophagy in driving Tregs polarization. We observed defective maturation of Tregs from ApoE-KO mice in response to tumor growth factor- β (TGF β). TGF β is a well-known autophagy inducer, and Tregs maturation defects in ApoE-KO mice seem to be related to autophagy impairment. In this work, we propose that autophagy underlies Tregs maturation, advocating that the study of this process in atherosclerosis may open new therapeutic strategies.

Shrivastava A, Marzolla V, Weidmann H, Caprio M, Tregouet DA, Zeller T, Karakas M.

Design and rationale of the ERA-CVD Consortium PREMEDI-CAD-Precision Medicine in Coronary Artery Disease.

Biomolecules. 2020 Jan 11;10(1).

Cardiovascular diseases (CVDs) comprise 45% of all deaths in Europe and causes 3.9 million deaths annually. Coronary artery disease (CAD) which includes myocardial infarction (MI) represents the most common form of CVD. A relevant proportion of MI cases seems preventable since reports claim that up to two-thirds of these patients exhibit symptoms suggestive for MI within 12 months prior to the acute MI event. An early identification of these at-risk subjects is necessary to manage an early and efficient treatment during the ischemic phase. The aim of the PREcision MEDicine in Coronary Artery Disease (PREMEDI-CAD) consortium is to apply a system medicine approach towards studying and identifying an ischemia specific 'biomarker signature' that improves the identification of individuals 'at-risk' for acute MI. The consortium will take an interdisciplinary and translational approach integrating knowledge from CAD epidemiology, imaging, bioinformatics, statistics and molecular biology, as well as existing phenotypic, blood-based and clinical biomarker data of distinct CAD and subclinical MI phenotypes. This biomarker signature will be validated through atherosclerosis-prone mouse models and human cohorts. The validated signature will be translated in a real-world clinical setting using an ongoing clinical trial comprising patients

with subclinical ischemia. The aim of the knowledge obtained from this project is to aid in early MI detection and reduce the mortality and morbidity rate in these at-risk MI individuals.

Oppi S, Nusser-Stein S, Blyszczuk P, Wang X, Jomard A, Marzolla V, Yang K, Velagapudi S, Ward LJ, Yuan XM, Geiger MA, Guillaumon AT, Othman A, Hornemann T, Rancic Z, Ryu D, Oosterveer MH, Osto E, Lüscher TF, Stein S.

Macrophage NCOR1 protects from atherosclerosis by repressing a pro-atherogenic PPAR γ signature.

Eur Heart J. 2020 Mar 1;41(9):995-1005.

Nuclear receptors and their cofactors regulate key pathophysiological processes in atherosclerosis development. The transcriptional activity of these nuclear receptors is controlled by the nuclear receptor corepressors (NCOR), scaffolding proteins that form the basis of large corepressor complexes. Studies with primary macrophages demonstrated that the deletion of Ncor1 increases the expression of atherosclerotic molecules. However, the role of nuclear receptor corepressors in atherogenesis is unknown.

We generated myeloid cell-specific Ncor1 knockout mice and crossbred them with low-density lipoprotein receptor (Ldlr) knockouts to study the role of macrophage NCOR1 in atherosclerosis. We demonstrate that myeloid cell-specific deletion of nuclear receptor corepressor 1 (NCOR1) aggravates atherosclerosis development in mice. Macrophage Ncor1-deficiency leads to increased foam cell formation, enhanced expression of pro-inflammatory cytokines, and atherosclerotic lesions characterized by larger necrotic cores and thinner fibrous caps. The immunometabolic effects of NCOR1 are mediated via suppression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) target genes in mouse and human macrophages, which lead to an enhanced expression of the CD36 scavenger receptor and subsequent increase in oxidized low-density lipoprotein uptake in the absence of NCOR1. Interestingly, in human atherosclerotic plaques, the expression of NCOR1 is reduced whereas the PPAR γ signature is increased, and this signature is more pronounced in ruptured compared with non-ruptured carotid plaques.

Our findings show that macrophage NCOR1 blocks the pro-atherogenic functions of PPAR γ in atherosclerosis and suggest that stabilizing the NCOR1-PPAR γ binding could be a promising strategy to block the pro-atherogenic functions of plaque macrophages and lesion progression in atherosclerotic patients.

Feraco A, Marzolla V, Scuteri A, Armani A, Caprio M.

Mineralocorticoid receptors in Metabolic Syndrome: from physiology to disease.

Trends Endocrinol Metab. 2020 Mar;31(3):205-217. Epub 2019 Dec 14.

Over the past decade, several studies have shown that activity of extra-renal mineralocorticoid receptors (MR) regulates vascular tone, adipogenesis, adipose tissue function, and cardiomyocyte contraction. In mice, abnormal activation of MR in the vasculature and in adipose tissue favors the occurrence of several components of the metabolic syndrome (MetS), such as hypertension, obesity, and glucose intolerance. Accordingly, high levels of aldosterone are associated with obesity and MetS in humans, suggesting that altered activation of aldosterone-MR system in extra-renal tissues leads to profound metabolic dysfunctions. In this context, in addition to the classical indications for heart failure and hypertension, MR antagonists (MRAs) nowadays represent a promising approach to tackle cardiovascular and metabolic disorders occurring in the MetS.

Moriconi E, Feraco A, Marzolla V, Infante M, Lombardo M, Fabbri A, Caprio M.

Neuroendocrine and metabolic effects of low-calorie and non-calorie sweeteners.

Front Endocrinol (Lausanne). 2020 Jul 16;11:444.

Since excessive sugar consumption has been related to the development of chronic metabolic diseases prevalent in the western world, the use of sweeteners has gradually increased worldwide over the last few years. Although low- and non-calorie sweeteners may represent a valuable tool to reduce calorie intake and prevent weight gain, studies investigating the safety and efficacy of these compounds in the short- and long-term period are scarce and controversial. Therefore, future studies will need to elucidate the potential beneficial and/or detrimental effects of different types of sweeteners on metabolic health (energy balance, appetite, body weight, cardiometabolic risk factors) in healthy subjects and patients with diabetes, obesity and metabolic syndrome. In this regard, the impact of different sweeteners on central nervous system, gut

hormones and gut microbiota is important, given the strong implications that changes in such systems may have for human health. The aim of this narrative review is to summarize the current evidence for the neuroendocrine and metabolic effects of sweeteners, as well as their impact on gut microbiota. Finally, we briefly discuss the advantages of the use of sweeteners in the context of very-low calorie ketogenic diets.

Marzolla V, Feraco A, Gorini S, Mammi C, Marrese C, Mularoni V, Boitani C, Lombès M, Kolkhof P, Ciriolo MR, Armani A, Caprio M.

The novel non-steroidal MR antagonist finerenone improves metabolic parameters in high-fat diet-fed mice and activates brown adipose tissue via AMPK-ATGL pathway.

FASEB J. 2020 Jul 30. Epub ahead of print.

Mineralocorticoid receptor antagonists (MRAs) are recommended for the treatment of heart failure and hypertension, mainly due to their natriuretic and anti-fibrotic mode of action. Rodent studies have shown that MRAs can prevent adverse metabolic consequences of obesity but an elucidation of underlying molecular mechanisms is missing. Here, we investigated metabolic effects of the novel non-steroidal MRA finerenone (FIN) in a mouse model of high-fat diet (HFD)-induced obesity and the signaling pathways activated by MR antagonism at level of interscapular brown adipose tissue (iBAT). C57BL/6J male mice were fed a normal diet or a HFD (with 60% kcal from fat) containing or not FIN for 3 months. Metabolic parameters, adipose tissue morphology, gene and protein expression analysis were assessed. We also used brown adipocyte cultures (T37i cells) to investigate the effects of FIN-mediated MR antagonism upon lipid and mitochondrial metabolism. HFD + FIN-treated mice showed improved glucose tolerance together with increased multilocularity and higher expression of thermogenic markers at the level of iBAT, without differences in white adipose depots, suggesting an iBAT-specific effect of FIN. Mechanistically, FIN increased activation of AMP-activated protein kinase which, in turn, stimulated adipose triglyceride lipase activation, with subsequent increased expression of uncoupling protein-1 in brown adipocytes.

Raffaelli W, Malafoglia V, Bonci A, Tenti M, Ilari S, Gremigni P, Iannuccelli C, Gioia C, Di Franco M, Mollace V, Vitiello L, Tomino C, Muscoli C.

Identification of MOR-Positive B Cell as possible innovative biomarker (MuLympho-Marker) for chronic pain diagnosis in patients with fibromyalgia and osteoarthritis diseases.

Int J Mol Sci. 2020 Feb 22;21(4).

Fibromyalgia (FM) diagnosis follows the American College of Rheumatology (ACR) criteria, based on clinical evaluation and written questionnaires without any objective diagnostic tool. The lack of specific biomarkers is a tragic aspect for FM and chronic pain diseases in general. Interestingly, the endogenous opioid system is close to the immune one because of the expression of opioid receptors on lymphocyte membrane. Here we analyzed the role of the Mu opioid receptor on B lymphocytes as a specific biomarker for FM and osteoarthritis (OA) patients. We enrolled three groups of females: FM patients, OA patients (chronic pain control group) and healthy subjects (pain-free negative control group). We collected blood samples to apply immunophenotyping analysis. Written tests were administered for psychological analysis. Data were statistically analyzed. Final results showed that the percentage of Mu-positive B cells were statistically lower in FM and OA patients than in pain-free subjects. A low expression of Mu-positive B cell was not associated with the psychological characteristics investigated. In conclusion, here we propose the percentage of Mu-positive B cells as a biological marker for an objective diagnosis of chronic pain suffering patients, also contributing to the legitimacy of FM as a truly painful disease.

Oppedisano F, Macrì R, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Maiuolo J, Bosco F, Nucera S, Caterina Zito M, Guarneri L, Scarano F, Nicita C, Coppoletta AR, Ruga S, Scicchitano M, Mollace R, Palma E, Mollace V.

The anti-inflammatory and antioxidant properties of n-3 PUFAs: their role in cardiovascular protection.

Biomedicines. 2020 Aug 25;8(9):306.

Polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs) are long-chain polyunsaturated fatty acids with 18, 20 or 22 carbon atoms, which have been found able to counteract cardiovascular diseases. Eicosapentaenoic acid (EPA) and

docosahexaenoic acid (DHA), in particular, have been found to produce both vaso- and cardio-protective response via modulation of membrane phospholipids thereby improving cardiac mitochondrial functions and energy production. However, antioxidant properties of n-3 PUFAs, along with their anti-inflammatory effect in both blood vessels and cardiac cells, seem to exert beneficial effects in cardiovascular impairment. In fact, dietary supplementation with n-3 PUFAs has been demonstrated to reduce oxidative stress-related mitochondrial dysfunction and endothelial cell apoptosis, an effect occurring via an increased activity of endogenous antioxidant enzymes. On the other hand, n-3 PUFAs have been shown to counteract the release of pro-inflammatory cytokines in both vascular tissues and in the myocardium, thereby restoring vascular reactivity and myocardial performance. Here we summarize the molecular mechanisms underlying the anti-oxidant and anti-inflammatory effect of n-3 PUFAs in vascular and cardiac tissues and their implication in the prevention and treatment of cardiovascular disease.

Carresi C, Gliozzi M, Musolino V, Scicchitano M, Scarano F, Bosco F, Nucera S, Maiuolo J, Macrì R, Ruga S, Oppedisano F, Zito MC, Guarnieri L, Mollace R, Tavernese A, Palma E, Bombardelli E, Fini M, Mollace V.

The effect of natural antioxidants in the development of Metabolic Syndrome: focus on bergamot polyphenolic fraction.

Nutrients. 2020 May 21;12(5):1504.

Metabolic syndrome (MetS) represents a set of clinical findings that include visceral adiposity, insulin-resistance, high triglycerides (TG), low high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels and hypertension, which is linked to an increased risk of developing type 2 diabetes mellitus (T2DM) and atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD). The pathogenesis of MetS involves both genetic and acquired factors triggering oxidative stress, cellular dysfunction and systemic inflammation process mainly responsible for the pathophysiological mechanism. In recent years, MetS has gained importance due to the exponential increase in obesity worldwide. However, at present, it remains underdiagnosed and undertreated. The present review will summarize the pathogenesis of MetS and the existing pharmacological therapies currently used and focus attention on the beneficial effects of natural compounds to reduce the risk and progression of MetS. In this regard, emerging evidence suggests a potential protective role of bergamot extracts, in particular bergamot flavonoids, in the management of different features of MetS, due to their pleiotropic anti-oxidative, anti-inflammatory and lipid-lowering effects.

Gliozzi M, Scarano F, Musolino V, Carresi C, Scicchitano M, Ruga S, Zito MC, Nucera S, Bosco F, Maiuolo J, Macrì R, Guarnieri L, Mollace R, Coppoletta AR, Nicita C, Tavernese A, Palma E, Muscoli C, Mollace V.

Role of TSPO/VDAC1 upregulation and matrix Metalloproteinase-2 localization in the dysfunctional myocardium of hyperglycaemic rats.

Int J Mol Sci. 2020 Oct 9;21(20):E7432.

Clinical management of diabetic cardiomyopathy represents an unmet need owing to insufficient knowledge about the molecular mechanisms underlying the dysfunctional heart. The aim of this work is to better clarify the role of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) isoforms and of translocator protein (TSPO)/voltage-dependent anion-selective channel 1 (VDAC1) modulation in the development of hyperglycaemia-induced myocardial injury. Hyperglycaemia was induced in Sprague-Dawley rats through a streptozocin injection (35 mg/Kg, i.p.). After 60 days, cardiac function was analysed by echocardiography. Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate NADPH oxidase and TSPO expression was assessed by immunohistochemistry. MMP-2 activity was detected by zymography. Superoxide anion production was estimated by MitoSOX™ staining. Voltage-dependent anion-selective channel 1 (VDAC-1), B-cell lymphoma 2 (Bcl-2), and cytochrome C expression was assessed by Western blot. Hyperglycaemic rats displayed cardiac dysfunction; this response was characterized by an overexpression of NADPH oxidase, accompanied by an increase of superoxide anion production. Under hyperglycaemia, increased expression of TSPO and VDAC1 was detected. MMP-2 downregulated activity occurred under hyperglycemia and this profile of activation was accompanied by the translocation of intracellular N-terminal truncated isoform of MMP-2 (NT-MMP-2) from mitochondria-associated membrane (MAM) into mitochondria. In the onset of diabetic cardiomyopathy, mitochondrial impairment in cardiomyocytes is characterized by the dysregulation of the

different MMP-2 isoforms. This can imply the generation of a "frail" myocardial tissue unable to adapt itself to stress.

Ilari S, Giancotti LA, Lauro F, Gliozzi M, Malafoglia V, Palma E, Tafani M, Russo MA, Tomino C, Fini M, Salvemini D, Mollace V, Muscoli C.

Natural antioxidant control of neuropathic pain-exploring the role of mitochondrial SIRT3 pathway.

Antioxidants (Basel). 2020 Nov 9;9(11):E1103.

Neuropathic pain is a chronic painful disease. Data have shown that reactive oxygen species (ROS) are implicated in chronic pain. Particularly, the enhanced ROS production alters the mitochondrial genome and proteome through the accumulation of lipid peroxidation products, such as 4-hydroxynonenal (4-HNE) and malondialdehyde (MDA). Sirtuin 3 (SIRT3) is a mitochondrial protein and its activity can reduce ROS levels by modulating key antioxidant enzymes, such as manganese superoxide dismutase (MnSOD). Here, we evaluated the role of SIRT3 in the maintenance of basal levels of ROS in a model of chronic constriction injury (CCI) of the sciatic nerve and the protective effects of a natural antioxidant, the bergamot polyphenolic fraction (BPF). Rats were exposed to CCI of the sciatic nerve in the presence or absence of BPF (25-75 mg/kg). Level of acetylation, post-translational modulation on cysteine residues of proteins by HNE and SIRT3 activation, were detected in the spinal cord through western blotting, WES methodology and enzymatic assays. Our results reported that SIRT3 carbonylation and therefore its inactivation contributes to mitochondrial MnSOD hyperacetylation during CCI induced neuropathic pain in rats. In particular, we have demonstrated a close relation between oxidative stress, hyperalgesia, allodynia and sirtuins inactivation reverted by BPF administration.

Maiuolo J, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Nucera S, Scicchitano M, Scarano F, Bosco F, Oppedisano F, Macrì R, Mollace V.

Environmental and nutritional "Stressors" and Oligodendrocyte dysfunction: role of mitochondrial and endoplasmic reticulum impairment.

Biomedicines. 2020 Nov 30;8(12):E553.

Oligodendrocytes are myelinating cells of the central nervous system which are generated by progenitor oligodendrocytes as a result of maturation processes. The main function of mature oligodendrocytes is to produce myelin, a lipid-rich multi-lamellar membrane that wraps tightly around neuronal axons, insulating them and facilitating nerve conduction through saltatory propagation. The myelination process requires the consumption a large amount of energy and a high metabolic turnover. Mitochondria are essential organelles which regulate many cellular functions, including energy production through oxidative phosphorylation. Any mitochondrial dysfunction impacts cellular metabolism and negatively affects the health of the organism. If the functioning of the mitochondria is unbalanced, the myelination process is impaired. When myelination has finished, oligodendrocyte will have synthesized about 40% of the total lipids present in the brain. Since lipid synthesis occurs in the cellular endoplasmic reticulum, the dysfunction of this organelle can lead to partial or deficient myelination, triggering numerous neurodegenerative diseases. In this review, the induced malfunction of oligodendrocytes by harmful exogenous stimuli has been outlined. In particular, the effects of alcohol consumption and heavy metal intake are discussed. Furthermore, the response of the oligodendrocyte to excessive mitochondrial oxidative stress and to the altered regulation of the functioning of the endoplasmic reticulum will be explored.

Maiuolo J, Mollace R, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Paone S, Scicchitano M, Macrì R, Nucera S, Bosco F, Scarano F, Zito MC, Ruga S, Tavernese A, Mollace V.

The contribution of endothelial dysfunction in systemic injury subsequent to SARS-Cov-2 infection.

Int J Mol Sci. 2020 Dec 6;21(23):9309.

SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) infection is associated, alongside with lung infection and respiratory disease, to cardiovascular dysfunction that occurs at any stage of the disease. This includes ischemic heart disease, arrhythmias, and cardiomyopathies. The common pathophysiological link between SARS-CoV-2 infection and the cardiovascular events is represented by coagulation

abnormalities and disruption of factors released by endothelial cells, which contribute in maintaining the blood vessels into an anti-thrombotic state. Thus, early alteration of the functionality of endothelial cells, which may be found soon after SARS-CoV-2 infection, seems to represent the major target of a SARS CoV-2 disease state and accounts for the systemic vascular dysfunction that leads to a detrimental effect in terms of hospitalization and death accompanying the disease. In particular, the molecular interaction of SARS-CoV-2 with the ACE2 receptor located in the endothelial cell surface, either at the pulmonary and systemic level, leads to early impairment of endothelial function, which, in turn, is followed by vascular inflammation and thrombosis of peripheral blood vessels. This highlights systemic hypoxia and further aggravates the vicious circle that compromises the development of the disease, leading to irreversible tissue damage and death of people with SARS CoV-2 infection. The review aims to assess some recent advances to define the crucial role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of vascular complications accompanying SARS-CoV-2 infection. In particular, the molecular mechanisms associated with the interaction of SARS CoV-2 with the ACE2 receptor located on the endothelial cells are highlighted to support its role in compromising endothelial cell functionality. Finally, the consequences of endothelial dysfunction in enhancing pro-inflammatory and pro-thrombotic effects of SARS-CoV-2 infection are assessed in order to identify early therapeutic interventions able to reduce the impact of the disease in high-risk patients.

Ilari S, Dagostino C, Malafoglia V, Lauro F, Giancotti LA, Spila A, Proietti S, Ventrice D, Rizzo M, Gliozzi M, Palma E, Guadagni F, Salvemini D, Mollace V, Muscoli C.

Protective effect of antioxidants in Nitric Oxide/COX-2 interaction during inflammatory pain: the role of Nitration.

Antioxidants (Basel). 2020 Dec16;9(12):E1284.

In clinical practice, inflammatory pain is an important, unresolved health problem, despite the utilization of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). In the last decade, different studies have proven that reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) are involved in the development and maintenance of inflammatory pain and hyperalgesia via the post-translation modification of key proteins, such as manganese superoxide dismutase (MnSOD). It is well-known that inducible cyclooxygenase 2 (COX-2) plays a crucial role at the beginning of the inflammatory response by converting arachidonic acid into proinflammatory prostaglandin PGE2 and then producing other proinflammatory chemokines and cytokines. Here, we investigated the impact of oxidative stress on COX-2 and prostaglandin (PG) pathways in paw exudates, and we studied how this mechanism can be reversed by using antioxidants during hyperalgesia in a well-characterized model of inflammatory pain in rats. Our results reveal that during the inflammatory state, induced by intraplantar administration of carrageenan, the increase of PGE2 levels released in the paw exudates were associated with COX-2 nitration. Moreover, we showed that the inhibition of ROS with Mn (III) tetrakis (4-benzoic acid) porphyrin(MnTBAP) antioxidant prevented COX-2 nitration, restored the PGE2 levels, and blocked the development of thermal hyperalgesia.

Mechelli R, Umeton R, Manfrè G, Romano S, Buscarinu MC, Rinaldi V, Bellucci G, Bigi R, Ferraldeschi M, Salvetti M, Ristori G.

Reworking GWAS data to understand the role of nongenetic factors in MS etiopathogenesis.

Genes (Basel). 2020 Jan 14;11(1).

Genome-wide association studies have identified more than 200 multiple sclerosis (MS)-associated loci across the human genome over the last decade, suggesting complexity in the disease etiology. This complexity poses at least two challenges: the definition of an etiological model including the impact of nongenetic factors, and the clinical translation of genomic data that may be drivers for new druggable targets. We reviewed studies dealing with single genes of interest, to understand how MS-associated single nucleotide polymorphism (SNP) variants affect the expression and the function of those genes. We then surveyed studies on the bioinformatic reworking of genome-wide association studies (GWAS) data, with aggregate analyses of many GWAS loci, each contributing with a small effect to the overall disease predisposition. These investigations uncovered new information, especially when combined with nongenetic factors having possible roles in the disease etiology. In this context, the interactome approach, defined as "modules of genes whose products are known to physically interact with environmental or human factors with plausible relevance for MS pathogenesis", will be reported in detail. For a future perspective, a polygenic risk score, defined as a cumulative risk derived from aggregating the contributions of many DNA

variants associated with a complex trait, may be integrated with data on environmental factors affecting the disease risk or protection.

Musella A, Fresegna D, Rizzo FR, Gentile A, De Vito F, Caioli S, Guadalupi L, Bruno A, Dolcetti E, Buttari F, Bullitta S, Vanni V, Centonze D, Mandolesi G.

'Prototypical' proinflammatory cytokine (IL-1) in multiple sclerosis: role in pathogenesis and therapeutic targeting.

Expert Opin Ther Targets. 2020 Jan;24(1):37-46.

It has been recognized for about 20 years that interleukin (IL)-1 signaling is implicated in Multiple Sclerosis (MS), a disabling, chronic, inflammatory and neurodegenerative disease of the central nervous system (CNS). Only recently, multifaceted roles of IL-1 emerged in MS pathophysiology as a result of both clinical and preclinical studies. Notably, drugs that directly target the IL-1 system have not been tested so far in MS. Recent studies in animal models, together with the development of ex vivo chimeric MS models, have disclosed a critical role for IL-1 not only at the peripheral level but also within the CNS. In the present review, we highlight the IL-1-dependent neuropathological aspects of MS, by providing an overview of the cells of the immune and CNS systems that respond to IL-1 signaling, and by emphasizing the subsequent effects on the CNS, from demyelinating processes, to synaptopathy, and excitotoxicity. Expert opinion: Drugs that act on the IL-1 system show a therapeutic potential in several autoinflammatory diseases and preclinical studies have highlighted the effects of these compounds in MS. We will discuss why anti-IL-1 therapies in MS have been neglected to date.

Farini D, Cesari E, Weatheritt RJ, La Sala G, Naro C, Pagliarini V, Bonvissuto D, Medici V, Guerra M, Di Pietro C, Rizzo FR, Musella A, Carola V, Centonze D, Blencowe BJ, Marazziti D, Sette C. *A Dynamic Splicing Program ensures proper synaptic connections in the developing cerebellum.*

Cell Rep. 2020 Jun 2;31(9):107703.

Tight coordination of gene expression in the developing cerebellum is crucial for establishment of neuronal circuits governing motor and cognitive function. However, transcriptional changes alone do not explain all of the switches underlying neuronal differentiation. Here we unveiled a widespread and highly dynamic splicing program that affects synaptic genes in cerebellar neurons. The motifs enriched in modulated exons implicated the splicing factor Sam68 as a regulator of this program. Sam68 controls splicing of exons with weak branchpoints by directly binding near the 3' splice site and competing with U2AF recruitment. Ablation of Sam68 disrupts splicing regulation of synaptic genes associated with neurodevelopmental diseases and impairs synaptic connections and firing of Purkinje cells, resulting in motor coordination defects, ataxia, and abnormal social behavior. These findings uncover an unexpectedly dynamic splicing regulatory network that shapes the synapse in early life and establishes motor and cognitive circuitry in the developing cerebellum.

Musella A, Gentile A, Guadalupi L, Rizzo FR, De Vito F, Fresegna D, Bruno A, Dolcetti E, Vanni V, Vitiello L, Bullitta S, Sanna K, Caioli S, Balletta S, Nencini M, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Centonze D, Mandolesi G.

Central modulation of selective Sphingosine-1-Phosphate Receptor 1 ameliorates experimental Multiple Sclerosis.

Cells. 2020 May 22;9(5):1290.

Future treatments of multiple sclerosis (MS), a chronic autoimmune neurodegenerative disease of the central nervous system (CNS), aim for simultaneous early targeting of peripheral immune function and neuroinflammation. Sphingosine-1-phosphate (S1P) receptor modulators are among the most promising drugs with both "immunological" and "non-immunological" actions. Selective S1P receptor modulators have been recently approved for MS and shown clinical efficacy in its mouse model, the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). Here, we investigated the anti-inflammatory/neuroprotective effects of ozanimod (RPC1063), a S1P1/5 modulator recently approved in the United States for the treatment of MS, by performing ex vivo studies in EAE brain. Electrophysiological experiments, supported by molecular and immunofluorescence analysis, revealed that ozanimod was able to dampen the EAE glutamatergic synaptic alterations, through attenuation of local inflammatory response driven by activated microglia and infiltrating

T cells, the main CNS-cellular players of EAE synaptopathy. Electrophysiological studies with selective S1P1 (AUY954) and S1P5 (A971432) agonists suggested that S1P1 modulation is the main driver of the anti-excitotoxic activity mediated by ozanimod. Accordingly, in vivo intra-cerebroventricular treatment of EAE mice with AUY954 ameliorated clinical disability. Altogether these results strengthened the relevance of S1P1 agonists as immunomodulatory and neuroprotective drugs for MS therapy.

Bruno A, Dolcetti E, Rizzo FR, Fresegna D, Musella A, Gentile A, De Vito F, Caioli S, Guadalupi L, Bullitta S, Vanni V, Balletta S, Sanna K, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Centonze D, Mandolesi G.

Inflammation-associated synaptic alterations as shared threads in depression and multiple sclerosis.

Front Cell Neurosci. 2020 Jun 23;14:169.

In the past years, several theories have been advanced to explain the pathogenesis of Major Depressive Disorder (MDD), a neuropsychiatric disease that causes disability in general population. Several theories have been proposed to define the MDD pathophysiology such as the classic "monoamine-theory" or the "glutamate hypothesis." All these theories have been recently integrated by evidence highlighting inflammation as a pivotal player in developing depressive symptoms. Proinflammatory cytokines have been indeed claimed to contribute to stress-induced mood disturbances and to major depression, indicating a widespread role of classical mediators of inflammation in emotional control. Moreover, during systemic inflammatory diseases, peripherally released cytokines circulate in the blood, reach the brain and cause anxiety, anhedonia, social withdrawal, fatigue, and sleep disturbances. Accordingly, chronic inflammatory disorders, such as the inflammatory autoimmune disease multiple sclerosis (MS), have been associated to higher risk of MDD, in comparison with overall population. Importantly, in both MS patients and in its experimental mouse model, Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE), the notion that depressive symptoms are reactive epiphenomenon to the MS pathology has been recently challenged by the evidence of their early manifestation, even before the onset of the disease. Furthermore, in association to such mood disturbance, inflammatory-dependent synaptic dysfunctions in several areas of MS/EAE brain have been observed independently of brain lesions and demyelination. This evidence suggests that a fine interplay between the immune and nervous systems can have a huge impact on several neurological functions, including depressive symptoms, in different pathological conditions. The aim of the present review is to shed light on common traits between MDD and MS, by looking at inflammatory-dependent synaptic alterations associated with depression in both diseases.

Stampanoni Bassi M, Buttari F, Gilio L, De Paolis N, Fresegna D, Centonze D, Iezzi E.

Inflammation and corticospinal functioning in Multiple Sclerosis: A TMS perspective.

Front Neurol. 2020 Jul 7;11:566.

Dolcetti E, Bruno A, Guadalupi L, Rizzo FR, Musella A, Gentile A, De Vito F, Caioli S, Bullitta S, Fresegna D, Vanni V, Balletta S, Sanna K, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Centonze D, Mandolesi G.

Emerging role of extracellular vesicles in the pathophysiology of Multiple Sclerosis.

Int J Mol Sci. 2020 Oct 4;21(19):E7336.

Extracellular vesicles (EVs) represent a new reality for many physiological and pathological functions as an alternative mode of intercellular communication. This is due to their capacity to interact with distant recipient cells, usually involving delivery of the EVs contents into the target cells. Intensive investigation has targeted the role of EVs in different pathological conditions, including multiple sclerosis (MS). MS is a chronic inflammatory and neurodegenerative disease of the nervous system, one of the main causes of neurological disability in young adults. The fine interplay between the immune and nervous systems is profoundly altered in this disease, and EVs seems to have a relevant impact on MS pathogenesis. Here, we provide an overview of both clinical and preclinical studies showing that EVs released from blood-brain barrier (BBB) endothelial cells, platelets, leukocytes, myeloid cells, astrocytes, and oligodendrocytes are involved in the pathogenesis of MS and of its rodent model experimental autoimmune encephalomyelitis

(EAE). Most of the information points to an impact of EVs on BBB damage, on spreading pro-inflammatory signals, and altering neuronal functions, but EVs reparative function of brain damage deserves attention. Finally, we will describe recent advances about EVs as potential therapeutic targets and tools for therapeutic intervention in MS.

Freseigna D, Bullitta S, Musella A, Rizzo FR, De Vito F, Guadalupi L, Caioli S, Balletta S, Sanna K, Dolcetti E, Vanni V, Bruno A, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Mandolesi G, Centonze D, Gentile A.

Re-examining the role of TNF in MS pathogenesis and therapy.

Cells. 2020 Oct 14;9(10):2290.

Multiple sclerosis (MS) is a common neurological disorder of putative autoimmune origin. Clinical and experimental studies delineate abnormal expression of specific cytokines over the course of the disease. One major cytokine that has been shown to play a pivotal role in MS is tumor necrosis factor (TNF). TNF is a pleiotropic cytokine regulating many physiological and pathological functions of both the immune system and the central nervous system (CNS). Convincing evidence from studies in human and experimental MS have demonstrated the involvement of TNF in various pathological hallmarks of MS, including immune dysregulation, demyelination, synaptopathy and neuroinflammation. However, due to the complexity of TNF signaling, which includes two-ligands (soluble and transmembrane TNF) and two receptors, namely TNF receptor type-1 (TNFR1) and type-2 (TNFR2), and due to its cell- and context-differential expression, targeting the TNF system in MS is an ongoing challenge. This review summarizes the evidence on the pathophysiological role of TNF in MS and in different MS animal models, with a special focus on pharmacological treatment aimed at controlling the dysregulated TNF signaling in this neurological disorder.

Gentile A, De Vito F, Freseigna D, Rizzo FR, Bullitta S, Guadalupi L, Vanni V, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Leuti A, Chiurchiù V, Marfia GA, Mandolesi G, Centonze D, Musella A. *Peripheral T cells from multiple sclerosis patients trigger synaptotoxic alterations in central neurons.*

Neuropathol Appl Neurobiol. 2020 Feb;46(2):160-170.

The crucial step in the pathogenic events that lead to the development and the progression of multiple sclerosis (MS) is the infiltration of autoreactive T cells in the brain. Data from experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mice indicate that, together with microglia, T cells are responsible for the enhancement of the glutamatergic transmission in central neurons, contributing to glutamate-mediated excitotoxicity, a pathological hallmark of both EAE and MS brains. Here, we addressed the synaptic role of T cells taken from MS patients.

A chimeric model of human T cells and murine brain slices was established to record, by Patch Clamp technique, the glutamatergic transmission in the presence of T cells isolated from the peripheral blood of healthy subjects (HS), active (a) and nonactive (na) relapsing remitting MS patients. Intracellular staining and flow cytometry were used to assess tumour necrosis factor (TNF) expression in T cells.

Chimeric experiments indicated that, compared to HS and naMS, T cells from aMS induced an increase in glutamatergic kinetic properties of striatal neurons. Such alteration, reminiscent of the those induced by EAE T cells, was blocked by incubation of the slices with etanercept, a TNF receptor antagonist. Of note, T cells from aMS expressed more TNF than naMS patients and HS subjects.

These data highlight the synaptotoxic potential retained by MS T cells, suggesting that during the inflammatory phase of the disease infiltrating T cells could influence the neuronal activity contributing to the TNF-mediated mechanisms of glutamate excitotoxicity in central neurons.

Stampanoni Bassi M, Drulovic J, Pekmezovic T, Iezzi E, Sica F, Gilio L, Gentile A, Musella A, Mandolesi G, Furlan R, Finardi A, Marfia GA, Bellantonio P, Fantozzi R, Centonze D, Buttari F. *Cerebrospinal fluid inflammatory biomarkers predicting interferon-beta response in MS patients.* Ther Adv NeurolDisord. 2020 Dec 8;13:1756286420970833.

Interferon beta (IFN β) is a safe first-line drug commonly used for relapsing-remitting (RR)-MS. Nevertheless, a considerable proportion of patients do not respond to IFN β treatment. Therefore, until now, a number of studies have investigated various markers that could predict the patients who would respond to

IFN β therapy. The objective of this study was to identify reliable biomarkers to predict the efficacy of IFN β treatment in MS.

In a group of 116 patients with clinically isolated syndrome (CIS) and RR-MS, we explored the association between CSF detectability of a large set of proinflammatory and anti-inflammatory molecules at the time of diagnosis and response to IFN β after the first year of treatment. The absence of clinical relapses, radiological activity and disability progression (NEDA-3) was assessed at the end of 1-year follow up. The results were compared with those obtained in additional groups of CIS and RR-MS patients treated with other first-line drugs (dimethyl fumarate and glatiramer acetate).

CSF undetectability of macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α was the main predictor of reaching NEDA-3 status after 1 year of IFN β treatment. Moreover, detectable platelet-derived growth factor (PDGF) was associated with higher probability of reaching NEDA-3. Conversely, no associations with the CSF molecules were found in the two other groups of patients treated either with dimethyl fumarate or with glatiramer acetate.

MIP-1 α and PDGF could potentially represent suitable CSF biomarkers able to predict response to IFN β in MS.

Prezioso C, Marcocci ME, Palamara AT, De Chiara G, Pietropaolo V.

The "Three Italy" of the COVID-19 epidemic and the possible involvement of SARS-CoV-2 in triggering complications other than pneumonia.

J Neurovirol. 2020 Jun 16. Epub ahead of print.

Coronavirus disease 2019 (COVID-19), first reported in Wuhan, the capital of Hubei, China, has been associated to a novel coronavirus, the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). In March 2020, the World Health Organization declared the SARS-CoV-2 infection a global pandemic. Soon after, the number of cases soared dramatically, spreading across China and worldwide. Italy has had 12,462 confirmed cases according to the Italian National Institute of Health (ISS) as of March 11, and after the "lockdown" of the entire territory, by May 4, 209,254 cases of COVID-19 and 26,892 associated deaths have been reported. We performed a review to describe, in particular, the origin and the diffusion of COVID-19 in Italy, underlying how the geographical circulation has been heterogeneous and the importance of pathophysiology in the involvement of cardiovascular and neurological clinical manifestations.

Checconi P, De Angelis M, Marcocci ME, Fraternali A, Magnani M, Palamara AT, Nencioni L. Redox-modulating agents in the treatment of viral infections.

Int J Mol Sci. 2020 Jun 8;21(11):4084.

Viruses use cell machinery to replicate their genome and produce viral proteins. For this reason, several intracellular factors, including the redox state, might directly or indirectly affect the progression and outcome of viral infection. In physiological conditions, the redox balance between oxidant and antioxidant species is maintained by enzymatic and non-enzymatic systems, and it finely regulates several cell functions. Different viruses break this equilibrium and induce an oxidative stress that in turn facilitates specific steps of the virus lifecycle and activates an inflammatory response. In this context, many studies highlighted the importance of redox-sensitive pathways as novel cell-based targets for therapies aimed at blocking both viral replication and virus-induced inflammation. In the review, we discuss the most recent findings in this field. In particular, we describe the effects of natural or synthetic redox-modulating molecules in inhibiting DNA or RNA virus replication as well as inflammatory pathways. The importance of the antioxidant transcription factor Nrf2 is also discussed. Most of the data reported here are on influenza virus infection. We believe that this approach could be usefully applied to fight other acute respiratory viral infections characterized by a strong inflammatory response, like COVID-19.

Sabatino M, Fabiani M, Božović M, Garzoli S, Antonini L, Marcocci ME, Palamara AT, De Chiara G, Ragno R.

Experimental data based machine learning classification models with predictive ability to select in vitro active antiviral and non-toxic essential oils.

Molecules. 2020 May 25;25(10):2452.

In the last decade essential oils have attracted scientists with a constant increase rate of more than 7% as witnessed by almost 5000 articles. Among the prominent studies essential oils are investigated as antibacterial agents alone or in combination with known drugs. Minor studies involved essential oil inspection as potential anticancer and antiviral natural remedies. In line with the authors previous reports the investigation of an in-house library of extracted essential oils as a potential blocker of HSV-1 infection is reported herein. A subset of essential oils was experimentally tested in an in vitro model of HSV-1 infection and the determined IC₅₀s and CC₅₀s values were used in conjunction with the results obtained by gas-chromatography/mass spectrometry chemical analysis to derive machine learning based classification models trained with the partial least square discriminant analysis algorithm. The internally validated models were thus applied on untested essential oils to assess their effective predictive ability in selecting both active and low toxic samples. Five essential oils were selected among a list of 52 and readily assayed for IC₅₀ and CC₅₀ determination. Interestingly, four out of the five selected samples, compared with the potencies of the training set, returned to be highly active and endowed with low toxicity. In particular, sample CJM1 from *Calaminta nepeta* was the most potent tested essential oil with the highest selectivity index (IC₅₀ = 0.063 mg/mL, SI > 47.5). In conclusion, it was herein demonstrated how multidisciplinary applications involving machine learning could represent a valuable tool in predicting the bioactivity of complex mixtures and in the near future to enable the design of blended essential oil possibly endowed with higher potency and lower toxicity.

Marcocci ME, Napoletani G, Protto V, Kolesova O, Piacentini R, Li Puma DD, Lomonte P, Grassi C, Palamara AT, De Chiara G.

Herpes Simplex Virus-1 in the brain: the dark side of a sneaky infection.

Trends Microbiol. 2020 May 5. pii: S0966-842X(20)30074-3.

Herpes simplex virus-1 (HSV-1) establishes latency preferentially in sensory neurons of peripheral ganglia. A variety of stresses can induce recurrent reactivations of the virus, which spreads and then actively replicates to the site of primary infection (usually the lips or eyes). Viral particles produced following reactivation can also reach the brain, causing a rare but severe form of diffuse acute infection, namely herpes simplex encephalitis. Most of the time, this infection is clinically asymptomatic. However, it was recently correlated with the production and accumulation of neuropathological biomarkers of Alzheimer's disease. In this review we discuss the different cellular and molecular mechanisms underlying the acute and long-term damage caused by HSV-1 infection in the brain.

Prezioso C, Obregon F, Ambroselli D, Petrolo S, Checconi P, Rodio DM, Coppola L, Nardi A, Vito C, Sarmati L, Andreoni M, Palamara AT, Ciotti M, Pietropaolo V.

Merkel Cell Polyomavirus (MCPyV) in the context of immunosuppression: genetic analysis of Noncoding Control Region (NCCR) variability among a HIV-1-positive population.

Viruses. 2020 May 4;12(5).

Since limited data are available about the prevalence of Merkel cell polyomavirus (MCPyV) and the genetic variability of its noncoding control region (NCCR) in the context of immunosuppression, this study aimed to investigate the distribution of MCPyV in anatomical sites other than the skin and the behavior of NCCR among an HIV-1-positive population.

Urine, plasma, and rectal swabs specimens from a cohort of 66 HIV-1-positive patients were collected and subjected to quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) for MCPyV DNA detection. MCPyV-positive samples were amplified by nested PCR targeting the NCCR, and NCCRs alignment was carried out to evaluate the occurrence of mutations and to identify putative binding sites for cellular factors.

MCPyV DNA was detected in 10/66 urine, in 7/66 plasma, and in 23/66 rectal samples, with a median value of 5×10^2 copies/mL, 1.5×10^2 copies/mL, and 2.3×10^3 copies/mL, respectively. NCCR sequence analysis revealed a high degree of homology with the MCC350 reference strain in urine, whereas transitions, transversions, and single or double deletions were observed in plasma and rectal swabs. In these latter samples, representative GTT and GTTGA insertions were also observed. Search for putative binding sites of cellular transcription factors showed that in several strains, deletions, insertions, or single base substitutions altered the NCCR canonical configuration.

Sequencing analysis revealed the presence of numerous mutations in the NCCR, including insertions and deletions. Whether these mutations may have an impact on the pathogenic features of the virus remains to be

determined. qPCR measured on average a low viral load in the specimens analyzed, with the exception of those with the GTTGA insertion.

Prezioso C, Zingaropoli MA, Iannetta M, Rodio DM, Altieri M, Conte A, Vullo V, Ciardi MR, Palamara AT, Pietropaolo V.

Which is the best PML risk stratification strategy in natalizumab-treated patients affected by multiple sclerosis?

Mult Scler Relat Disord. 2020 Feb 13;41:102008. [Epub ahead of print]

The risk of progressive multifocal leukoencephalopathy (PML), a brain infection caused by John Cunningham virus (JCPyV), is the main limitation to the use of natalizumab, highly effective in the treatment of relapsing remitting multiple sclerosis (RRMS) patients. Establishing the PML risk against expected benefits represents an obligatory requirement of MS treatment algorithm. In order to achieve this goal, the aims of this study were to establish if JCPyV-DNA detection and non-coding control region (NCCR) arrangements could play a role of biomarkers, supporting anti-JCPyV antibodies measurement, actually the only parameter for PML risk stratification.

Thirty RRMS patients in treatment with natalizumab were enrolled. Urine and blood samples were collected according to this calendar: baseline (T0), 4 (T1), 8 (T2), 12 (T3), 16 (T4), 20 months (T5) after beginning of natalizumab therapy. After JCPyV DNA extraction, a specific quantitative-PCR (Q-PCR) and arrangements' analysis of NCCR and Viral Capsid Protein 1 (VP1) were carried out.

Q-PCR detected JCPyV DNA in urine and blood from baseline (T0) to 20 natalizumab infusions (T5), although JC viral load in urine was significantly higher compared to viremia, at all selected time points. A contextual analysis of the anti-JCPyV-antibodies versus JCPyV-DNA detection revealed that viral DNA preceded the antibodies' presence in the serum. During the first year of natalizumab treatment, sequences isolated from blood displayed an archetype JCPyV NCCR structure with the occurrence of point mutations, whereas after one year NCCR re-organizations were observed in plasma and PBMC with duplication of NF-1 binding site in box F, duplication of box C and partial or total deletion of box D. VP1 analysis showed the amino acid change mutation S269F in plasma and S267L in PBMC, involving the receptor-binding region of VP1. Phylogenetic analysis suggested a stability and a similarity across different isolates of the JCPyV VP1. We highly recommend considering JCPyV-DNA detection and NCCR re-organizations as viral biomarkers in order to accurately identify JCPyV-infected patients with a specific humoral response not yet detectable and to identify NCCR arrangements correlated with the onset of neurovirulent variants.

Scribano D, Sarshar M, Prezioso C, Lucarelli M, Angeloni A, Zagaglia C, Palamara AT, Ambrosi C.

d-Mannose treatment neither affects uropathogenic Escherichia coli properties nor induces stable FimH modifications.

Molecules. 2020 Jan 13;25(2). pii: E316. doi: 10.3390/molecules25020316. PubMed PMID: 31941080; PubMed Central PMCID: PMC7024335.

IF: 3,267 R

Urinary tract infections (UTIs) are mainly caused by uropathogenic Escherichia coli (UPEC). Acute and recurrent UTIs are commonly treated with antibiotics, the efficacy of which is limited by the emergence of antibiotic resistant strains. The natural sugar d-mannose is considered as an alternative to antibiotics due to its ability to mask the bacterial adhesin FimH, thereby preventing its binding to urothelial cells. Despite its extensive use, the possibility that d-mannose exerts "antibiotic-like" activity by altering bacterial growth and metabolism or selecting FimH variants has not been investigated yet. To this aim, main bacterial features of the prototype UPEC strain CFT073 treated with d-mannose were analyzed by standard microbiological methods. FimH functionality was analyzed by yeast agglutination and human bladder cell adhesion assays. Our results indicate that high d-mannose concentrations have no effect on bacterial growth and do not interfere with the activity of different antibiotics. d-mannose ranked as the least preferred carbon source to support bacterial metabolism and growth, in comparison with d-glucose, d-fructose, and l-arabinose. Since small glucose amounts are physiologically detectable in urine, we can conclude that the presence of d-mannose is irrelevant for bacterial metabolism. Moreover, d-mannose removal after long-term exposure did not alter FimH's capacity to bind to mannosylated proteins. Overall, our data indicate that d-mannose is a good alternative in the prevention and treatment of UPEC-related UTIs.

Hozhabri H, Picci Sparascio F, Sohrabi H, Mousavifar L, Roy R, Scribano D, De Luca A, Ambrosi C, Sarshar M.

The global emergency of novel Coronavirus (SARS-CoV-2): an update of the current status and forecasting.

Int J Environ Res Public Health. 2020 Aug 5;17(16):5648.

Over the past two decades, there have been two major outbreaks where the crossover of animal Betacoronaviruses to humans has resulted in severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) and Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). In December 2019, a global public health concern started with the emergence of a new strain of coronavirus (SARS-CoV-2 or 2019 novel coronavirus, 2019-nCoV) which has rapidly spread all over the world from its origin in Wuhan, China. SARS-CoV-2 belongs to the Betacoronavirus genus, which includes human SARS-CoV, MERS and two other human coronaviruses (HCoVs), HCoV-OC43 and HCoV-HKU1. The fatality rate of SARS-CoV-2 is lower than the two previous coronavirus epidemics, but it is faster spreading and the large number of infected people with severe viral pneumonia and respiratory illness, showed SARS-CoV-2 to be highly contagious. Based on the current published evidence, herein we summarize the origin, genetics, epidemiology, clinical manifestations, preventions, diagnosis and up to date treatments of SARS-CoV-2 infections in comparison with those caused by SARS-CoV and MERS-CoV. Moreover, the possible impact of weather conditions on the transmission of SARS-CoV-2 is also discussed. Therefore, the aim of the present review is to reconsider the two previous pandemics and provide a reference for future studies as well as therapeutic approaches.

Sarshar M, Scribano D, Ambrosi C, Palamara AT, Masotti A.

Fecal microRNAs as innovative biomarkers of intestinal diseases and effective players in host-microbiome interactions.

Cancers (Basel). 2020 Aug 5;12(8):2174.

Over the past decade, short non-coding microRNAs (miRNAs), including circulating and fecal miRNAs have emerged as important modulators of various cellular processes by regulating the expression of target genes. Recent studies revealed the role of miRNAs as powerful biomarkers in disease diagnosis and for the development of innovative therapeutic applications in several human conditions, including intestinal diseases. In this review, we explored the literature and summarized the role of identified dysregulated fecal miRNAs in intestinal diseases, with particular focus on colorectal cancer (CRC) and celiac disease (CD). The aim of this review is to highlight one fascinating aspect of fecal miRNA function related to gut microbiota shaping and bacterial metabolism influencing. The role of miRNAs as "messenger" molecules for inter kingdom communications will be analyzed to highlight their role in the complex host-bacteria interactions. Moreover, whether fecal miRNAs could open up new perspectives to develop novel suitable biomarkers for disease detection and innovative therapeutic approaches to restore microbiota balance will be discussed.

Sarshar M, Behzadi P, Ambrosi C, Zagaglia C, Palamara AT, Scribano D.

FimH and Anti-Adhesive Therapeutics: A Disarming Strategy Against Uropathogens.

Antibiotics (Basel). 2020 Jul 10;9(7):397.

Chaperone-usher fimbrial adhesins are powerful weapons against the uropathogens that allow the establishment of urinary tract infections (UTIs). As the antibiotic therapeutic strategy has become less effective in the treatment of uropathogen-related UTIs, the anti-adhesive molecules active against fimbrial adhesins, key determinants of urovirulence, are attractive alternatives. The best-characterized bacterial adhesin is FimH, produced by uropathogenic Escherichia coli (UPEC). Hence, a number of high-affinity mono- and polyvalent mannose-based FimH antagonists, characterized by different bioavailabilities, have been reported. Given that antagonist affinities are firmly associated with the functional heterogeneities of different FimH variants, several FimH inhibitors have been developed using ligand-drug discovery strategies to generate high-affinity molecules for successful anti-adhesion therapy. As clinical trials have shown d-mannose's efficacy in UTIs prevention, it is supposed that mannosides could be a first-in-class strategy not only for UTIs, but also to combat other Gram-negative bacterial infections. Therefore, the current review discusses valuable and effective FimH anti-adhesive molecules active against UTIs, from design and synthesis to in vitro and in vivo evaluations.

Marazzato M, Zicari AM, Aleandri M, Conte AL, Longhi C, Vitanza L, Bolognino V, Zagaglia C, De Castro G, Brindisi G, Schiavi L, De Vittori V, Reddel S, Quagliariello A, Del Chierico F, Putignani L, Duse M, Palamara AT, Conte MP.

16S Metagenomics reveals dysbiosis of nasal core microbiota in children with chronic nasal inflammation: role of adenoid hypertrophy and allergic rhinitis.

Front Cell Infect Microbiol. 2020 Sep 2;10:458.

Allergic rhinitis (AR) and adenoid hypertrophy (AH) are, in children, the main cause of partial or complete upper airway obstruction and reduction in airflow. However, limited data exist about the impact of the increased resistance to airflow, on the nasal microbial composition of children with AR and AH. Allergic rhinitis (AR) as well as adenoid hypertrophy (AH), represent extremely common pathologies in this population. Their known inflammatory obstruction is amplified when both pathologies coexist. In our study, the microbiota of anterior nares of 75 pediatric subjects with AR, AH or both conditions, was explored by 16S rRNA-based metagenomic approach. Our data show for the first time, that in children, the inflammatory state is associated to similar changes in the microbiota composition of AR and AH subjects respect to the healthy condition. Together with such alterations, we observed a reduced variability in the between-subject biodiversity on the other hand, these same alterations resulted amplified by the nasal obstruction that could constitute a secondary risk factor for dysbiosis. Significant differences in the relative abundance of specific microbial groups were found between diseased phenotypes and the controls. Most of these taxa belonged to a stable and quantitatively dominating component of the nasal microbiota and showed marked potentials in discriminating the controls from diseased subjects. A pauperization of the nasal microbial network was observed in diseased status in respect to the number of involved taxa and connectivity. Finally, while stable co-occurrence relationships were observed within both control- and diseases-associated microbial groups, only negative correlations were present between them, suggesting that microbial subgroups potentially act as maintainers of the eubiosis state in the nasal ecosystem. In the nasal ecosystem, inflammation-associated shifts seem to impact the more intimate component of the microbiota rather than representing the mere loss of microbial diversity. The discriminatory potential showed by differentially abundant taxa provide a starting point for future research with the potential to improve patient outcomes. Overall, our results underline the association of AH and AR with the impairment of the microbial interplay leading to unbalanced ecosystems.

Proto V, Tramutola A, Fabiani M, Marcocci ME, Napoletani G, Iavarone F, Vincenzoni F, Castagnola M, Perluigi M, Di Domenico F, De Chiara G, Palamara AT.

Multiple Herpes Simplex Virus-1 (HSV-1) reactivations induce protein oxidative damage in mouse brain: novel mechanisms for Alzheimer's disease progression.

Microorganisms. 2020 Jun 29;8(7):972.

Compelling evidence supports the role of oxidative stress in Alzheimer's disease (AD) pathophysiology. Interestingly, Herpes simplex virus-1 (HSV-1), a neurotropic virus that establishes a lifelong latent infection in the trigeminal ganglion followed by periodic reactivations, has been reportedly linked both to AD and to oxidative stress conditions. Herein, we analyzed, through biochemical and redox proteomic approaches, the mouse model of recurrent HSV-1 infection we previously set up, to investigate whether multiple virus reactivations induced oxidative stress in the mouse brain and affected protein function and related intracellular pathways. Following multiple HSV-1 reactivations, we found in mouse brains increased levels of oxidative stress hallmarks, including 4-hydroxynonenal (HNE), and 13 HNE-modified proteins whose levels were found significantly altered in the cortex of HSV-1-infected mice compared to controls. We focused on two proteins previously linked to AD pathogenesis, i.e., glucose-regulated protein 78 (GRP78) and collapsin response-mediated protein 2 (CRMP2), which are involved in the unfolded protein response (UPR) and in microtubule stabilization, respectively. We found that recurrent HSV-1 infection disables GRP78 function and activates the UPR, whereas it prevents CRMP2 function in mouse brains. Overall, these data suggest that repeated HSV-1 reactivation into the brain may contribute to neurodegeneration also through oxidative damage.

Li Puma DD, Marcocci ME, Lazzarino G, De Chiara G, Tavazzi B, Palamara AT, Piacentini R, Grassi C.

Ca²⁺-dependent release of ATP from astrocytes affects herpes simplex virus type 1 infection of neurons.

Glia. 2020 Aug 20. Epub ahead of print.

Astrocytes provide metabolic support for neurons and modulate their functions by releasing a plethora of neuroactive molecules diffusing to neighboring cells. Here we report that astrocytes also play a role in cortical neurons' vulnerability to Herpes simplex virus type-1 (HSV-1) infection through the release of extracellular ATP. We found that the interaction of HSV-1 with heparan sulfate proteoglycans expressed on the plasma membrane of astrocytes triggered phospholipase C-mediated IP₃-dependent intracellular Ca²⁺ transients causing extracellular release of ATP. ATP binds membrane purinergic P₂ receptors (P₂Rs) of both neurons and astrocytes causing an increase in intracellular Ca²⁺ concentration that activates the Glycogen Synthase Kinase (GSK)-3 β , whose action is necessary for HSV-1 entry/replication in these cells. Indeed, in co-cultures of neurons and astrocytes HSV-1-infected neurons were only found in proximity of infected astrocytes releasing ATP, whereas in the presence of fluorocitrate, an inhibitor of astrocyte metabolism, switching-off the HSV-1-induced ATP release, very few neurons were infected. The addition of exogenous ATP, mimicking that released by astrocytes after HSV-1 challenge, restored the ability of HSV-1 to infect neurons co-cultured with metabolically-inhibited astrocytes. The ATP-activated, P₂R-mediated, and GSK-3-dependent molecular pathway underlying HSV-1 infection is likely shared by neurons and astrocytes, given that the blockade of either P₂Rs or GSK-3 activation inhibited infection of both cell types. These results add a new layer of information to our understanding of the critical role played by astrocytes in regulating neuronal functions and their response to noxious stimuli including microbial agents via Ca²⁺-dependent release of neuroactive molecules.

Amatore D, Celestino I, Brundu S, Galluzzi L, Coluccio P, Checconi P, Magnani M, Palamara AT, Fraternali A, Nencioni L.

Glutathione increase by the n-butanoyl glutathione derivative (GSH-C4) inhibits viral replication and induces a predominant Th1 immune profile in old mice infected with influenza virus.

FASEB Bioadv. 2019 Mar 13;1(5):296-305.

During aging, glutathione (GSH) content declines and the immune system undergoes a deficiency in the induction of Th1 response. Reduced secretion of Th1 cytokines, which is associated with GSH depletion, could weaken the host defenses against viral infections. We first evaluated the concentration of GSH and cysteine in organs of old mice; then, the effect of the administration of the N-butanoyl GSH derivative (GSH-C4) on the response of aged mice infected with influenza A PR8/H1N1 virus was studied through the determination of GSH concentration in organs, lung viral titer, IgA and IgG1/IgG2a production, and Th1/Th2 cytokine profile. Old mice had lower GSH than young mice in organs. Also the gene expression of endoplasmic reticulum (ER) stress markers involved in GSH metabolism and folding of proteins, that is, Nrf2 and PDI, was reduced. Following infection, GSH content remained low and neither infection nor GSH-C4 treatment affected Nrf2 expression. In contrast, PDI expression was upregulated during infection and appeared counterbalanced by GSH-C4. Moreover, the treatment with GSH-C4 increased GSH content in organs, reduced viral replication and induced a predominant Th1 response. In conclusion, GSH-C4 treatment could be used in the elderly to contrast influenza virus infection by inducing immune response, in particular the Th1 profile.

Sarshar M, Scribano D, Tranquilli G, Di Pietro M, Filardo S, Zagaglia C, Sessa R, Palamara AT, Ambrosi C.

A simple, fast and reliable scan-based technique as a novel approach to quantify intracellular bacteria.

BMC Microbiol. 2019 Nov 12;19(1):252.

Quantification of intracellular bacteria is fundamental in many areas of cellular and clinical microbiology to study acute and chronic infections. Therefore, rapid, accurate and low-cost methods represent valuable tools in determining bacterial ability to persist and proliferate within eukaryotic cells.

Herein, we present the first application of the immunofluorescence In-Cell Western (ICW) assay aimed at quantifying intracellular bacteria in in vitro infection models. The performance of this new approach was evaluated in cell culture infection models using three microorganisms with different lifestyles. Two

facultative intracellular bacteria, the fast-growing *Shigella flexneri* and a persistent strain of *Escherichia coli*, as well as the obligate intracellular bacterium *Chlamydia trachomatis* were chosen as bacterial models. The ICW assay was performed in parallel with conventional quantification methods, i.e. colony forming units (CFUs) and inclusion forming units (IFUs). The fluorescence signal intensity values from the ICW assay were highly correlated to CFU/IFUs counting and showed coefficients of determination (R^2), ranging from 0,92 to 0,99.

The ICW assay offers several advantages including sensitivity, reproducibility, high speed, operator-independent data acquisition and overtime stability of fluorescence signals. All these features, together with the simplicity in performance, make this assay particularly suitable for high-throughput screening and diagnostic approaches.

Scribano D, Marzano V, Levi Mortera S, Sarshar M, Vernocchi P, Zagaglia C, Putignani L, Palamara AT, Ambrosi C.

Insights into the periplasmic proteins of Acinetobacter baumannii AB5075 and the impact of imipenem exposure: a proteomic approach.

Int J Mol Sci. 2019 Jul 13;20(14):3451.

Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains cause life-threatening infections due to the lack of therapeutic options. Although the main mechanisms underlying antibiotic-resistance have been extensively studied, the general response to maintain bacterial viability under antibiotic exposure deserves to be fully investigated. Since the periplasmic space contains several proteins with crucial cellular functions, besides carbapenemases, we decided to study the periplasmic proteome of the multidrug-resistant (MDR) *A. baumannii* AB5075 strain, grown in the absence and presence of imipenem (IMP). Through the proteomic approach, 65 unique periplasmic proteins common in both growth conditions were identified: eight proteins involved in protein fate, response to oxidative stress, energy metabolism, antibiotic-resistance, were differentially expressed. Among them, ABUW_1746 and ABUW_2363 gene products presented the tetratricopeptide repeat motif, mediating protein-protein interactions. The expression switch of these proteins might determine specific protein interactions to better adapt to changing environmental conditions. ABUW_2868, encoding a heat shock protein likely involved in protection against oxidative stress, was upregulated in IMP-exposed bacteria. Accordingly, the addition of periplasmic proteins from *A. baumannii* cultured with IMP increased bacterial viability in an antioxidant activity assay. Overall, this study provides the first insights about the composition of the periplasmic proteins of a MDR *A. baumannii* strain, its biological response to IMP and suggests possible new targets to develop alternative antibiotic drugs.

Bellet MM, Borghi M, Pariano M, Renga G, Stincardini C, D'Onofrio F, Brancorsini S, Garaci E, Costantini C, Romani L.

Thymosin alpha 1 exerts beneficial extrapulmonary effects in cystic fibrosis.

Eur J Med Chem. 2020 Oct 9;112921. Epub ahead of print.

Cystic fibrosis (CF) is an autosomal recessive disorder caused by mutations in the gene encoding for the ion channel Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR). Long considered a lung disease for the devastating impact on the respiratory function, the recent diagnostic and therapeutic advances have shed the light on the extra-pulmonary manifestations of CF, including gastrointestinal, hepatobiliary and pancreatic symptoms. We have previously demonstrated that thymosin alpha 1 ($T\alpha 1$), a naturally occurring immunomodulatory peptide, displays multi-sided beneficial effects in CF that concur in ameliorating the lung inflammatory pathology. In the present study, by resorting to murine models of gut inflammation with clinical relevance for CF patients, we demonstrate that $T\alpha 1$ can also have beneficial effects in extrapulmonary pathology. Specifically, $T\alpha 1$ restored barrier integrity and immune homeostasis in the inflamed gut of CF mice as well as in mice with the metabolic syndrome, a disorder that may arise in CF patients with high caloric intake despite pancreatic sufficiency. The protective effects of $T\alpha 1$ also extended to pancreas and liver, further emphasizing the beneficial effects of $T\alpha 1$ in extra-pulmonary complications of CF. By performing wide-ranging multi-organ anti-inflammatory effects, $T\alpha 1$ could potentially integrate current therapeutic approaches to tackle the complex symptomatology of CF disease.

Romani L, Tomino C, Puccetti P, Garaci E.

Off-label therapy targeting pathogenic inflammation in COVID-19.
Cell Death Discov. 2020 Jun 12;6:49.

Ambrosi C, Prezioso C, Checconi P, Scribano D, Sarshar M, Capannari M, Tomino C, Fini M, Garaci E, Palamara AT, De Chiara G, Limongi D.
SARS-CoV-2: Comparative analysis of different RNA extraction methods.
J Virol Methods. 2020 Nov 4;114008. Epub ahead of print.

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is the etiologic agent of the COVID-19 pandemic. Although other diagnostic methods have been introduced, detection of viral genes on oro- and nasopharyngeal swabs by reverse-transcription real time-PCR (rRT-PCR) assays is still the gold standard. Efficient viral RNA extraction is a prerequisite for downstream performance of rRT-PCR assays. Currently, several automatic methods that include RNA extraction are available. However, due to the growing demand, a shortage in kit supplies could be experienced in several labs. For these reasons, the use of different commercial or in-house protocols for RNA extraction may increase the possibility to analyze high number of samples. Herein, we compared the efficiency of RNA extraction of three different commercial kits and an in-house extraction protocol using synthetic ssRNA standards of SARS-CoV-2 as well as in oronasopharyngeal swabs from six COVID-19-positive patients. It was concluded that tested commercial kits can be used with some modifications for the detection of the SARS-CoV-2 genome by rRT-PCR approaches, although with some differences in RNA yields. Conversely, EXTRAzol reagent was the less efficient due to the phase separation principle at the basis of RNA extraction. Overall, this study offers alternative suitable methods to manually extract RNA that can be taken into account for SARS-CoV-2 detection.

Prezioso C, Bianchi M, Obregon F, Ciotti M, Sarmati L, Andreoni M, Palamara AT, Pascarella S, Moens U, Pietropaolo V.
Structural analysis of Merkel Cell Polyomavirus (MCPyV) Viral Capsid Protein 1 (VP1) in HIV-1 infected individuals.
Int J Mol Sci. 2020 Oct 27;21(21):7998.

Merkel cell polyomavirus (MCPyV) viral protein 1 (VP1) is the capsid protein that mediates virus attachment to host cell receptors and is the major immune target. Given the limited data on MCPyV VP1 mutations, the VP1 genetic variability was examined in 100 plasma and 100 urine samples from 100 HIV+ individuals. Sequencing of VP1 DNA in 17 urine and 17 plasma specimens, simultaneously MCPyV DNA positive, revealed that 27 samples displayed sequences identical to VP1 of MCC350 strain. VP1 from two urine specimens had either Thr47Ser or Ile115Phe substitution, whereas VP1 of one plasma contained Asp69Val and Ser251Phe substitutions plus deletion (Δ) of Tyr79. VP1 DNA in the remaining samples had mutations encoding truncated protein. Three-dimensional prediction models revealed that Asp69Val, Ser251Phe, and Ile115Phe caused neutral effects while Thr47Ser and Tyr79 Δ produced a deleterious effect reducing VP1 stability. A549 cells infected with urine or plasma samples containing full-length VP1 variants with substitutions, sustained viral DNA replication and VP1 expression. Moreover, medium harvested from these cells was able to infect new A549 cells. In cells infected by samples with truncated VP1, MCPyV replication was hampered. In conclusion, MCPyV strains with unique mutations in the VP1 gene are circulating in HIV+ patients. These strains display altered replication efficiency compared to the MCC350 prototype strain in A549 cells.

Fredolini C, Pathak KV, Paris L, Chapple KM, Tsantilas KA, Rosenow M, Tegeler TJ, Garcia-Mansfield K, Tamburro D, Zhou W, Russo P, Massarut S, Facchiano F, Belluco C, De Maria R, Garaci E, Liotta L, Petricoin EF, Pirrotte P.
Shotgun proteomics coupled to nanoparticle-based biomarker enrichment reveals a novel panel of extracellular matrix proteins as candidate serum protein biomarkers for early-stage breast cancer detection.
Breast Cancer Res. 2020 Dec 2;22(1):135.

The lack of specificity and high degree of false positive and false negative rates when using mammographic screening for detecting early-stage breast cancer is a critical issue. Blood-based molecular assays that could

be used in adjunct with mammography for increased specificity and sensitivity could have profound clinical impact. Our objective was to discover and independently verify a panel of candidate blood-based biomarkers that could identify the earliest stages of breast cancer and complement current mammographic screening approaches.

We used affinity hydrogel nanoparticles coupled with LC-MS/MS analysis to enrich and analyze low-abundance proteins in serum samples from 20 patients with invasive ductal carcinoma (IDC) breast cancer and 20 female control individuals with positive mammograms and benign pathology at biopsy. We compared these results to those obtained from five cohorts of individuals diagnosed with cancer in organs other than breast (ovarian, lung, prostate, and colon cancer, as well as melanoma) to establish IDC-specific protein signatures. Twenty-four IDC candidate biomarkers were then verified by multiple reaction monitoring (LC-MRM) in an independent validation cohort of 60 serum samples specifically including earliest-stage breast cancer and benign controls (19 early-stage (T1a) IDC and 41 controls).

In our discovery set, 56 proteins were increased in the serum samples from IDC patients, and 32 of these proteins were specific to IDC. Verification of a subset of these proteins in an independent cohort of early-stage T1a breast cancer yielded a panel of 4 proteins, ITGA2B (integrin subunit alpha IIb), FLNA (Filamin A), RAP1A (Ras-associated protein-1A), and TLN-1 (Talin-1), which classified breast cancer patients with 100% sensitivity and 85% specificity (AUC of 0.93).

Using a nanoparticle-based protein enrichment technology, we identified and verified a highly specific and sensitive protein signature indicative of early-stage breast cancer with no false positives when assessing benign and inflammatory controls. These markers have been previously reported in cell-ECM interaction and tumor microenvironment biology. Further studies with larger cohorts are needed to evaluate whether this biomarker panel improves the positive predictive value of mammography for breast cancer detection.

Renga G, Bellet MM, Pariano M, Gargaro M, Stincardini C, D'Onofrio F, Mosci P, Brancorsini S, Bartoli A, Goldstein AL, Garaci E, Romani L, Costantini C.

Thymosin $\alpha 1$ protects from CTLA-4 intestinal immunopathology.

Life Sci Alliance. 2020 Aug 14;3(10):e202000662.

The advent of immune checkpoint inhibitors has represented a major boost in cancer therapy, but safety concerns are increasingly being recognized. Indeed, although beneficial at the tumor site, unlocking a safeguard mechanism of the immune response may trigger autoimmune-like effects at the periphery, thus making the safety of immune checkpoint inhibitors a research priority. Herein, we demonstrate that thymosin $\alpha 1$ (T $\alpha 1$), an endogenous peptide with immunomodulatory activities, can protect mice from intestinal toxicity in a murine model of immune checkpoint inhibitor-induced colitis. Specifically, T $\alpha 1$ efficiently prevented immune adverse pathology in the gut by promoting the indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) 1-dependent tolerogenic immune pathway. Notably, T $\alpha 1$ did not induce IDO1 in the tumor microenvironment, but rather modulated the infiltration of T-cell subsets by inverting the ratio between CD8⁺ and Treg cells, an effect that may depend on T $\alpha 1$ ability to regulate the differentiation and chemokine expression profile of DCs. Thus, through distinct mechanisms that are contingent upon the context, T $\alpha 1$ represents a plausible candidate to improve the safety/efficacy profile of immune checkpoint inhibitors.

Leonardo Lupacchini, Fabrizio Maggi, Carlo Tomino, Chiara De Dominicis, Cristiana Mollinari, Massimo Fini, Stefano Bonassi, Daniela Merlo and Patrizia Russo.

Nicotine changes airway epithelial phenotype and may increase the SARS-COV-2 infection severity.

Molecules. 2020 Dec 28;26(1):101.

Nicotine is implicated in the SARS-COV-2 infection through activation of the $\alpha 7$ -nAChR and over-expression of ACE2. Our objective was to clarify the role of nicotine in SARS-CoV-2 infection exploring its molecular and cellular activity. (2) Methods: HBEPc or si-mRNA- $\alpha 7$ -HBEPc were treated for 1 h, 48 h or continuously with 10⁻⁷ M nicotine, a concentration mimicking human exposure to a cigarette. Cell viability and proliferation were evaluated by trypan blue dye exclusion and cell counting, migration by cell migration assay, senescence by SA- β -Gal activity, and anchorage-independent growth by cloning in soft agar. Expression of Ki67, p53/phospho-p53, VEGF, EGFR/pEGFR, phospho-p38, intracellular Ca²⁺, ATP and EMT were evaluated by ELISA and/or Western blotting. (3) Results: nicotine induced through $\alpha 7$ -nAChR (i) increase in cell viability, (ii) cell proliferation, (iii) Ki67 over-expression, (iv) phospho-p38 up-regulation,

(v) EGFR/pEGFR over-expression, (vi) increase in basal Ca²⁺ concentration, (vii) reduction of ATP production, (viii) decreased level of p53/phospho-p53, (ix) delayed senescence, (x) VEGF increase, (xi) EMT and consequent (xii) enhanced migration, and (xiii) ability to grow independently of the substrate. (4) Conclusions: Based on our results and on evidence showing that nicotine potentiates viral infection, it is likely that nicotine is involved in SARS-CoV-2 infection and severity.

Ferrari E, Cardinale A, Picconi B, Gardoni F.

From cell lines to pluripotent stem cells for modelling Parkinson's Disease.

J Neurosci Methods. 2020 Apr 18;340:108741. Epub ahead of print.

Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disorder characterized by loss of dopaminergic (DAergic) neurons in the substantia nigra (SN) that contributes to the main motor symptoms of the disease. At present, even if several advancements have been done in the last decades, the molecular and cellular mechanisms involved in the pathogenesis are far to be fully understood. Accordingly, the establishment of reliable in vitro experimental models to investigate the early events of the pathogenesis represents a key issue in the field. However, to mimic and reproduce in vitro the complex neuronal circuitry involved in PD-associated degeneration of DAergic neurons still remains a highly challenging issue. Here we will review the in vitro PD models used in the last 25 years of research, ranging from cell lines, primary rat or mice neuronal cultures to the more recent use of human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) and, finally, the development of 3D midbrain organoids.

Sciaccaluga M, Mazzocchetti P, Bastioli G, Ghiglieri V, Cardinale A, Mosci P, Caccia C, Keywood C, Melloni E, Padoani G, Vailati S, Picconi B, Calabresi P, Tozzi A.

Effects of safinamide on the glutamatergic striatal network in experimental Parkinson's disease. Neuropharmacology. 2020 Jun 15;170:108024. Epub 2020 Mar 3.

Aim of the study was to evaluate electrophysiological effects of safinamide on the intrinsic and synaptic properties of striatal spiny projection neurons (SPNs) and to characterize the possible therapeutic antiparkinsonian effect of this drug in dopamine (DA) denervated rats before and during levodopa (l-DOPA) treatment.

Current therapeutic options in Parkinson's disease (PD) are primarily DA replacement strategies that usually cause progressive motor fluctuations and l-DOPA-induced dyskinesia (LIDs) as a consequence of SPNs glutamate-induced hyperactivity. As a reversible and use-dependent inhibitor of voltage-gated sodium channels, safinamide reduces the release of glutamate and possibly optimize the effect of l-DOPA therapy in PD.

Electrophysiological effects of safinamide (1-100 μ M) were investigated by patch-clamp recordings in striatal slices of naïve, 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-lesioned DA-denervated rats and DA-denervated animals chronically treated with l-DOPA. LIDs were assessed in vivo with and without chronic safinamide treatment and measured by scoring the l-DOPA-induced abnormal involuntary movements (AIMs). Motor deficit was evaluated with the stepping test.

Safinamide reduced the SPNs firing rate and glutamatergic synaptic transmission in all groups, showing a dose-dependent effect with half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) values in the therapeutic range (3-5 μ M). Chronic co-administration of safinamide plus l-DOPA in DA-denervated animals favored the recovery of corticostriatal long-term synaptic potentiation (LTP) and depotentiation of excitatory synaptic transmission also reducing motor deficits before the onset of LIDs.

Safinamide, at a clinically relevant dose, optimizes the effect of l-DOPA therapy in experimental PD reducing SPNs excitability and modulating synaptic transmission. Co-administration of safinamide and l-DOPA ameliorates motor deficits.

Calabrese V, Di Maio A, Marino G, Cardinale A, Natale G, De Rosa A, Campanelli F, Mancini M, Napolitano F, Avallone L, Calabresi P, Usiello A, Ghiglieri V, Picconi B.

Rapamycin, by inhibiting mTORC1 signaling, prevents the loss of striatal bidirectional synaptic plasticity in a rat model of L-DOPA- Induced dyskinesia.

Front Aging Neurosci. 2020 Aug 11;12:230.

Levodopa (L-DOPA) treatment is the main gold-standard therapy for Parkinson disease (PD). Besides good antiparkinsonian effects, prolonged use of this drug is associated to the development of involuntary movements known as L-DOPA-induced dyskinesia (LID). L-DOPA-induced dyskinesia is linked to a sensitization of dopamine (DA) D1 receptors located on spiny projection neurons (SPNs) of the dorsal striatum. Several evidences have shown that the emergence of LID can be related to striatal D1/cAMP/PKA/DARPP-32 and extracellular signal-regulated kinases (ERK1/2) pathway overactivation associated to aberrant N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor function. In addition, within striatum, ERK1/2 is also able to modulate in a D1 receptor-dependent manner the activity of the mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) pathway under DA depletion and L-DOPA therapy. Consistently, increased mTORC1 signaling appears during chronic administration of L-DOPA and shows a high correlation with the severity of dyskinesia. Furthermore, the abnormal activation of the D1/PKA/DARPP-32 cascade is paralleled by increased phosphorylation of the GluA1 subunit of the α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptor at the PKA Ser845 site. The GluA1 promotes excitatory AMPA receptor-mediated transmission and may be implicated in the alterations found at the corticostriatal synapses of dyskinetic animals. In our study, we investigated the role of mTORC1 pathway activation in modulating bidirectional striatal synaptic plasticity in L-DOPA-treated parkinsonian rats. Inhibition of mTORC1 by coadministration of rapamycin to L-DOPA was able to limit the magnitude of LID expression, accounting for a therapeutic effect of this drug. In particular, behavioral data showed that, in L-DOPA-treated rats, rapamycin administration induced a selective decrease of distinct components of abnormal involuntary movements (i.e., axial and orolingual dyskinesia). Furthermore, ex vivo patch clamp and intracellular recordings of SPNs revealed that pharmacological inhibition of mTORC1 also resulted associated with a physiological bidirectional plasticity, when compared to dyskinetic rats treated with L-DOPA alone. This study uncovers the important role of mTORC1 inhibition to prevent the loss of striatal bidirectional plasticity under chronic L-DOPA treatment in rodent models of PD.

Marrocco J, Verhaeghe R, Bucci D, Di Menna L, Traficante A, Bouwalerh H, Van Camp G, Ghiglieri V, Picconi B, Calabresi P, Ravasi L, Cisani F, Bagheri F, Pittaluga A, Bruno V, Battaglia G, Morley-Fletcher S, Nicoletti F, Maccari S.

Maternal stress programs accelerated aging of the basal ganglia motor system in offspring. Neurobiol Stress. 2020 Nov 2;13:100265.

Early-life stress involved in the programming of stress-related illnesses can have a toxic influence on the functioning of the nigrostriatal motor system during aging. We examined the effects of perinatal stress (PRS) on the neurochemical, electrophysiological, histological, neuroimaging, and behavioral correlates of striatal motor function in adult (4 months of age) and old (21 months of age) male rats. Adult PRS offspring rats showed reduced dopamine (DA) release in the striatum associated with reductions in tyrosine hydroxylase-positive (TH+) cells and DA transporter (DAT) levels, with no loss of striatal dopaminergic terminals as assessed by positron emission tomography analysis with fluorine-18-l-dihydroxyphenylalanine. Striatal levels of DA and its metabolites were increased in PRS rats. In contrast, D2 DA receptor signaling was reduced and A2A adenosine receptor signaling was increased in the striatum of adult PRS rats. This indicated enhanced activity of the indirect pathway of the basal ganglia motor circuit. Adult PRS rats also showed poorer performance in the grip strength test and motor learning tasks. The aged PRS rats also showed a persistent reduction in striatal DA release and defective motor skills in the pasta matrix and ladder rung walking tests. In addition, the old rats showed large increases in the levels of SNAP-25 and synaptophysin, which are synaptic vesicle-related proteins in the striatum, and in the PRS group only, reductions in Syntaxin-1 and Rab3a protein levels were observed. Our findings indicated that the age-dependent threshold for motor dysfunction was lowered in PRS rats. This area of research is underdeveloped, and our study suggests that early-life stress can contribute to an increased understanding of how aging diseases are programmed in early-life.

Magrone T, Magrone M, Russo MA, Jirillo E.

Peripheral immunosenescence and central neuroinflammation: a dangerous liaison. A dietary approach.

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2020 Apr 6. Epub ahead of print.

Background & objectives: In old people, both innate and adaptive immune responses are impaired, thus leading to a condition of systemic inflamm-ageing, even including the involvement of the central nervous system (CNS).

Here, main mechanisms of the immune ageing and neuro-inflammation will be discussed along with the dietary approaches for the modulation of age related diseases.

Neuroinflammation is caused by the passage of inflammatory mediators through the brain blood barrier to CNS. Then, in the brain, antigenic stimulation of microglia and/or its activation by peripheral cytokines lead to a robust production of free radicals with another wave of proinflammatory cytokines which, in turn, causes massive neuronal damage. Also, infiltrating T cells [T helper (h) and T cytotoxic cells] contribute to neuronal damage. Additionally, a peripheral imbalance between inflammatory Th17 cells and anti-inflammatory T regulatory cells seems to be prevalent in the aged brain, thus leading to a proinflammatory profile. Alzheimer's disease, Parkinson's disease and multiple sclerosis will be described as typical neurodegenerative diseases. Finally, modulation of the immune response thanks to the anti-oxidant and anti-inflammatory effects exerted by dietary products and nutraceuticals in ageing will be discussed. Special emphasis will be placed on polyunsaturated fatty acids, polyphenols, micronutrients and pre-probiotics and synbiotics.

Ageing is characterized by an imbalance subversion of the immune system with a condition of inflamm-ageing. Neuroinflammation and neurodegenerative diseases seem to be a central manifestation of a peripheral perturbation of the immune machinery. Dietary products and nutraceuticals may lead to a down-regulation of the oxidative and pro-inflammatory profile in ageing.

Frustaci A, Scarpa M, Maria da Riolo R, Agrati C, Finato N, Verardo R, Grande C, Chimenti C, Nora C, Russo MA, Livi U.

Fabry cardiomyopathy: Gb3-induced auto-reactive panmyocarditis requiring heart transplantation. ESC Heart Fail. 2020 Jun;7(3):1331-1337. 2020 Apr 29. [Epub ahead of print]

Resistance to enzyme replacement therapy (ERT) is a major therapeutic challenge in Fabry disease (FD). Recent reports attribute to immune-mediated inflammation a main role in promoting disease progression and resistance to ERT. Aim of the study is to report a Gb3-induced auto-reactive panmyocarditis causing inefficacy of ERT and severe electrical instability, which required cardiac transplantation. Examining the explanted heart from a 57-year-old man with FD cardiomyopathy (CM) on 3-year ERT presenting incoming ventricular fibrillation, we documented a severe virus-negative myocarditis extended to cardiomyocytes, intramural coronary vessels, conduction tissue, and subepicardial ganglia. Serology was positive for anti-Gb3, anti-heart, and anti-myosin antibodies. In vitro Gb3 stimulation of patient's peripheral blood mononuclear cells (PBMC) induced high amount production of inflammatory cytokine IL1- β , IL-6, IL-8, and TNF- α . PBMC were stained using the monoclonal antibodies CD3-V500, CD4-V450, CD8-APCcy7, CD45RO-PerCPcy5.5 and CD27-FITC from BD Biosciences and CD56-PC7 from Beckman Coulter. The phenotypic analysis of PBMC showed a lower frequency of CD8 (9.2%) vs. 19.3% and NKT cells (1.6% vs. 2.4%) in Fabry patient respect to healthy donor, suggesting a possible homing to peripheral tissues. A Gb3-induced auto-reactive myocarditis is suggested as a possible cause of FDCM progression and ERT resistance. Immune-mediated inflammation of systemic Fabry cells may coexist and be controlled by implemental immunosuppressive therapy.

Papale M, Buccarelli M, Mollinari C, Russo MA, Pallini R, Ricci-Vitiani L, Tafani M.

Hypoxia, inflammation and necrosis as determinants of glioblastoma cancer stem cells progression. Int J Mol Sci . 2020 Apr 11;21(8):2660.

Tumor hypoxic microenvironment causes hypoxia inducible factor 1 alpha (HIF-1 α) activation and necrosis with alarmins release. Importantly, HIF-1 α also controls the expression of alarmin receptors in tumor cells that can bind to and be activated by alarmins. Human tumor tissues possess 1-2% of cancer stem cells (CSCs) residing in hypoxic niches and responsible for the metastatic potential of tumors. Our hypothesis is that hypoxic CSCs express alarmin receptors that can bind alarmins released during necrosis, an event favoring CSCs migration. To investigate this aspect, glioblastoma stem-like cell (GSC) lines were kept under hypoxia to determine the expression of hypoxic markers as well as receptor for advanced glycation end products (RAGE). The presence of necrotic extracts increased migration, invasion and cellular adhesion.

Importantly, HIF-1 α inhibition by digoxin or acriflavine prevented the response of GSCs to hypoxia alone or plus necrotic extracts. In vivo, GSCs injected in one brain hemisphere of NOD/SCID mice were induced to migrate to the other one in which a necrotic extract was previously injected. In conclusion, our results show that hypoxia is important not only for GSCs maintenance but also for guiding their response to external necrosis. Inhibition of hypoxic pathway may therefore represent a target for preventing brain invasion by glioblastoma stem cells (GSCs).

Pellegrini L, Sileno S, D'Agostino M, Foglio E, Florio MC, Guzzanti V, Russo MA, Limana F, Magenta A.

MicroRNAs in cancer treatment-induced cardiotoxicity.

Cancers (Basel). 2020 Mar 17;12(3).

Cancer treatment has made significant progress in the cure of different types of tumors. Nevertheless, its clinical use is limited by unwanted cardiotoxicity. Aside from the conventional chemotherapy approaches, even the most newly developed, i.e., molecularly targeted therapy and immunotherapy, exhibit a similar frequency and severity of toxicities that range from subclinical ventricular dysfunction to severe cardiomyopathy and, ultimately, congestive heart failure. Specific mechanisms leading to cardiotoxicity still remain to be elucidated. For instance, oxidative stress and DNA damage are considered key players in mediating cardiotoxicity in different treatments. microRNAs (miRNAs) act as key regulators in cell proliferation, cell death, apoptosis, and cell differentiation. Their dysregulation has been associated with adverse cardiac remodeling and toxicity. This review provides an overview of the cardiotoxicity induced by different oncologic treatments and potential miRNAs involved in this effect that could be used as possible therapeutic targets.

Magrone T, Jirillo E, Magrone M, Russo MA, Romita P, Massari F, Foti C.

Red grape polyphenol oral administration improves immune response in women affected by nickel-mediated allergic contact dermatitis.

Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2020 Mar 13. [Epub ahead of print]

Our previous findings demonstrated that in vitro supplementation of polyphenols, extracted from seeds of red grape (Nero di Troia cultivar), to peripheral lymphomonocytes from patients affected by allergic contact dermatitis (ACD) to nickel (Ni) could reduce the release of proinflammatory cytokines and nitric oxide (NO), while increasing the levels of interleukin (IL)-10, an anti-inflammatory cytokine.

To assess whether an intervention with oral administration of polyphenols leads to a reduction of peripheral biomarkers in ACD patients.

At T0, 25 patients affected by ACD to Ni were orally administered with 300 mg polyphenols prodie extracted from seeds of red grape (Nero di Troia cultivar) (NATUR-OX®) for 3 months (T1). The other 25 patients affected by ACD to Ni received placebo only for the same period of time. Serum biomarkers were analyzed at T0 and T1. In both groups, seven dropouts were recorded.

At T1 in comparison to T0, in treated patients, values of interferon- γ , IL-4, IL-17, pentraxin 3 and NO decreased, while IL-10 levels increased when compared with T0 values. Conversely, in placebo- treated patients, no modifications of biomarkers were evaluated at T1.

Present laboratory data rely on the anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic properties of polyphenols.

Pellegrini L, Foglio E, Pontemezzo E, Germani A, Russo MA, Limana F.

Cardiac Repair: the intricate crosstalk between the epicardium and the myocardium.

Curr Stem Cell Res Ther. 2020 Feb 18. [Epub ahead of print]

Substantial evidences support the hypothesis that the epicardium has a role in cardiac repair and regeneration in part providing, by epithelial to mesenchymal transition (EMT), progenitor cells that differentiate into cardiac cell types and in part releasing paracrine factors that contribute to cardiac repair. Besides cell contribution, a significant paracrine communication occurs between the epicardium and the myocardium that improves the whole regenerative response. Signaling pathways underlying this communication are multiple as well as soluble factors involved in cardiac repair and secreted both by myocardial and epicardial cells. Most recently, extracellular vesicles, i.e. exosomes, that accumulate in the pericardial fluid (PF) and are able

to transport bioactive molecules (cytosolic proteins, mRNAs, miRNAs and other non-coding RNAs), have been also identified as potential mediators of epicardial-mediated repair following myocardial injury. This mini-review provides an overview of the epicardial-myocardial signaling in regulating cardiac repair in ischemic heart diseases. Indeed, a detailed understanding of the crosstalk between myocardial and epicardial cells and how paracrine mechanisms are involved in the context of ischemic heart diseases would be of tremendous help in developing novel therapeutic approaches to promote cardiomyocytes survival and heart regeneration following myocardial infarction (MI).

Frustaci A, Russo MA, Sansone L, Francone M, Verardo R, Grande C, Alfarano M, Chimenti C. *Heart failure from Gouty myocarditis: a case report*. *Ann Intern Med*. 2020 Mar 3;172(5):363-365. Epub 2019 Dec 3.

Magrone T, Magrone M, Russo MA, Jirillo E. *Platelets: Angels and demons dancing on the immune stage. Nutrition conducts the orchestra*. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2020 Sep 1. Epub ahead of print.

Platelets are cellular fragments derived from bone-marrow megacaryocytes and they are mostly involved in haemostasis and coagulation. However, according to recent data, platelets are able to perform novel immune functions. In fact, they possess a receptorial armamentarium on their membrane for interacting with innate and adaptive immune cells. In addition, platelets also secrete granules which contain cytokines and chemokines for activating and recruiting even distant immune cells.

The participation of platelets in inflammatory processes will be discussed also in view of their dual role in terms of triggering or resolving inflammation. Involvement of platelets in disease will be illustrated, pointing to their versatile function to either up- or down-regulate pathological mechanisms. Finally, despite the availability of some anti-platelet agents, such as aspirin, dietary manipulation of platelet function is currently investigated. In this regard, special emphasis will be placed on dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and polyphenol effects on platelets.

Platelets play a dual role in inflammatory-immune-mediated diseases either activating or deactivating immune cells. Diet based on substances, such as omega-3 PUFAs and polyphenols, may act as a modulator of platelet function, even if more clinical trials are needed to corroborate such a contention.

Magrone T, Magrone M, Russo MA, Jirillo E. *Taking advantage of plant defense mechanisms to promote human health. The plant immune system. First of two parts*. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2020 Aug 31.

Despite the evidence that plants do not possess sessile cells, they are able to mount a vigorous immune response against invaders or under stressful conditions. Mechanisms of action: Plants are endowed with pattern recognition receptors (PPRs) which perceive damage-associated molecular patterns and microbe-associated molecular patterns or pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), respectively. PPR activation leads to either the initiation of PAMP-triggered immunity (PTI) (early response) or the effectortriggered immunity (ETI). Both PTI and ETI contribute to plant systemic acquired resistance as also an expression of immunological memory or trained immunity. Plant immune receptors: PTI is initiated by activation of both receptor-like kinases and receptor-like proteins, while ETI depends on nucleotide-binding leucine-rich-repeat protein receptors for microbe recognition. Peptides involved in plant defenses: Plant chloroplasts contribute to both PTI and ETI through production of peptides which act as hormones or phyto cytokines. Salicylic acid, jasmonic acid and ethylene are the major compounds involved in plant defense.

Magrone T, Russo MA, Jirillo E. *Impact of heavy metals on host cells: special focus on nickel-mediated pathologies and novel interventional approaches*. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2020;20(7):1041-1058.

Heavy metals [arsenic, aluminium, cadmium, chromium, cobalt, lead, nickel (Ni), palladium and titanium] are environmental contaminants able to impact with host human cells, thus, leading to severe damage.

In this review, the detrimental effects of several heavy metals on human organs will be discussed and special emphasis will be placed on Ni. In particular, Ni is able to interact with Toll-like receptor-4 on immune and non-immune cells, thus, triggering the cascade of pro-inflammatory cytokines. Then, inflammatory and allergic reactions mediated by Ni will be illustrated within different organs, even including the central nervous system, airways and the gastrointestinal system.

Different therapeutic strategies have been adopted to mitigate Ni-induced inflammatory/allergic reactions. In this context, the ability of polyphenols to counteract the inflammatory pathway induced by Ni on peripheral blood leukocytes from Ni-sensitized patients will be outlined. In particular, polyphenols are able to decrease serum levels of interleukin (IL)-17, while increasing levels of IL-10. These data suggest that the equilibrium between T regulatory cells and T helper 17 cells is recovered with IL-10 acting as an anti-inflammatory cytokine. In the same context, polyphenols reduced elevated serum levels of nitric oxide, thus, expressing their anti-oxidant potential. Finally, the carcinogenic potential of heavy metals, even including Ni, will be highlighted.

Heavy metals, particularly Ni, are spread in the environment. Nutritional approaches seem to represent a novel option in the treatment of Ni-induced damage and, among them, polyphenols should be taken into consideration for their anti-oxidant and anti-inflammatory activities.

Ilari, S.; Giancotti, L.A.; Lauro, F.; Gliozzi, M.; Malafoglia, V.; Palma, E.; Tafani, M.; Russo, M.A.; Tomino, C.; Fini, M.; Salvemini, D.; Mollace, V.; Muscoli, C.

Natural antioxidant control of neuropathic pain - Exploring the role of mitochondrial SIRT3 pathway.

Antioxidants 2020, 9, 1103.

Neuropathic pain is a chronic painful disease. Data have shown that reactive oxygen species (ROS) are implicated in chronic pain. Particularly, the enhanced ROS production alters the mitochondrial genome and proteome through the accumulation of lipid peroxidation products, such as 4-hydroxynonenal (4-HNE) and malondialdehyde (MDA). Sirtuin 3 (SIRT3) is a mitochondrial protein and its activity can reduce ROS levels by modulating key antioxidant enzymes, such as manganese superoxide dismutase (MnSOD). Here, we evaluated the role of SIRT3 in the maintenance of basal levels of ROS in a model of chronic constriction injury (CCI) of the sciatic nerve and the protective effects of a natural antioxidant, the bergamot polyphenolic fraction (BPF). Rats were exposed to CCI of the sciatic nerve in the presence or absence of BPF (25-75 mg/kg). Level of acetylation, post-translational modulation on cysteine residues of proteins by HNE and SIRT3 activation, were detected in the spinal cord through western blotting, WES methodology and enzymatic assays. Our results reported that SIRT3 carbonylation and therefore its inactivation contributes to mitochondrial MnSOD hyperacetylation during CCI induced neuropathic pain in rats. In particular, we have demonstrated a close relation between oxidative stress, hyperalgesia, allodynia and sirtuins inactivation reverted by BPF administration.

Albonici L, Benvenuto M, Focaccetti C, Cifaldi L, Miele MT, Limana F, Manzari V, Bei R.

PLGF Immunological impact during pregnancy.

Int J Mol Sci. 2020 Nov 18;21(22):E8714.

During pregnancy, the mother's immune system has to tolerate the persistence of paternal alloantigens without affecting the anti-infectious immune response. Consequently, several mechanisms aimed at preventing allograft rejection, occur during a pregnancy. In fact, the early stages of pregnancy are characterized by the correct balance between inflammation and immune tolerance, in which proinflammatory cytokines contribute to both the remodeling of tissues and to neo-angiogenesis, thus, favoring the correct embryo implantation. In addition to the creation of a microenvironment able to support both immunological privilege and angiogenesis, the trophoblast invades normal tissues by sharing the same behavior of invasive tumors. Next, the activation of an immunosuppressive phase, characterized by an increase in the number of regulatory T (Treg) cells prevents excessive inflammation and avoids fetal immuno-mediated rejection. When these changes do not occur or occur incompletely, early pregnancy failure follows. All these events are characterized by an increase in different growth factors and cytokines, among which one of the most

important is the angiogenic growth factor, namely placental growth factor (PlGF). PlGF is initially isolated from the human placenta. It is upregulated during both pregnancy and inflammation. In this review, we summarize current knowledge on the immunomodulatory effects of PlGF during pregnancy, warranting that both innate and adaptive immune cells properly support the early events of implantation and placental development. Furthermore, we highlight how an alteration of the immune response, associated with PlGF imbalance, can induce a hypertensive state and lead to the pre-eclampsia (PE).

Aventaggiato M, Vernucci E, Barreca F, Russo MA, Tafani M.

Sirtuins' control of autophagy and mitophagy in cancer.

Pharmacol Ther. 2020 Nov 24;107748. Epub ahead of print.

Mammalian cells use a specialized and complex machinery for the removal of altered proteins or dysfunctional organelles. Such machinery is part of a mechanism called autophagy. Moreover, when autophagy is specifically employed for the removal of dysfunctional mitochondria, it is called mitophagy. Autophagy and mitophagy have important physiological implications and roles associated with cellular differentiation, resistance to stresses such as starvation, metabolic control and adaptation to the changing microenvironment. Unfortunately, transformed cancer cells often exploit autophagy and mitophagy for sustaining their metabolic reprogramming and growth to a point that autophagy and mitophagy are recognized as promising targets for ongoing and future antitumoral therapies. Sirtuins are NAD⁺ dependent deacylases with a fundamental role in sensing and modulating cellular response to external stresses such as nutrients availability and therefore involved in aging, oxidative stress control, inflammation, differentiation and cancer. It is clear, therefore, that autophagy, mitophagy and sirtuins share many common aspects to a point that, recently, sirtuins have been linked to the control of autophagy and mitophagy. In the context of cancer, such a control is obtained by modulating transcription of autophagy and mitophagy genes, by post translational modification of proteins belonging to the autophagy and mitophagy machinery, by controlling ROS production or major metabolic pathways such as Krebs cycle or glutamine metabolism. The present review details current knowledge on the role of sirtuins, autophagy and mitophagy in cancer to then proceed to discuss how sirtuins can control autophagy and mitophagy in cancer cells. Finally, we discuss sirtuins role in the context of tumor progression and metastasis indicating glutamine metabolism as an example of how a concerted activation and/or inhibition of sirtuins in cancer cells can control autophagy and mitophagy by impinging on the metabolism of this fundamental amino acid.

LINEA 2

Clinica della disabilità

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Analisi della cinematica dell'arto superiore con Motion Capture durante il Box and Blocks test: dati normativi e da pazienti neurologici e pediatrici

Il deficit dell'arto superiore può derivare da una serie di differenti condizioni o patologie, tra le quali lo stroke, la Malattia di Parkinson, i disturbi muscolo-scheletrici, la paralisi cerebrale infantile, ecc.. Coloro che sono sottoposti a trattamento riabilitativo dell'arto superiore, sono generalmente valutati mediante scale funzionali e motorie (Murphy et al., 2015; Platz et al., 2005) al fine di caratterizzare l'efficacia di una specifica terapia o l'evoluzione della patologia nel tempo. Tipicamente vengono valutate le prestazioni relative ad attività di vita quotidiana (ADL), alla destrezza ed alla forza. Esistono numerosi test validati per valutare persone con disabilità dell'arto superiore. Tuttavia, questi test clinici valutano parzialmente il gesto motorio ed ignorano la qualità del movimento eseguito dal soggetto durante l'esecuzione del task, ovvero incorporano tale qualità in un unico fattore qualitativo.

Un modo per eseguire un'analisi dettagliata del gesto motorio è attraverso l'uso dell'analisi strumentata del movimento che consente l'analisi quantitativa e oggettiva di come e quanto i segmenti corporei si muovono l'uno rispetto all'altro in un sistema di riferimento globale (analisi della cinematica). Tale analisi viene tipicamente effettuata con sistemi stereofotogrammetrici (Motion Capture - MoCap) basati su marker riflettenti e telecamere ad infrarosso ad alta risoluzione (Cappozzo et al., 2005). Un'altra tipologia di strumentazione per l'analisi della cinematica del movimento è basata sull'impiego di sensori inerziali (accelerometri e giroscopi) che consentono di misurare accelerazione e orientamento dei segmenti corporei a cui sono applicati: Inertial Measurement Units (IMU). Caratteristiche dei sistemi IMU sono (Zhou et al., 2008):

- una buona capacità di rilevare la posizione e orientamento (errore quadratico medio di posizione < 0.01 mm e di angolo compreso tra 2.5 e 4.8°, confrontandolo con il MoCap); possibilità di utilizzarlo in ambiente ecologico (fuori dal laboratorio di analisi del movimento);
- semplice applicazione dei sensori (attraverso fasce con velcro sopra l'abbigliamento del paziente, a differenza della MoCap dove i marker sono applicati sulla pelle);
- maggiore facilità di utilizzo. Tali caratteristiche rendono il sistema IMU utilizzabile in alternativa alla MoCap per l'analisi del movimento dell'arto superiore.

Diversi studi hanno dimostrato l'utilità della MoCap e degli IMU per analizzare i movimenti degli arti superiori in pazienti con stroke (Cruz et al., 2014; Li et al., 2016), sclerosi multipla (Carpinella et al. 2014), Parkinson (Hoffman & McNames 2011), o durante ADL (Gates et al., 2016). Tuttavia, solo pochi recenti studi hanno tentato di strumentare test clinici per l'arto superiore al fine di analizzare la cinematica del movimento durante l'esecuzione di task motori ciclici e ripetibili (Hebert, 2014; Kontson et al., 2017).

Il progetto ha come obiettivo la definizione del "Box and Blocks" test (BBT) strumentato per la valutazione oggettiva della cinematica articolare dell'arto superiore su soggetti sani. Successivamente alla definizione di dati normativi caratteristici del gesto, lo studio ha come obiettivo la caratterizzazione del movimento dell'arto superiore patologico in persone con Malattia di Parkinson, confrontando i dati ottenuti rispetto ai dati normativi.

L'obiettivo primario dello studio è la standardizzazione della valutazione strumentale dell'arto superiore. E l'analisi della cinematica dell'arto superiore durante il BBT e valutazione di soggetti sani e di soggetti con Malattia di Parkinson.

Obiettivi secondari dello studio sono:

1. definizione di un protocollo di analisi della cinematica dell'arto superiore durante il BBT;

2. definizione di un protocollo di analisi della cinematica dell'arto superiore durante il BBT;
3. standardizzazione del BBT strumentato su soggetti sani;
4. caratterizzazione del pattern motorio patologico dell'arto superiore in soggetti con Malattia di Parkinson, confrontando i dati ottenuti rispetto ai dati standardizzati.

Si intende realizzare un database contenente dati di cinematica articolare durante l'esecuzione del BBT: dati soggetti normodotati e patologici.

Si intende definire uno strumento oggettivo e avanzato di valutazione della performance motoria dell'arto superiore da poter utilizzare ampiamente nel presidio riabilitativo per comprendere quantitativamente gli effetti delle terapie per l'arto superiore.

Il progetto prevede l'arruolamento di 20 soggetti sani senza patologie degli arti superiori (danni neurologici periferici, gravi patologie infiammatorie degenerative articolari, esiti di frattura o traumi) e 20 soggetti con Malattia di Parkinson presso l'IRCCS San Raffaele Pisana.

Lo studio si svolge presso l'IRCCS San Raffaele Pisana che è dotato sia del sistema di MoCap Smart-dx (BTS Bioengineering, Italia) che del sistema IMU Movit G1-3D (Captiks, Italia).

I dati acquisiti con il sistema stereo fotogrammetrico SMART-DX sono elaborati con il software dedicato SMART ANALYSER (BTS Bioengineering, Milano) per la ricostruzione 3D delle posizioni dei marker. Successivamente è sviluppato e applicato un protocollo per la ricostruzione della cinematica articolare partendo dalla posizione dei punti di repere anatomico. I dati acquisiti con il sistema IMU Movit G1-3D sono elaborati con il software sviluppato in Matlab® per la ricostruzione delle posizioni 3D sei segmenti corporei e degli angoli articolari. I dati ottenuti da soggetti sani sono analizzati mediante software per l'analisi statistica con l'obiettivo di standardizzare un pattern motorio fisiologico dell'arto superiore. I dati ottenuti dai soggetti patologici sono confrontati con tale pattern al fine di comprendere e definire un pattern motorio patologico specifico per ogni patologia.

L'attività del 2020 ha avuto come obiettivo la definizione del setup sperimentale e del protocollo di acquisizione, la presentazione della documentazione al Comitato Etico e l'esecuzione delle prime acquisizioni sui soggetti sani e patologici. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico in data 22/01/2020. Nel 2020, otto soggetti hanno completato la valutazione prevista dallo studio. Non si sono verificati eventi avversi. L'attività per il 2021 riguarda il completamento dello studio in termini di reclutamento dei soggetti e di acquisizione e elaborazione dei dati.

Lo sviluppo di un protocollo di valutazione strumentale dell'arto superiore consente di quantificare in modo oggettivo lo stato motorio del paziente preso in carico dalla struttura con un'ottica traslazionale ai fini di ottenere vantaggi diagnostici ed economici nell'ambito dei servizi di riabilitazione. Infatti, è possibile quantificare gli effetti del trattamento riabilitativo e quindi ottimizzare i servizi offerti.

Epidemiologia e percorsi riabilitativi

La messa a punto di strumenti di monitoraggio per la definizione della qualità dell'assistenza, dei percorsi e degli esiti in termini di autonomia e partecipazione delle persone con disabilità di interesse riabilitativo come ad esempio ictus cerebrale, mielolesioni e/o patologie traumatologiche-ortopediche sono di grande importanza al fine di definire una corretta programmazione sanitaria. Solo in questa modalità è possibile garantire il miglior livello di salute e qualità della vita delle persone che per diversi cause si trovino improvvisamente in una condizione fisica alterata, con ridotte capacità funzionali ed autonomia. Di fondamentale importanza è anche la valutazione degli esiti dell'assistenza dopo il trattamento sanitario ospedaliero (fase acuta e fase riabilitativa) al fine di ottimizzare i percorsi di cura e migliorare gli esiti clinici. La creazione e il mantenimento di una corretta rete di servizi dall'ospedale al territorio (domicilio o strutture sociosanitarie) è momento fondamentale per un buon intervento riabilitativo globale.

A tal fine, lo studio degli indicatori di outcome più sensibili e significativi all'inizio dell'evento morboso e all'ingresso nelle strutture dedicate specificatamente alla riabilitazione, assieme alla definizione corretta e precisa degli outcome, possono consentire di individuare i percorsi migliori per ottenere una riduzione, nei limiti del possibile, delle limitazioni e delle restrizioni di autonomia e partecipazione. Lo studio, infine, degli esiti a distanza di tempo (follow-up) potrà fornire informazioni circa i limiti degli interventi non solo presenti in fase acuta e post-acuta ma anche e soprattutto sul territorio e a domicilio. Solo così si potrà cercare di ottimizzare e finalizzare al meglio la rete dei servizi riabilitativi. È ormai noto l'aspetto che assume la precocità dell'intervento riabilitativo. Questo deve essere il più appropriato e specifico in ogni fase del percorso assistenziale della persona: fase acuta di emergenza, fase propria riabilitativa, fase territoriale. La natura dell'intervento riabilitativo è diversa sia per contenuti che per necessità di tempi di intervento in ognuna di queste fasi, ma se include tutto quello che è necessario ed utile in quel momento, anche se l'intervento potrebbe sembrare limitato, può determinare un ottimo risultato al follow-up.

La raccolta di una coorte di soggetti con esiti di patologia neurologica disabilitante come ictus cerebrale o mielolesione può consentire una raccolta di dati dalla fase acuta e dalla fase riabilitativa al domicilio. Di grande interesse per una struttura riabilitativa di tipo intensivo (codice 56) è anche l'analisi dei dati dei ricoverati con patologie neurologiche degenerative ed ortopediche. I dati raccolti devono includere sia aspetti sociodemografici che clinici intesi sia come interventi clinico-chirurgici che riabilitativi e sociali. Dati importanti circa l'organizzazione riabilitativa nelle strutture proprie dedicate alla riabilitazione intensiva potrebbero emergere da questa raccolta di dati sia prospettici che retrospettivi. Un aspetto che assume sempre più grande utilità ed interesse è poi il monitoraggio dei tempi di passaggio tra le varie strutture: reparti dell'acuzie, reparti riabilitativi e territorio. E' ormai sempre più evidente che la precocità dell'intervento riabilitativo assume un ruolo importante rispetto l'outcome a distanza di tempo. E' in corso uno studio con cui sono stati esplorati nelle lesioni midollari i fattori che incidono su di un miglior recupero nelle persone con lesione post-traumatica ricoverate in strutture specializzate per la cura di queste persone in fase post acuta. Si analizzano anche le motivazioni dei rientri (fase cronica) negli stessi centri specializzati di persone con tetra e paraplegia. Vengono esplorati anche gli interventi eseguiti e quali fattori incidono maggiormente nel prolungare la degenza di queste persone che rientrano in fase cronica per "complicanze" durante la permanenza a domicilio. Viceversa nelle persone con limitazioni funzionali di altra origine neurologica (Ictus Cerebrale, Sclerosi a Placche, Malattia di Parkinson etc.) o di origine ortopedica (esiti di fratture di femore, di interventi chirurgici di elezione per protesi di anca o ginocchio etc..) si stanno studiando i fattori che incidono su un buon recupero funzionale valutato con la Barthel Index modificata, evidenziando, in particolare, l'andamento clinico differente tra le varie patologie causa di disabilità.

Lo studio intende verificare quali indicatori (sociodemografici e clinici) presenti all'ingresso siano più significativi nel predire un buon recupero in termini di capacità funzionali, partecipazione e rientro al proprio domicilio o in quello di famigliari. Si intende inoltre verificare anche se la rete dei servizi analizzata nello studio mostri delle limitazioni o mancanza di appropriatezza di intervento.

Lo studio mette in evidenza quella che è la situazione delle persone registrate nel periodo di osservazione fino al controllo alla fine del medesimo. Ci si attende di raccogliere dati consistenti rispetto alle variazioni cliniche in riferimento ai fattori presenti all'inizio dell'osservazione che hanno svolto un ruolo importante nel conseguimento del miglioramento clinico o meno.

Ci si aspetta anche di poter avere dati circa la presenza di complicanze all'inizio del trattamento riabilitativo e durante il medesimo con l'analisi di come si modificano alla dimissione. Questo dato dovrebbe trovare una correlazione con i dati di percorso come possibile causa della presenza di tali menomazioni secondarie all'ingresso in riabilitazione.

Infine, al termine della ricerca potrebbero essere portate alla luce eventuali falle nella rete dei percorsi per il paziente.

L'aspetto innovativo di questo studio risiede nel verificare sul territorio nazionale, su una coorte di persone sufficientemente rappresentativa, se i dati registrati già in fase acuta oltre che all'ingresso nelle Unità Operative di Medicina Riabilitativa possano fornire degli indicatori attendibili circa una prognosi funzionale e la possibilità o meno di rientro nel proprio ambito domestico. Un altro aspetto significativo è rappresentato dall'ottenere dati significativi circa la modulazione futura di reti riabilitative sempre più efficaci ed efficienti.

STUDIO 1: "Lesione traumatica del midollo spinale in Italia 20 anni dopo: tendenza epidemiologica attuale e primi predittori di esito riabilitativo". È stato condotto uno studio osservazionale multicentrico (Istituto di Riabilitazione Montecatone, Imola; Dipartimento di Statistica, Informatica, Applicazioni "G. Parenti", Università di Firenze; Assessorato ai Servizi Ospedalieri, Regione Emilia-Romagna; Ospedale Universitario Santa Maria della Misericordia, Perugia) su persone ammesse con lesione traumatica acuta del midollo spinale (TSCI) a strutture di riabilitazione intensiva. Obiettivo dello studio era aggiornare le caratteristiche epidemiologiche di una popolazione italiana TSCI e verificare l'impatto delle caratteristiche del paziente al ricovero su due outcome: guadagno funzionale (SCIM III) e destinazione della dimissione. Tutti gli individui ricoverati con TSCI acuto sono stati analizzati dal 1° ottobre 2013 al 30 settembre 2014. Sono stati registrati i dati di ammissione e dimissione: l'outcome funzionale e la destinazione della dimissione sono stati identificati come misure di outcome e analizzati statisticamente con le caratteristiche del paziente al momento del ricovero per identificare i predittori di esito precoce.

STUDIO 2: "Linee guida per pazienti con fratture: identificazione delle evidenze scientifiche per ottimizzare gli interventi di riabilitazione". Studio svolto in collaborazione con il Dipartimento di Salute Mentale e Fisica e Medicina Preventiva dell'Università degli studi della Campania Luigi Vanvitelli (Napoli). L'identificazione degli interventi di riabilitazione esistenti e delle relative prove rappresenta un passo cruciale nello sviluppo delle linee di interventi per la riabilitazione (Package of Interventions for Rehabilitation-PIR) dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). I metodi per tale identificazione sono stati sviluppati dal Programma di riabilitazione dell'OMS e dalla Cochrane Rehabilitation sotto la guida del segretariato del Comitato di revisione delle linee guida dell'OMS. Lo scopo di questo studio consiste nel riferire sui risultati della ricerca sistematica di linee guida di pratica clinica (Clinical Practice Guidelines-CPG) rilevanti per la riabilitazione di adulti con fratture e di presentare lo stato attuale delle evidenze disponibili dalle CPG identificate. Questo studio fa parte della serie Best Evidence for Rehabilitation (be4rehab), sviluppata secondo la metodologia presentata nel documento introduttivo delle di interventi per la riabilitazione (PIR) dell'OMS. Si tratta di una revisione sistematica delle CPG esistenti in letteratura pubblicata dal 2009 al 2019 sulle fratture nella popolazione adulta.

STUDIO 3: L'identificazione degli interventi di riabilitazione esistenti e delle relative prove di efficacia rappresentano un passo cruciale insieme allo sviluppo del Pacchetto di interventi di riabilitazione (PRI) dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS). I metodi per l'identificazione sono stati sviluppati dal Programma di riabilitazione dell'OMS e dalla Cochrane Rehabilitation sotto la guida del segretariato del comitato di revisione delle linee guida dell'OMS. Lo scopo di questo studio è riportare i risultati della ricerca sistematica eseguita, per presentare gli argomenti delle raccomandazioni e lo stato attuale delle evidenze dalle Linee guida di pratica clinica rilevanti per la riabilitazione delle persone con malattia di Parkinson. Il lavoro fa parte della serie "Best Evidence for Rehabilitation" (be4rehab), sviluppata secondo la metodologia presentata nel documento introduttivo del PRI (Rauch, 2019). Si tratta di una revisione sistematica delle linee guida esistenti sulla malattia di Parkinson, pubblicate tra il 2000 e il 2019. Lo studio è in collaborazione con l'Università Politecnica delle Marche Facoltà di Medicina e Chirurgia e la Gdansk University of Physical Education and Sport, Poland.

Risultati:

STUDIO 1: Cinquecentodieci individui con TSCI hanno soddisfatto i criteri di inclusione; le cadute rappresentavano l'eziologia più frequente (45%). Al momento del ricovero, la tetraplegia

AIS A-B-C è stata segnalata nel 35% dei casi; Paraplegia AIS A-B-C nel 40%; AIS D; paraplegia / tetraplegia nel 25%. La maggior parte dei pazienti è stata dimessa a casa (72%). Il guadagno SCIM medio era di 38 ± 26 punti. E' stato implementato un modello predittivo per il contesto di dimissione: individui con lesioni correlate alla caduta, LM grave (tetraplegia AIS A-B-C), cannula tracheale o catetere al momento del ricovero avevano meno probabilità di essere dimessi a casa (OR 95% CI 0,15 [0,06, 0,35]). In conclusione, i fattori prognostici nella riabilitazione precoce sono ancora difficili da identificare, ma studi futuri dovranno approfondire questo argomento alla luce di una personalizzazione del trattamento riabilitativo.

STUDIO 2: Sono stati identificati 23 CPG rilevanti dopo lo screening del titolo e dell'abstract. In base ai criteri di inclusione/esclusione, sono stati selezionati 13 CPG. Dopo aver verificato la qualità, il tempo di pubblicazione, la multidisciplinarietà e la completezza, sono stati inclusi cinque CPG riguardanti la gestione riabilitativa delle fratture nella popolazione adulta, due CPG riguardanti il trattamento della frattura del radio distale e tre il trattamento della frattura femorale/dell'anca. Le CPG selezionate sulla gestione del radio distale e della frattura femorale/dell'anca includono poche raccomandazioni riguardanti la riabilitazione, con una qualità delle prove da bassa a molto bassa e una forza di raccomandazione debole/condizionale. Inoltre, si verificano diverse lacune in specifici argomenti riabilitativi. Sono necessari ulteriori studi di alta qualità per migliorare la qualità delle prove disponibili.

STUDIO 3: Nel 2020, sono state identificate nove linee guida rilevanti sull'argomento. Sono state escluse quattro Linee Guida per le seguenti ragioni principali: non era chiaramente dichiarata l'assenza di un possibile conflitto di interessi; non veniva riportata la forza della raccomandazione. Inoltre, poiché AGREE / 9 era ≤ 45 . Dopo aver valutato i restanti cinque Guide e verificato la qualità, i tempi di pubblicazione, la multiprofessionalità e la completezza, si sono include seguenti linee guida:

1. Linee guida europee di fisioterapia per il morbo di Parkinson. Keus SHJ, Munneke M, Graziano M, et al., 2014; (Keus et al., 2014)
2. Clinical Practice Guideline per la gestione dei pazienti con malattia di Parkinson. Spanish NHS 2014;
3. Linee guida per la terapia occupazionale nella riabilitazione della malattia di Parkinson (Sturkenboom et al., 2011)
4. Linee guida per la terapia del linguaggio nella malattia di Parkinson. Kalf H et al., 2011;
5. National Institute for Health and Care Excellence (UK). Malattia di Parkinson negli adulti: diagnosi e gestione. Londra: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2017 luglio (Linee guida NICE, n. 71) (NICE, 2017).

L'attività di ricerca del 2021 riguarderà l'identificazione del punteggio AGREE II per le Linee guida identificate e la stesura di un articolo scientifico che dettagli i seguenti argomenti delle linee Guida: Servizio, Valutazione e Intervento.

I dati che emergeranno dalle analisi che verranno fatte potranno fornire elementi immediatamente utili al Servizio Sanitario Nazionale ed ai Servizi Sanitari Regionali per correggere aspetti negativi e di alta criticità nei percorsi delle persone prese in considerazione. Potranno inoltre essere forniti elementi importanti per ridurre o, ove possibile, eliminare complicanze derivanti da interventi clinico - organizzativi incongrui. Infine, potrebbero anche emergere aspetti importanti per facilitare il reinserimento al proprio domicilio o comunque al domicilio di famigliari, indipendentemente dalla gravità delle patologie disabilitanti.

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

Il recupero del cammino è uno dei principali obiettivi della riabilitazione post-ictus e la terapia robotica ha mostrato dei risultati incoraggianti (Mehrholtz et al. 2013, Sale et al. 2012). Recentemente, un esoscheletro indossabile (Ekso™) è stato commercializzato per il riapprendimento assistito della locomozione, permettendo al paziente di camminare controllando

il robot spostando lateralmente il proprio corpo (Mertz 2012). Tuttavia, la letteratura scientifica non presenta molti studi con outcome clinici e elettrofisiologici sulla riabilitazione del cammino mediante esoscheletro.

In questo progetto viene valutata la riabilitazione del cammino con esoscheletro indossabile EKSO (EKSO Bionics, Richmond, CA, US) attraverso biomarcatori elettrofisiologici corticali e muscolari e correlati clinici per la comprensione, la discriminazione e la valutazione oggettiva dei fenomeni di riapprendimento funzionale assistito da esoscheletro. Infatti, il meccanismo neurofisiologico alla base del diverso modello di recupero ottenuto da EKSO resta ancora da chiarire, anche se il contributo dei centri di riflessi spinali (per esempio: i centri generatori di pattern motorio spinale) e i meccanismi di controllo sovraspinale sembrano giocare un ruolo importante.

Lo studio si prefigge di:

1. osservare eventuali modificazioni cliniche e strumentali nel gruppo che esegue una rieducazione del cammino col robot EKSO rispetto a chi esegue un trattamento tradizionale.
2. indagare e classificare i modelli EMG prima, durante e dopo l'esecuzione del cammino con esoscheletro in confronto al cammino delle stesse persone su terreno in maniera tradizionale.
3. individuare pattern specifici neurofisiologici elettromiografici ed elettroencefalografici al fine di individuare fattori prognostici rispetto al recupero del cammino.

Al termine del progetto saranno disponibili dati clinici e strumentali di pazienti post-ictus che hanno utilizzato EKSO per la riabilitazione assistita del cammino, all'inizio (T0) e alla fine del trattamento (T1). I risultati ottenuti da questo progetto permetteranno di ottimizzare l'utilizzo dell'esoscheletro nella pratica clinica.

La letteratura sulla riabilitazione robotica ha evidenziato come il training di attività della vita quotidiana sia alla base del recupero motorio [Johnson MJ, 2006]. In questo contesto, dispositivi robotici che permettono di camminare overground sono considerati come sistemi riabilitativi innovativi che stimolano il meccanismo del controllo motorio grazie a stimoli di tipo visivo, propriocettivo e uditivo, e ad una partecipazione attiva dell'end-user durante il training. Per tali motivi, è necessario studiare in dettaglio l'impiego di robot per la deambulazione overground in modo da comprenderne gli effetti nel paziente post-ictus e ottimizzare il trattamento riabilitativo basato su tali dispositivi.

STUDIO 1: “La riabilitazione del cammino con esoscheletro indossabile EKSO: correlati clinici e neuromuscolari del riapprendimento assistito”. Uno studio multicentrico randomizzato controllato è stato condotto su 75 soggetti con ictus subacuto (38 nel gruppo sperimentale (EG) e 37 nel gruppo di controllo (CG)). Entrambi i gruppi ricevono 15 sessioni di training del cammino (5 sessioni a settimana per 60 minuti) con EKSO (EG) o di tipo convenzionale (CG). I soggetti sono valutati all'inizio (T1) e alla fine (T2) del periodo di training con il 6 Minutes Walking Test (6MWT), la Modified Ashworth Scale dell'arto inferiore affetto (MAS-AL), il Motricity Indice dell'arto inferiore interessato (MI-AL), il test di controllo del tronco (TCT), la classificazione della deambulazione funzionale (FAC), il 10 Meter Walking Test (10MWT), l'indice di Barthel modificato (mBI) e la Walking Handicap Scale (WHS).

STUDIO 2: “Valutazione dell'elettromiografia di superficie durante riabilitazione del cammino con esoscheletro indossabile EKSO in pazienti con ictus subacuto”. La limitazione all'uso dell'elettromiografia di superficie (sEMG) nei servizi di riabilitazione è in contrasto con la sua potenziale capacità diagnostica per la pianificazione razionale e il monitoraggio dei trattamenti riabilitativi, in particolare nel caso del training del cammino assistito da robot (o-RAGT). Obiettivo di questo studio è stata la valutazione dell'implementazione di un protocollo di valutazione basato su sEMG in un contesto clinico per valutare gli effetti di o-RAGT in pazienti con ictus subacuto. Il primary outcome è stato la percentuale di successo dell'implementazione della valutazione basata su sEMG. Un dispositivo sEMG wireless a otto canali ha acquisito segnali dai muscoli tibiale anteriore (TA), gastrocnemio mediale (GM), retto femorale (RF) e

bicipite femorale caput lungo (BF) di ciascuna estremità inferiore. L'elaborazione dei dati sEMG ha estratto i coefficienti di simmetria bilaterale (BS), Co-contrazione (CC) e Root Mean Square (RMS). Sono stati registrati il numero di pazienti in drop out e le motivazioni. Per ogni paziente, inoltre, è stato redatto un rapporto dettagliato sulle difficoltà nell'implementazione del protocollo sEMG. Sono stati registrati il livello di istruzione e lo stato lavorativo del personale: ogni membro del personale ha completato un breve sondaggio indicando il proprio livello di conoscenza di sEMG, utilizzando una scala Likert a cinque punti.

Risultati ottenuti

STUDIO 1: Nello studio clinico, il 6MWT è aumentato da $48,60 \pm 42,39$ m (T1) a $139,24 \pm 104,7$ m (T2) nell'EG e da $44,29 \pm 59,15$ m (T1) a $149,43 \pm 130,15$ m (T2) nel CG. Tale risultato è stato confermato sia dalle analisi statistiche frequentiste che da quelle bayesiane. Risultati simili sono stati registrati nel MI-AL, 10MWT, mBI e MAS-AL. La FAC e il WHS hanno mostrato un numero significativo di soggetti che miglioravano nella deambulazione funzionale e in comunità in entrambi i gruppi al T2. Gli effetti clinici di o-RAGT sono stati simili al training del cammino convenzionale.

STUDIO 2: Lo stadio subacuto dell'ictus e l'eterogeneità delle caratteristiche dei soggetti hanno causato un'elevata variabilità nei segnali sEMG. L'analisi statistica non ha rivelato alcuna differenza significativa nei risultati di sEMG tra T1 e T2. Tuttavia, in un sottogruppo di pazienti, la BS ha registrato miglioramenti tra T1 e T2 in TA e RF. Il CC è diminuito nei muscoli prossimali. Il protocollo sEMG è stato eseguito da un team multidisciplinare composto da fisioterapisti e ingegneri biomedici. Il basso tasso di successo (22,7%) del protocollo è stato causato da diversi fattori che possono essere raggruppati in: barriere relative al paziente; barriere culturali; barriere tecniche; barriere amministrative. In conclusione, l'analisi sEMG è stata condotta in un contesto riabilitativo clinico intensivo di tipo complesso. I risultati di sEMG hanno rivelato attivazioni muscolari volontarie caratterizzate da un miglioramento limitato di BS, CC e RMS alla fine di o-RAGT. In un sottogruppo di pazienti sono stati riscontrati effetti positivi. Poiché una serie di barriere ha limitato l'uso del sEMG nell'ambiente riabilitativo clinico, sono necessarie azioni concrete per diffondere il sEMG nei servizi di riabilitazione: la valutazione sEMG dovrebbe essere inclusa nei regolamenti dei sistemi sanitari e un'istruzione specifica dovrebbe far parte del curriculum dei professionisti della riabilitazione.

Il progetto ha un forte impatto in ambito clinico-riabilitativo in quanto permette in modo preciso, quantitativo e oggettivo ai clinici di progettare un progetto riabilitativo individuale in base ai deficit e il quadro clinico del paziente. La definizione di un protocollo riabilitativo in maniera personalizzabile all'inizio e durante il trattamento ha un forte impatto sull'efficacia del piano riabilitativo, massimizzando gli outcome attesi alla fine di un percorso riabilitativo sia per il paziente (personalizzazione e miglioramento del trattamento, valutazione dell'efficacia) che per la struttura sanitaria e il SSN (pianificazione delle risorse). L'attività di ricerca del prossimo anno riguarderà studi prospettici con l'obiettivo di valutare possibili cambiamenti strumentali negli schemi motori dovuti a terapie riabilitative innovative.

Valutazione multimodale del movimento in soggetti con patologie disabilitanti di interesse riabilitativo

La valutazione dello stato motorio e funzionale del paziente preso in carico da una struttura riabilitativa come l'IRCCS San Raffaele Pisana è di cruciale importanza sia per definire il progetto riabilitativo, che per comprendere gli effetti di tale progetto.

In letteratura scientifica e nella pratica clinica, sono spesso utilizzate scale e indici di valutazione standardizzati e specifici per ogni patologia. In questo contesto, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha definito un linguaggio standard e unificato per la descrizione della salute e degli stati ad essa correlati: la Classificazione Internazionale del Funzionamento, della Disabilità e della Salute (ICF). Nonostante tale valutazione sia ufficializzata, standardizzata, e ampiamente utilizzata in ambito riabilitativo, si sente sempre di più la necessità di misurare le capacità

motorie del paziente in modo quantitativo, oggettivo e sensibile (Zhou & Hu, 2008). In questo contesto, l'introduzione delle nuove tecnologie all'interno delle strutture cliniche, come l'IRCCS San Raffaele Pisana, permette di analizzare il movimento del paziente durante l'esecuzione di compiti motori specifici in modo da ottenere informazioni quantitative su "quanto e come" il paziente si muove.

La valutazione strumentale del movimento è di tipo multimodale, in quanto permette di valutare differenti aspetti relativi all'esecuzione del task motorio: cinematica (analisi stereofotogrammetrica o con sensori inerziali); dinamica (analisi delle forze scambiate mediante celle di carico); elettrofisiologica (analisi dei segnali associati ad attività elettrica muscolare o corticale). Se da un lato la letteratura sull'analisi del movimento è molto ampia e ben consolidata, dall'altro la sua introduzione in ambiente clinico trova delle resistenze legate alla comprensione del dato ottenuto da parte del personale sanitario (Simon 2004).

Il progetto si inserisce nel contesto della valutazione strumentale del paziente e ha come obiettivo l'utilizzo di nuove tecnologie e lo sviluppo di nuovi metodi per l'analisi multimodale del movimento. Tale analisi permette di valutare lo stato motorio del paziente per definire il progetto riabilitativo, e per analizzare l'efficacia di trattamenti riabilitativi sia di tipo tradizionale che basati sulle nuove tecnologie (robotica, realtà virtuale...).

Gli obiettivi specifici di questo progetto sono:

- 1) incentivare l'utilizzo del laboratorio di analisi del movimento per una valutazione oggettiva e quantitativa dello stato motorio del paziente;
- 2) analizzare i dati relativi alla cinematica, dinamica e elettromiografia di superficie (sEMG) durante task motori standardizzati (cammino, postura ortostatica) in soggetti con differenti patologie (sia adulti che pediatrici) in modo da caratterizzarle;
- 3) valutare possibili cambiamenti strumentali negli schemi motori, con particolare attenzione al cammino, dovuti a terapie riabilitative di tipo robotico o all'utilizzo di protesi o ortesi;
- 4) definire nuovi indici sintetici e standardizzati per una comprensione rapida e accurata della qualità del movimento eseguito dal paziente;
- 5) sviluppare nuove metriche standardizzate (biomarcatori) ottenute dalla fusione di dati eterogenei per l'analisi del cammino (cinematica, dinamica, sEMG) al fine di sintetizzare le differenze tra il soggetto in analisi e i dati normativi.

Al termine del progetto si otterrà:

- 1) un database di dati e segnali acquisiti durante l'esecuzione di task motori di interesse (sia degli arti superiori che inferiori) da parte di un sostanziale numero di soggetti con differenti patologie e età;
- 2) una caratterizzazione delle patologie in base alla modalità di esecuzione di task motori standardizzati (cammino, postura ortostatica);
- 3) la valutazione oggettiva e quantitativa dell'efficacia di terapie riabilitative innovative e dell'uso di protesi o ortesi;
- 4) l'introduzione e l'utilizzo in pratica clinica di nuovi indici e biomarcatori di valutazione del movimento.

Il progetto ha un forte impatto in ambito clinico-riabilitativo in quanto permette di valutare in modo preciso, quantitativo e oggettivo lo stato motorio del paziente. Il monitoraggio di come tale stato si modifica durante la terapia ha un forte impatto sia per la comprensione approfondita degli effetti dovuti al trattamento, che per l'ottimizzazione del protocollo riabilitativo.

STUDIO 1: "Indagine sull'effetto a breve termine di un plantare indossabile in giovani con sindrome di Down sui parametri temporali, spaziali e cinematici del cammino". Lo studio è stato svolto in collaborazione con il Dipartimento di Elettronica, Informazione e Bioingegneria, Politecnico di Milano. I soggetti con sindrome di Down (DS) sono caratterizzati da specifiche alterazioni fisiologiche, comprese anomalie muscolo-scheletriche. Il piede piatto (FF), causato da ipotonia e lassità dei legamenti, rappresenta uno dei disturbi disabilitanti più comuni in questa popolazione. I trattamenti conservativi promuovono l'uso di plantari ortopedici e supporti plantari. Lo scopo di questo studio è quello di valutare l'impatto delle ortesi del piede (FO) sul

modello di andatura dei soggetti con DS, valutando gli effetti biomeccanici associati al loro utilizzo. Ventinove soggetti sono stati sottoposti a screening in due condizioni: camminare a piedi nudi (WB); con scarpe e solette (WSI), durante tre prove per ciascuna. Le valutazioni sono state eseguite attraverso l'analisi del cammino 3D, utilizzando un sistema optoelettronico, piattaforme di forza e registrazione video. In particolare, sono stati calcolati e confrontati gli indici sintetici della cinematica del cammino, ovvero il gait profile score (GPS) e il gait variable score (GVS).

STUDIO 2: “Caratterizzazione posturale in soggetti con malattia di Parkinson”. Lo studio è stato svolto in collaborazione con il Dipartimento di Elettronica, Informazione e Bioingegneria, Politecnico di Milano. Il morbo di Parkinson (PD) è un disturbo neurologico progressivo caratterizzato, tra gli altri sintomi, da una significativa postura modificata. Sebbene una valutazione dettagliata delle anomalie posturali possa essere eseguita utilizzando l'analisi quantitativa del movimento, il risultato di tale procedura potrebbe non essere adatto per un uso clinico di routine a causa della sua complessità intrinseca. Tuttavia, misure sintetiche possono facilitare l'interpretazione dei dati cinematici per i medici e quindi rendere tali strumenti pienamente utilizzabili nella pratica quotidiana. In base a queste considerazioni, lo scopo del presente studio è quello di proporre un nuovo indice di sintesi, il Postural Profile Score (PPS, insieme alle sue variabili costitutive: Postural Variable Scores [PVSs]), che possa caratterizzare il profilo biomeccanico cinematico posturale di un individuo; questo approccio è stato poi applicato a una coorte di individui con PD. Quarantacinque individui con PD in stadio di disabilità da lieve a grave, di età media 65,9 (SD 8,3) anni e 21 soggetti sani di controllo della stessa età (CG) sono stati testati utilizzando un sistema optoelettronico durante la condizione di postura ortostatica. Sono stati acquisiti dodici angoli articolari del tronco e degli arti inferiori, considerati rappresentativi della postura di tutto il corpo secondo il protocollo Davis, ed è stata calcolata la differenza quadratica media (RMS) rispetto a quelli ottenuti da partecipanti sani (PVS). Quindi, il PPS è stato calcolato come una combinazione dei PVS selezionati. L'esistenza di possibili differenze tra persone con PD e controlli per PPS e PVS è stata valutata utilizzando il test MANOVA. È stato anche considerato il punteggio UPDRS III per valutare l'esistenza di correlazioni tra indici sintetici e valori di scale cliniche.

Risultati ottenuti

STUDIO 1: variazioni significative sono state trovate solo negli adolescenti nell'indice di progressione del piede GVS, rappresentativo della rotazione del piede durante la deambulazione. Le FO bilaterali hanno un impatto positivo immediato sulla qualità del cammino negli adolescenti con DS, come confermato dall'analisi quantitativa. La prescrizione di FO è un approccio precoce basato sull'evidenza per rallentare le anomalie biomeccaniche e prevenire i relativi sintomi.

STUDIO 2: differenze significative nella PPS sono state rilevate tra PD e CG (8,59° contro 6,11°, $P < 0,001$) e in alcuni dei PVS considerati (Tronco sagittale, Tronco frontale, Tronco trasversale, Flessione-estensione dell'anca, Adduzione addominale dell'anca ed estensione della flessione del ginocchio). Sono state trovate correlazioni positive significative tra scale cliniche Vs tronco e orientamento della caviglia. In conclusione, la PPS potrebbe rappresentare un indice riassuntivo affidabile delle anomalie posturali globali nelle persone con PD, e in particolare alcune PVS sembrano più adatte a descrivere la deviazione da un modello posturale fisiologico. I risultati dimostrano che la postura nel paziente con PD è modificata rispetto al gruppo di controllo. In particolare, il tronco è il distretto corporeo che maggiormente caratterizza l'alterazione della postura come documentato dai suoi valori di PVS e dalla loro correlazione con le scale di valutazione clinica. In conclusione, questo studio evidenzia l'interesse a misurare la posizione del tronco al fine di caratterizzare la posizione cinematica posturale nei soggetti con PD. La PPS potrebbe essere uno strumento utile per la caratterizzazione del fenotipo posturale nei soggetti con malattia di Parkinson e potrebbe fornire indicazioni per specifici protocolli riabilitativi.

Nella pratica clinica riabilitativa, l'atto di misurare riveste un ruolo fondamentale; lo scopo di qualunque intervento riabilitativo è quello di determinare un cambiamento positivo nello stato di salute del paziente. Se lo strumento di misura non è in grado di cogliere questo cambiamento, il clinico non può considerare come migliorato lo stato di salute del paziente. Stessa importanza si rileva in ambito di ricerca clinica, politica sanitaria e audit clinico (Küçükdeveci et al., 2011).

Gli strumenti di misura che possono essere utilizzati in campo riabilitativo possono essere suddivisi in strumentali (per esempio l'elettromiografia) – che nella riabilitazione rivestono un ruolo marginale – e cliniche (Streiner & Norman, 2008). Tra gli strumenti clinici, oltre a test funzionali (come il 6 Minute Walking Test) e i test clinici (come il Test di McMurray per la valutazione dei menischi), si trovano anche le scale di valutazione o i questionari che permettono la raccolta di variabili latenti, ovvero che non sono percepibili direttamente dai sensi umani (per esempio la disabilità).

Per effettuare una misurazione corretta, è necessario utilizzare strumenti di misura appropriatamente calibrati sulla variabile da misurare; infatti, è cruciale che lo strumento di misura possieda una certificazione della sua corretta calibrazione. Quando si parla di variabili di interesse riabilitativo, sono da considerare le seguenti tre proprietà psicometriche come calibrazione (Mokkink et al., 2010): 1) l'affidabilità indica il grado con il quale una misura è libera dall'errore di misurazione; 2) la validità, invece indica il grado con il quale lo strumento di misura è un appropriato riflesso della variabile che si intende misurare; 3) la responsività, infine, è l'abilità di uno strumento di cogliere il cambiamento nel tempo nella variabile misurata.

Per valutare queste proprietà di misurazione, in letteratura sono riportati due approcci: quello della Classical Theory Test (CTT) e della Item Response Theory (IRT) di cui fa parte l'analisi di Rasch (Tennant & Conaghan, 2007). La CTT permette di valutare le proprietà psicometriche di uno strumento, partendo dal presupposto che il punteggio osservato è la somma del punteggio vero e di un errore di misurazione. L'IRT, invece, permette di approfondire la valutazione delle proprietà psicometriche verificando se lo strumento soddisfa le proprietà di misurazione, ovvero presenza di un'unità di misura, linearità, unidimensionalità e invarianza. Infatti, l'IRT può essere utilizzata per determinare se lo strumento misura un costrutto unidimensionale e per trasformare i punteggi ordinali in misure intervallari.

Molte misure di outcome sono state sviluppate diversi anni fa, quando le conoscenze in questo ambito non erano avanzate come al giorno d'oggi. Pertanto, alcuni strumenti di misura potrebbero non essere calibrati nella popolazione in cui poi lo strumento sarà somministrato.

Lo studio si prefigge di studiare le proprietà psicometriche di strumenti di misura già sviluppati e proposti in letteratura utilizzando sia un approccio classico (secondo la CTT) che un approccio moderno (secondo la IRT) per:

1. Determinare i punti di forza e debolezza di questi strumenti;
2. Fornire indicazioni su come poter migliorare la struttura interna di questi strumenti.

I dati raccolti sono analizzati tramite la CTT e la IRT in modo da studiare se questi strumenti soddisfino le proprietà di misurazione.

Si intende comprendere se confermare le proprietà di misurazione, oppure raffinare e/o modificare strumenti già in uso nella pratica e nella ricerca clinica in modo da poterli somministrare nella maniera più appropriata possibile.

Questo progetto di ricerca mette a disposizione, sia dei clinici che dei ricercatori, strumenti di misura che effettivamente soddisfino le proprietà di misurazione, fornendo una quantità precisa della variabile osservata

In diverse coorti di pazienti (per esempio pazienti con dolore muscoloscheletrico, con grave cerebrolesione lesione acquisita, con dolore di spalla) saranno somministrati diversi strumenti di misura (per esempio PROMIS Global Health, Shoulder Disability Questionnaire, Functional Index for Hand Osteoarthritis, Brain Injury Rehabilitation Trust). Successivamente i dati saranno raccolti e saranno studiate le proprietà di misurazione (psicometriche) al fine di definire

strumenti che rispecchiano le proprietà di misurazione, in modo da poterli utilizzare per quantificare l'esatta variabile che presenta il paziente sia nella pratica clinica quotidiana, che in ambito di ricerca clinica.

Durante l'anno 2020, sono stati raccolti dati tramite la somministrazione dei questionari in soggetti con grave cerebrolesione acquisita (Brain Injury Rehabilitation Trust) e con dolore di spalla (Shoulder Disability Questionnaire). Tutti i dati sono stati analizzati (tramite la CCT e/o la IRT); i risultati sono stati pubblicati su riviste indicizzate e impattate.

Il progetto continuerà anche nel 2021 studiando altri strumenti di misura in pazienti con altre condizioni cliniche.

Analisi del trattamento logopedico classico per la disartria ipocinetica nella Malattia di Parkinson con comparazione di valutazioni cliniche soggettive e strumentali mediante dispositivo Iowa Oral Performance Instrument (IOPI).

Studio pilota.

Nella classificazione delle disartrie, i problemi di voce ed eloquio nella Malattia di Parkinson (MP) vengono definiti "Disartria ipocinetica" (Darley et al. 1969) e si caratterizzano per: riduzione dell'intensità vocale (ipofonia); qualità di voce soffiata, rauca e aspra; imprecisione articolatoria a causa del ridotto range di movimenti articolatori che tendono a decadere o accelerare verso la fine della frase; monotono; eloquio affrettato, disfluente o esitante. Oltre a queste caratteristiche si possono rilevare anche palilalia e balbuzie. Queste caratteristiche unitamente ad amimia (facies a maschera) contribuiscono a limitare la comunicazione della maggior parte dei pazienti con MP (Saper 2011), con effetti significativi in ambito psicologico, sociale e lavorativo. L'alterazione della comunicazione è considerata dai pazienti e dai loro familiari uno dei problemi più rilevanti della malattia (Miller 2006). Nei primi anni '90 è stato sviluppato lo Iowa Oral Performance Instrument (IOPI) per esaminare le relazioni tra la forza, la resistenza della lingua, delle labbra e il controllo motorio dello speech.

Lo IOPI è un dispositivo portatile, palmare che misura la pressione massima che un paziente può produrre in un sensore linguale IOPI premendo il bulbo contro il palato con la lingua. La pressione di picco è una misura della forza, espressa in unità di pressione, il chilo Pascal (kPa). Lo strumento contiene una funzione peak-hold (picco massimo–picco minimo) e un timer ed è così composto: linguetta di plastica flessibile piena d'aria (di circa 3,5 centimetri lunghezza e 4.5 cm di diametro con un volume interno approssimativo di 2,8 ml) collegata tramite un tubo di plastica di 11,5 cm di lunghezza a un sensore linguale monouso sul quale si esercita la pressione di picco [in kiloPascal (kPa)]. I ricercatori hanno utilizzato questo dispositivo in molti studi 43-57-63 per misurare la forza e la resistenza della lingua, in quanto i pazienti affetti da disartria presentano affaticabilità oro-motoria. La resistenza infatti è inversamente proporzionale all'affaticabilità: bassi valori di resistenza sono indicativi di elevata affaticabilità.

Attualmente è una delle tecniche di misurazione disponibili più comunemente usate per misurare in maniera oggettiva la forza e la resistenza della lingua.

Lo studio si propone di esaminare la validità del trattamento logopedico classico per la disartria con l'obiettivo di migliorare la qualità della vita dei pazienti afflitti da MP, comparando valutazioni cliniche soggettive con misure strumentali oggettive (IOPI).

Lo studio si prefigge di:

- Osservare eventuali modificazioni cliniche e strumentali (attraverso l'uso del dispositivo IOPI) nel gruppo che esegue una rieducazione logopedica classica.
- Dimostrare con dati oggettivi che il training riabilitativo logopedico porta a benefici funzionali a livello pneumofonoarticolatorio.
- Fornire al paziente l'opportunità di osservare i risultati del proprio lavoro e dei propri sforzi per essere sempre maggiormente stimolato e motivato durante la riabilitazione.
- Valutare la forza della lingua e delle labbra con il dispositivo IOPI pre- e post- trattamento logopedico classico per la disartria.

- Valutare la resistenza della lingua e delle labbra con il dispositivo IOPI pre- e postm trattamento logopedico classico per la disartria.
- Migliorare la prosodia e aumentare l'intelligibilità dello speech.
- Migliorare il livello di comunicazione del paziente.
- Migliorare l'intenzionalità comunicativa del paziente.
- Migliorare la qualità di vita dei pazienti.

Coerentemente con l'ipotesi dello studio è atteso un miglioramento in termini di incremento della forza e della resistenza linguali e buccali (misurate con dispositivo IOPI), con benefici funzionali a livello pneumofonoarticolatorio, di prosodia e intelligibilità dello speech, di comunicazione e intenzionalità comunicativa e conseguentemente di un aumento del benessere bio – psico – sociale e della qualità di vita del paziente.

Viene adoperato un dinamometro per oggettivare il reale aumento di forza e resistenza del distretto oro facciale e quindi misurare indirettamente i benefici e gli effetti della terapia logopedia nei pazienti con il m di Parkinson.

Sono stati arruolati 30 pazienti affetti da malattia di Parkinson afferenti al Day Hospital Neuromotorio.

I risultati hanno rilevato sostanziali modifiche cliniche e strumentali (attraverso l'uso del dispositivo iopi) nel gruppo che esegue la rieducazione logopedica classica in ingresso e uscita con benefici funzionali sia a livello pneumo-fono-articolatorio, che nel miglioramento dell'intenzionalità comunicativa del paziente. Lo IOPI rappresenta un efficace strumento valutativo sia della forza della lingua e delle labbra che della resistenza della lingua pre- e post-trattamento logopedico classico per la disartria ipocinetica nel Parkinson. Altro risultato emerso è l'importanza di un trattamento logopedico di tipo continuativo nei pazienti con Malattia di Parkinson.

Sviluppo, validazione e utilizzo di uno strumento di comunicazione per il superamento della barriera linguistica in ambito sanitario

Nella pratica clinica la relazione tra personale sanitario e paziente si basa su una comunicazione efficace. Mettendo da parte i casi in cui siano presenti neurolesioni tali da compromettere la capacità comunicativa di un essere umano e che, richiedono, quindi, adattamenti complessi per garantire uno scambio comunicativo; nello svolgimento del lavoro ci si trova spesso ad affrontare una problematica apparentemente più banale ma non sempre superabile: la barriera linguistica.

Diversi studi hanno dimostrato che non conoscere la lingua del paese in cui si ci trova, soprattutto se in situazioni di "svantaggio", porta all'isolamento sociale e alla chiusura.

Considerato la percentuale di persone provenienti da altri paesi che abitano l'Italia, non stupisce vedere come, negli ospedali, aumenti il numero di stranieri con bisogni sanitari. Il problema della comunicazione interculturale in ambito sanitario appare ai nostri occhi come un problema attuale e che necessita di strategie per essere superato.

Sono state vagliate le varie opzioni preesistenti ma nessuna è apparsa valida per il quesito che si è presentato: come può un paziente straniero che non conosce la lingua italiana e non parla nessuna delle lingue generalmente più conosciute e parlate, (inglese, francese, spagnolo, tedesco o le lingue del ceppo balcanico) riuscire a comunicare i propri bisogni essenziali nel corso della degenza al personale sanitario in modo immediato e preciso?

Seppur la tecnologia stia al passo con le esigenze sopra descritte, nella concretezza del problema, i pazienti, spesso anziani e non propensi all'uso di dispositivi elettronici come smartphone o tablet, non hanno trovato in essa la soluzione, mentre, per ciò che riguarda le figure specializzate esistenti, i mediatori linguistico-culturali, non rispondono al criterio dell'immediatezza.

Parole e frasi molto raramente sono universali: lo sono semmai solo le onomatopée, e nemmeno tutte, perché anch'esse prendono le caratteristiche fonologiche della lingua cui appartengono. Già nella prosodia e nell'intonazione, invece, vi sono probabilmente alcuni meccanismi universali. Sono, invece, universali le espressioni facciali e le rappresentazioni degli oggetti se rappresentati

in base a quello che si vede e non in base all'uso. Da qui, l'idea dell'utilizzo di immagini rappresentative di oggetti, azioni (pittogrammi).

La letteratura scientifica sull'argomento evidenzia gli effetti negativi più comuni derivanti dalle barriere linguistiche nella sanità: i pazienti che non parlano la lingua del paese ospite sono soggetti a tempi di ricovero più lunghi, risultano più a rischio di diagnosi sbagliate ed errori medici, ed hanno un accesso più limitato ai servizi di prevenzione. Spesso la soluzione suggerita e adottata per migliorare le competenze interculturali degli operatori sanitari è basata sull'intervento di mediatori linguistico-culturali professionali nell'interazione con il paziente straniero, alla luce delle normative dello Stato Italiano sulla questione, fra cui il DL 286/1998, "Testo unico concernente le disposizioni sull'immigrazione e le norme sulla condizione dello straniero", e la L. 328/2000, "Legge quadro per la realizzazione del sistema integrato di interventi e servizi sociali", in cui si raccomanda l'utilizzo di mediatori culturali da parte delle istituzioni e della scuola, per garantire al migrante servizi educativi ed assistenziali di qualità, e demanda agli enti locali il compito di avviare iniziative per l'impiego di persone migranti opportunamente formate come mediatori culturali.

Tuttavia, tale soluzione trova delle limitazioni nel caso della gestione delle emergenze. In tali situazioni, infatti, è necessaria una comunicazione tempestiva ed efficace tra il paziente e il personale sanitario. Una soluzione potrebbe essere l'impiego delle nuove tecnologie. Tuttavia, nella pratica clinica spesso i pazienti sono anziani e/o non propensi all'uso di dispositivi elettronici come smartphone o tablet. Una soluzione semplice, efficace e a basso costo è la Comunicazione Aumentativa e Alternativa (CAA), che ha come obiettivo l'utilizzo di immagini (pittogrammi) per semplificare ed incrementare la comunicazione nelle persone che hanno difficoltà ad usare i più comuni canali comunicativi.

Lo studio intende portare avanti lo sviluppo e standardizzazione e utilizzo di uno strumento di comunicazione efficace e tempestiva tra paziente straniero e personale sanitario di bisogni primari e/o di necessità anche con carattere d'urgenza durante il periodo del ricovero.

Obiettivi dello studio:

- sviluppo di uno strumento basato su pittogrammi che consenta di comunicare in maniera efficace e tempestiva con utenti stranieri che non conoscono la lingua italiana.
- Validazione dello strumento con soggetti italiani di lingua italiana.
- Validazione dello strumento con soggetti non italiani che parlano la lingua italiana.
- Utilizzo dello strumento validato con soggetti non italiani che non parlano la lingua italiana.

Il progetto si inserisce nel contesto della barriera linguistica in ambito sanitario, con l'obiettivo di sviluppare, validare ed utilizzare uno strumento di comunicazione per il superamento della barriera linguistica in ambito sanitario. Lo strumento oggetto di questo studio è stato sviluppato presso l'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma e consiste in un opuscolo comunicativo composto da immagini rappresentative di oggetti, azioni, richieste che possano agire come "lingua" tra il paziente straniero che non parla la lingua italiana e il personale sanitario.

La fase di validazione consiste nella somministrazione di un set di 12 domande randomizzate a ogni soggetto reclutato. In tal modo, ogni pittogramma è valutato da almeno 100 soggetti. L'analisi dei dati raccolti permette di comprendere se i pittogrammi selezionati siano veramente rappresentativi dell'informazione, e, quindi, di validare lo strumento. Successivamente alla fase di validazione, l'opuscolo comunicativo sarà utilizzato nella pratica clinica presso l'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma come comunicatore per soggetti che non parlano la lingua italiana.

E' scelto un set di pittogrammi rappresentativi di situazioni più comuni in ambito sanitario e necessità ricorrenti dei pazienti afferenti alla struttura. Vengono racchiusi in un breve opuscolo di poche pagine che, idealmente, dovrebbe servire al paziente per comunicare il suo bisogno in modo immediato e chiaro. Sviluppo delle pagine in modo tale che il paziente possa esprimere: bisogni essenziali riguardanti le attività quotidiane, dolori fisici e bisogni sanitari con la possibilità di una comunicazione a doppio senso anche da parte del personale tramite il semplice gesto di indicare una figura.

Criteri di inclusione:

- . ≥ 18 anni
- . Conoscenza della lingua italiana

Criteri di esclusione:

- . Presenza di deficit cognitivo-comportamentale
- . Rifiuto o impossibilità a fornire il consenso informato
- . Deficit di linguaggio
- . Deficit visivi

La fase di validazione consiste nella somministrazione di un set di domande relative al significato ai pittogrammi.

La validazione avviene con soggetti italiani di lingua italiana e con soggetti non italiani che parlano la lingua italiana.

Ogni pittogramma è valutato da almeno 100 soggetti.

Successivamente alla fase di validazione, lo strumento è utilizzato con soggetti che non parlano la lingua italiana.

Sono acquisiti dati in forma anonima di tipo demografico, clinico e di accettazione dello strumento.

Nel corso del 2020 a causa dell'emergenza sanitaria dovuta al coronavirus e all'impatto avuto sullo svolgimento delle attività gli obiettivi prefissati per lo studio non sono stati raggiunti gli obiettivi prefissati.

Allo stato attuale la somministrazione ha riguardato n. 21 italiani e n.13 stranieri che parlano italiano; questi ultimi si confermano la popolazione più difficile da reperire. In base a quanto osservato fino ad ora più del 90% degli item risultano essere ben compresi. La popolazione straniera appare interessata a partecipare al progetto e sembra comprendere l'esigenza di un strumento comunicativo semplice ed efficace. L'obiettivo per l'anno in corso è quello di raggiungere la somministrazione completa delle schede e l'analisi dei dati.

L'opuscolo comunicativo sarà utilizzato nella pratica clinica presso l'IRCCS San Raffaele Pisana di Roma come comunicatore per soggetti che non parlano la lingua italiana per abbattere le barriere linguistiche in modo efficace, immediato ed economicamente sostenibile.

AREA DI RICERCA PARKINSON E DISTURBI DEL MOVIMENTO

Applicazione clinica di nuove strategie terapeutiche per la cura di pazienti con malattia di Parkinson(MdP): coesistenza di terapie consolidate ed innovazione farmacologica.

Il Centro Parkinson porta avanti progetti innovativi nelle aree clinico-farmacologica, psicologica e riabilitativa nei pazienti affetti da malattia di Parkinson. L'esigenza è quella di organizzare ed eseguire a livello locale quanto avviene in ambito nazionale e internazionale, con studi clinici promossi da industrie, società scientifiche, enti di ricerca e singoli ricercatori. Negli ultimi anni il Centro ha seguito la sperimentazione di nuove formulazioni di Levodopa, in grado di garantire una stimolazione dopaminergica continua e di bypassare il tratto gastro-intestinale, fattori questi riconosciuti alla base della comparsa delle complicanze motorie nella MdP. Inoltre sono stati studiati altri farmaci in grado di potenziare l'efficacia della Levodopa agendo su altri sistemi neuro-trasmittitoriali o sul catabolismo enzimatico.

La levodopa, precursore che viene convertito in dopamina una volta raggiunto il sistema nervoso, è il più potente farmaco dopaminergico disponibile. La maggioranza dei pazienti che rispondono alla levodopa sviluppa complicazioni motorie durante la terapia a lungo termine caratterizzate da marcate oscillazioni tra stato di immobilità (OFF) e mobilità (ON) (fluttuazioni motorie, wearing-off e fenomeni on-off) e da movimenti involontari (discinesie e distonie). All'origine di tali complicanze motorie vi sono sia la progressiva riduzione dei recettori dopaminergici, causata dalla malattia, sia la prolungata terapia con levodopa. Particolare attenzione deve essere volta al ruolo della stimolazione pulsatile dei recettori dopaminergici, provocata dalla ripetuta somministrazione orale di levodopa. Si ritiene, sulla base di studi sull'animale, che la pulsatilità indotta dall'assunzione del farmaco provochi un'alterazione della funzione dei gangli della base, con modificazioni della plasticità recettoriale, caratterizzate generalmente da fenomeni di tolleranza e sensitivizzazione (reverse tolerance). È dunque cruciale comprendere l'importanza del modo di somministrare i farmaci antiparkinsoniani per prevenire lo sviluppo delle complicazioni motorie. Per la prima volta è stata valutata la somministrazione di levodopa per via infusiva sottocutanea.

Nell'ambito del trattamento delle fluttuazioni motorie ed in particolare con l'obiettivo di ridurre le ore di OFF giornaliere, sono stati effettuati i seguenti studi e sperimentazioni:

Studio clinico randomizzato, multicentrico, a gruppi paralleli, con valutatore in cieco, volto a studiare l'efficacia, la sicurezza, la tollerabilità e la farmacocinetica di 2 regimi di dosaggio di ND0612H, una soluzione di levodopa/carbidopa somministrata tramite un sistema di infusione sottocutanea continua a pompa, in soggetti affetti da morbo di Parkinson in fase avanzata (ND0612H-006 fase IIa)

E' il primo studio clinico randomizzato, multicentrico, a gruppi paralleli, con valutatore in cieco, condotto su soggetti con morbo di Parkinson in fase avanzata, volto a studiare l'efficacia, la sicurezza, la tollerabilità e la farmacocinetica di 2 regimi di dosaggio in infusione SC continua di ND0612H, una soluzione di LD/CD somministrata tramite un sistema di infusione sottocutanea continua a pompa, rispetto al trattamento orale standard con LD/CD.

38 pazienti con malattia di Parkinson in fase avanzata hanno partecipato allo studio condotto in 11 centri specializzati nella cura del Parkinson in Europa, Israele e USA (presso il San Raffaele 3 pazienti nella fase iniziale e 8 pazienti nella fase di estensione). All'ingresso nello studio, i pazienti hanno dormito in clinica durante la notte e i farmaci antiparkinsoniani sono stati sospesi dopo la mezzanotte. La mattina dopo, sono stati randomizzati (1: 1) al trattamento ND0612 somministrato come SC 24 ore su 24 (dose totale di levodopa / carbidopa di 720/90 mg) o SC 14 ore "giorno di veglia" (dose di levodopa/carbidopa di 537,6 / 67,2 mg più una dose orale mattutina di levodopa / carbidopa 150/15 mg). Le valutazioni delle ore di OFF, delle ore di ON senza discinesia o con discinesia lieve, moderata o grave, sono state effettuate da un valutatore in

cieco per un totale di 8 ore al risveglio. Le valutazioni sono state eseguite al basale, giorno 3 (ultimo giornata intera di degenza) e il giorno 28 (fine dello studio). Per l'intera popolazione è risultata una riduzione di 2 ore in OFF e un miglioramento di 3,3 ore in Tempo ON con discinesia lieve/assente utilizzando in clinica una Scala di valutazione di 8 ore (normalizzata a 16 ore) basata su valutazioni eseguite da investigatori in cieco. Maggiori vantaggi sono stati visti con il gruppo di trattamento di 24 ore. In sintesi, questo studio di fase 2 ha dimostrato la fattibilità e l'utilità della somministrazione continua di levodopa/carbidopa tramite infusione sottocutanea. I risultati sono promettenti e uno studio controllato, randomizzato, in doppio cieco con un maggior numero di pazienti seguirà per ulteriore conferma e registrazione.

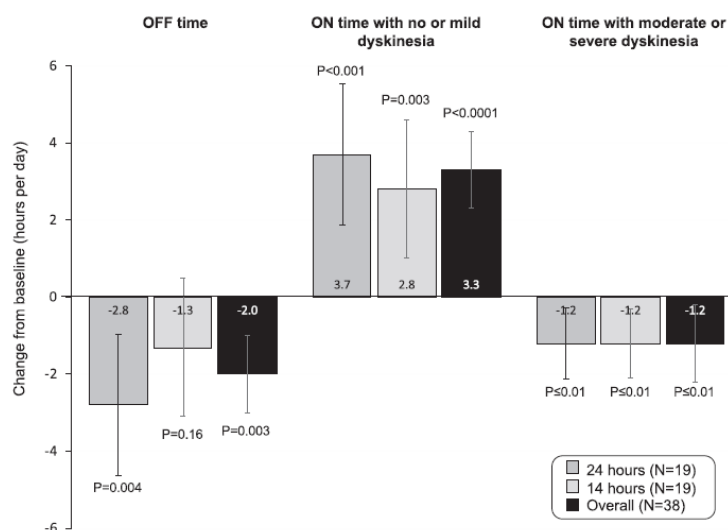


Fig. 2. Changes in ON and OFF time after 28 days ND0612 infusion.

Studio di sicurezza e tollerabilità sul cambio immediato (overnight) tra rasagilina e safinamide in pazienti fluttuanti con malattia di Parkinson

La malattia di Parkinson (MP) è caratterizzata dalla carenza di dopamina e i farmaci che stimolano il sistema dopaminergico sono molto efficaci nel controllare i sintomi della malattia. Nell'uomo, l'80% della dopamina è metabolizzata dagli inibitori delle monoamino ossidasi B (MAO-B); una inibizione selettiva di questi enzimi risulta in un effetto terapeutico nella MP.

La rasagilina, in commercio in Italia per il trattamento dei pazienti affetti da malattia di Parkinson dal 2007, è un potente inibitore selettivo ed irreversibile delle MAO-B. La safinamide, già disponibile sul mercato europeo e commercializzata in Italia dalla prossima primavera 2016, è un potente inibitore selettivo e reversibile delle MAO-B. La safinamide possiede inoltre la capacità di modulare il rilascio del glutammato, proprietà questa che rende ragione del suo effetto positivo sui movimenti involontari.

Nell'uomo la safinamide è più selettiva per MAO-B rispetto agli altri farmaci della stessa classe (rasagilina 103 volte, selegilina 127 volte), quindi non è necessaria nessuna restrizione dietetica per quanto riguarda cibi contenenti tiramina. Inoltre, la totale reversibilità di legame conferisce una migliore maneggevolezza clinica e limita l'interazione tra farmaci (rasagilina ha un legame irreversibile, e necessita di un periodo di wash out più lungo: 14 vs 7 giorni). La selettività e la reversibilità del legame con le MAO-B della safinamide rende il profilo di questo farmaco più sicuro e dotato di minori interazioni farmacologiche rispetto ai precedenti farmaci della stessa classe. Nella pratica clinica, nella impostazione di un miglioramento terapeutico, è abituale effettuare una sostituzione di

farmaci analoghi senza soluzione di continuità. Nei pazienti con MP, la sospensione anche di pochi giorni di un farmaco può comportare un enorme disagio in termini di peggioramento dei sintomi motori e non motori. L'indicazione ad attendere almeno 14 giorni tra l'interruzione del trattamento con rasagilina e l'inizio della terapia con altri inibitori MAO comporta un problema importante, per il transitorio peggioramento clinico dei pazienti.

Si tratta di uno studio esplorativo, pilota, in aperto, monocentrico. Scopo di questo studio è stato quello di verificare la sicurezza e la tollerabilità del passaggio immediato da rasagilina (inibitore irreversibile delle MAO-B) a safinamide (reversibile inibitore MAO-B) attraverso il monitoraggio della pressione arteriosa nelle 24 ore (Holter-PA). L'obiettivo primario dello studio è stato considerato raggiunto se la media delle 24 ore la pressione arteriosa (MAP) non fosse aumentata di > 10 mmHg nella popolazione studiata. Un totale di 21 soggetti sono stati sottoposti a screening. Due pazienti sono stati classificati come screening failure: il primo a causa di un forte tremore che consentiva misurazioni corrette e il secondo a causa di una grave ipertensione che ha richiesto un intervento terapeutico immediato. Due soggetti interrotto lo studio dopo il secondo ciclo di misurazioni a causa di eventi avversi e 19 hanno completato lo studio.

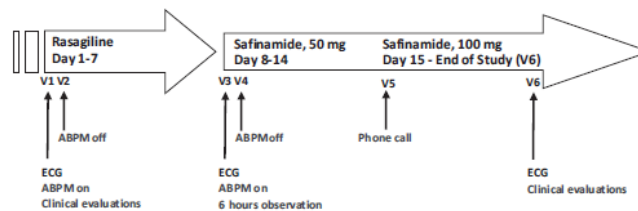


Figure 1 Flowchart of the study.

Con questo studio è stata validata l'ipotesi che il passaggio notturno da rasagilina a safinamide non è associato ad un aumento della pressione arteriosa o con qualsiasi episodio di sindrome serotoninergica. I cambiamenti nei parametri BP sono stati monitorati attraverso un holter pressorio, la cui registrazione è iniziata immediatamente dopo la prima assunzione di safinamide 50 mg. I risultati hanno rivelato una tendenza verso un modesto aumento di tutti i parametri valutati. Questo aumento non è stato significativo in particolare da un punto di vista clinico, con valori sempre contenuti nel range normale e non ha necessitato di intervento con farmaci antipertensivi. Lo studio ha raggiunto l'end-point primario (la pressione arteriosa media non è aumentata di >10 mmHg nella popolazione studiata). L'indice BPV non è aumentato in modo significativo dopo il passaggio da rasagilina a safinamide. Nessun sintomo di sindrome serotoninergica è stata osservata durante lo studio.

Sicurezza nell'utilizzo di Dopamino-agonisti ergot e non ergot per il trattamento della malattia di Parkinson.

Gli agonisti della dopamina non ergot (NEDA) rappresentano un'eccellente opzione di trattamento per i pazienti con malattia di Parkinson (PD), sia nelle fasi iniziali che in quelle avanzate della malattia. La fase post-marketing di NEDA ha tuttavia evidenziato il verificarsi di importanti eventi avversi a lungo termine.

Questo studio ha effettuato una recensione per riportare tutti i recenti aggiornamenti sugli eventi avversi NEDA, analizzando basi neurobiologiche e fattori di rischio di queste complicanze. È stata eseguita una ricerca bibliografica utilizzando Medline e rivedendo le bibliografie di articoli selezionati.

NEDA rappresentano un'importante opzione di trattamento per i pazienti con PD sia come monoterapia in fase iniziale di malattia sia come aggiunta alla levodopa nelle fasi più avanzate. Riducono significativamente le fluttuazioni se aggiunti a L-Dopa e possono migliorare alcuni sintomi non motori. Tra loro, l'apomorfina è l'unico farmaco in grado di riprodurre l'effetto

della L-Dopa. Tuttavia, è molto importante che questi farmaci siano scelti in base alle loro proprietà farmacologiche e le caratteristiche dei pazienti al fine di ottimizzare i benefici e ridurre al minimo gli eventi avversi. Inoltre, gli effetti collaterali possono essere indotti o aumentati dalla presenza di fattori di rischio o genetici mutazioni. Le comorbidità non influenzano in modo significativo l'uso di NEDA anche se si dovrebbe prestare attenzione caso di funzionalità epatica o renale, malattie cardiovascolari, ipotensione ortostatica e quando i NEDA sono usati in concomitanza con altri farmaci, specialmente quelli che inducono il prolungamento dell'intervallo QT. Il sesso non sembra influenzare l'efficacia e la tollerabilità della NEDA e i pochi dati disponibili su gravidanze e NEDA non danno l'allarme. Le complicanze psichiatriche, in particolare il "impulse control disorder ICD", possono comparire con gli agonisti DA più che con altri farmaci antiparkinsoniani. Tuttavia, non tutti i NEDA hanno la stessa propensione a indurre l'ICD: pramipexolo e ropinirolo sono quelli con un rischio più elevato di indurre questi effetti avversi. Inoltre, dosaggio giornaliero e fattori predisponenti giocano un ruolo importante. Particolare attenzione deve essere prestata al verificarsi di eventi avversi ed un attento monitoraggio dei pazienti è necessario per rilevare i primi segnali di questi disturbi. Badanti e i pazienti devono essere pienamente informati della possibile insorgenza di complicanze del trattamento e via la loro fenomenologia, consentendo ai medici un intervento immediato.

Studio pilota per la valutazione dell'effetto del Qigong nei pazienti affetti da Malattia di Parkinson.

La malattia di Parkinson (MP) è un disturbo motorio progressivo e degenerativo di tipo neurologico. Nonostante la patologia si presenti in genere dopo i 65 anni, circa il 15% delle persone affette sviluppa una malattia a "esordio precoce" prima di raggiungere i 50 anni. Progredendo, la malattia di Parkinson diventa sempre più disabilitante, rendendo difficili o persino impossibili attività quotidiane come lavarsi o vestirsi. Molti dei sintomi della malattia interessano il controllo motorio, ovvero la capacità di controllare i muscoli e i movimenti.

Il Qigong lavora per mantenere questo equilibrio, sviluppando ed aumentando l'energia all'interno del nostro corpo, tramite la pratica di esercizi basati sull'esecuzione di serie di movimenti e di posizioni sia statiche, sia dinamiche, che utilizzano tutte le variabili che un corpo può sperimentare, da forme supine, fino a lavori in stazione eretta.

Nella malattia di Parkinson gli effetti che si possono ottenere con la pratica del Qigong sono molteplici, dal rilassamento psicofisico, quindi distensione a livello muscolare accompagnata da uno stato di benessere e serenità, al lavoro sul riallineamento posturale, sulla mobilitazione delle articolazioni, sull'allungamento tendineo-muscolare.

È uno studio esplorativo, che intende verificare se il progetto è adeguato, stabilirne la fattibilità e ricavare informazioni che permettano di determinare la grandezza del campione dello studio definitivo.

Lo scopo dello studio è di verificare l'effetto del Qigong in 15 pazienti parkinsoniani con disturbi motori e non motori.

Nella malattia di Parkinson gli effetti che si possono ottenere con la pratica del Qigong sono molteplici, dal rilassamento psicofisico, quindi distensione a livello muscolare accompagnata da uno stato di benessere e serenità, al lavoro sul riallineamento posturale, sulla mobilitazione delle articolazioni, sull'allungamento tendineo-muscolare.

La malattia di Parkinson spesso danneggia l'immagine fisica che ognuno ha di se stesso. La capacità di percezione dello schema corporeo dei pazienti spesso alterata, può essere riequilibrata grazie ad esercizi di Qigong che offrono alla persona affetta da Parkinson una migliore percezione corporea, elemento fondamentale per la riorganizzazione del movimento, rimandando ad un'immagine positiva di sé.

Si prevedono 2 sedute a settimana, ognuna di 90 minuti per 8 settimane.

Vengono effettuati i seguenti esercizi:

"Tiao Xi Bu" Camminate terapeutiche degli organi

Le camminate terapeutiche degli organi sono state elaborate nel 1960 da una professoressa Guo Lin dell'Istituto di Belle Arti di Pechino, che ha sperimentato su se stessa, e poi su centinaia di suoi allievi, i grandi benefici che apportano all'organismo.

Ogni camminata è collegata ad un organo.

Qiang Shen Fa è la camminata che rafforza il sistema rene.

Queste tecniche sono delle "passeggiate" eseguite con un particolare movimento delle braccia e una precisa respirazione.

Lo scopo è quello di aumentare l'ossigenazione del sangue e migliorare la condizione energetica dell'organo.

Si sono rivelate preziose, attraverso una pratica costante, condotta per diverse ore al giorno, per sostenere i pazienti affetti da patologie costituzionali e croniche. Si sono inoltre riscontrati effetti positivi nell'ambito di patologie tumorali, stimolando le difese e le energie proprie di ogni persona. Questa tecnica sembrerebbe sbloccare dal freezing il paziente di Parkinson.

"Wu Min Gong" "QiGong senza nome"

Questi esercizi lavorano sui meridiani straordinari che potenziano il "Qi", riequilibrando lo yin-yang e regolando la pressione.

Valutazioni previste dallo studio:

T0 (V1)*: Valutazione Pre-Trattamento sintomi motori e non motori

T1 (V2): Valutazione Post-Trattamento sintomi motori e non motori

T2 (V3): Valutazione sintomi motori e non motori al Follow-up a 4 settimane dall'ultimo trattamento

*T=Tempo; V=Visita

Le scale di valutazione utilizzate sono:

- Movement Disorder Society - Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS), scala per i sintomi motori e non motori;
- Parkinson's disease Questionnaire (PDQ8), scala per la valutazione della qualità della vita;
- EuroQoL Group (EQ5D), scala per la valutazione dello stato di salute;
- Non-Motor Symptoms Scale (NMS), scala per i sintomi non motori.

Dei 15 soggetti reclutati per lo studio pilota, 11 hanno completato lo studio. Degli 11 pazienti, 7 sono di sesso maschile e 4 di sesso femminile. L'età anagrafica varia dai 49 ai 75 anni con un'età media di 61,36 ($\pm 7,99$) anni. Inoltre, il tempo che intercorre dalla diagnosi di MP alla partecipazione al progetto, varia dai 3 ai 14 anni con una media di circa 8,09 ($\pm 3,27$) anni. Gli 11 pazienti seguono un regolare trattamento farmacologico con un dosaggio equivalente di Levodopa (LED) dai 350 mg ai 1250 mg con una media di 654,54 ($\pm 285,003$) mg e la loro stadiazione clinica oscilla dallo stadio 2 allo stadio 3, con una media di stadio 2,18 della scala di Hoehn & Yahr.

I valori conseguiti da queste analisi preliminari apportano delle prime verifiche e quantificazioni degli effetti del trattamento di Qi Gong in rapporto alla MP e ci mostrano se eventuali modificazioni presenti al T1 si sono mantenute al T2. I risultati mostrano che vi sono, per quanto riguarda le esperienze non motorie della vita quotidiana, dei miglioramenti complessivi e generalmente mantenuti, con trend positivi osservabili sia al T1 rispetto al T0, sia al T2 rispetto al T0, rispettivamente del 19% e 17%.

I risultati ottenuti dalle valutazioni della Parte II della MDS-UPDRS che ha indagato sulle esperienze motorie della vita quotidiana (eloquio, salivazione, masticazione e deglutizione; attività correlate al mangiare, al vestirsi, all'igiene personale; scrittura, passatempi e altre attività; tremore, capacità di alzarsi e di scendere dal letto, di uscire dall'auto, di alzarsi dalla poltrona, di camminare; equilibrio, blocco motorio), mostrano un trend positivo dell'8% sia al T1 rispetto al T0 che al T2 rispetto al T0, quindi si può notare che, seppur lievi, i miglioramenti ottenuti, per quanto riguarda le esperienze motorie della vita quotidiana, permangono a distanza di un mese dalla conclusione del trattamento di Qi Gong; non sono evidenti miglioramenti motori alla parte motoria della scala. È osservabile un trend dell'1% al T1 rispetto al T0 e un

trend del 2% al T2 rispetto al T0. Le valutazioni con la Non Motor Symptoms Scale (NMSS), rivela che sono presenti miglioramenti significativi per quanto riguarda i sintomi non motori e che tali miglioramenti tendono a mantenersi durante il mese successivo alla conclusione del trattamento di Qi Gong. I risultati incoraggianti porteranno ad ampliare il campione in studio nel corso del prossimo anno.

Nel corso del 2020, a causa delle restrizioni imposte dalla pandemia COVID19, non è stato possibile reclutare altri pazienti, e lo studio è stato temporaneamente sospeso

Studio pilota per la valutazione dell'effetto del macchinario IMOOVE (CE) nel percorso riabilitativo dei pazienti Parkinsoniani.

Il declino strutturale e funzionale del sistema sensori-motorio, che si verifica fisiologicamente con l'invecchiamento e che risulta particolarmente accentuato nell'ambito della patologia neurologica degenerativo come la malattia di Parkinson (PD), contribuisce e peggiora l'instabilità posturale tipica di questa malattia.

Infatti l'equilibrio è un'abilità fondamentale che è frequentemente compromessa, ed associata alla riduzione dei movimenti automatici aumenta il rischio di cadute che è la indubbia causa di un incremento della morbilità, mortalità e dei costi dell'assistenza sanitaria. Il controllo posturale rappresenta il risultato di una complessa interazione tra il sistema sensoriale e quello motorio pertanto diversi lavori di ricerca si sono orientati sul dimostrare l'efficacia di un allenamento motorio o di un allenamento atto ad incrementare la propriocezione. Il nostro studio ha lo scopo di valutare le modificazioni a livello posturale e muscolare ottenute attraverso un allenamento senso-motorio utilizzando un sistema di nuova generazione, l' I-Moove.IMOOVE è caratterizzato da una pedana con movimento ellittico che riproduce i movimenti spirroidali naturali del corpo, in cui gli esercizi di forza sono associati allo sviluppo del feedback e del biofeedback che, come è stato ampiamente dimostrato da molti studi, sono compromessi nel PD.



Lo scopo di questo studio è quello di valutare il miglioramento della qualità e della sicurezza della deambulazione (performance motoria e recupero funzionale), delle anomalie posturali e dell'instabilità posturale ottenuti mediante riabilitazione con l'IMOOVE.

E' previsto lo studio di almeno 40 pazienti affetti da PD con stadio di malattia da 1 a 3 della scala Hoehn & Yahr, arruolati in modo consecutivo tra i pazienti ricoverati nel reparto di Riabilitazione Neuromotoria di questo Istituto che rispettino i criteri di inclusione ed esclusione dello studio. I pazienti arruolati vengono sottoposti a trattamento con IMOOVE per una durata di 6 settimane, due volte a settimana per un totale di 12 sedute e verranno confrontati con un gruppo di pazienti con le stesse caratteristiche cliniche sottoposti a normale ciclo di riabilitazione motoria.

Tutti i soggetti inclusi nello studio vengono sottoposti a valutazione cliniche e cinematiche.

Le valutazioni cliniche comprendono: Movement Disorder Society - Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS), Hoehn & Yahr stage, The Parkinson's disease questionnaire (PDQ-8), Euro QOL-5D, MoCA; Non Motor Symptoms Scale (NMSS), Clinical Global Impression of Change (CGI-I).

In base alle caratteristiche del percorso riabilitativo attuato mediante IMOOVE si attende un miglioramento della mobilità articolare e della forza muscolare nei distretti di competenza, miglioramento della stabilità posturale e della postura con eventuale correzione di anomalie posturali quali la sindrome di Pisa e la camptocormia. Il progetto è stato presentato ed accettato presso il Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana.

Nel corso del 2020, per via del COVID-19 il reclutamento ha subito un rallentamento; sono stati reclutati 27 pazienti ed è stata effettuata una prima analisi su 17 pazienti. Lo studio proseguirà fino al raggiungimento del target. Dai dati aggregati del tronco è possibile osservare come si abbia un notevole miglioramento della Stabilità complessiva del tronco dopo aver effettuato il trattamento. Si ha un innalzamento del 12%. Più lievi sono i miglioramenti se si prendono in esame la Ripartizione del peso per la parte Sx del tronco e la parte Dx. Precisamente, si ha una miglioria del 4% per la zona Sx mentre sostanzialmente rimane invariata la Ripartizione Dx. Prendendo in esame i risultati della stabilità dei Supporti con i piedi paralleli, si osservano lievi cambiamenti. Per la Ripartizione del sinistra/avanti lungo i supporti si ha un lieve calo delle prestazioni, con un -2%. Allo stesso tempo si ha un +1% per la Ripartizione destra/indietro. Nel complesso la Stabilità dei supporti si attesta ad un +1% dopo il trattamento. Siamo in presenza di cambiamenti però troppo microscopici per poter ritenerci soddisfatti del trattamento applicato.

Concentrandoci sull'Affondo Dx anche qui si osservano cambiamenti microscopici. In particolare, si evidenziano una lieve miglioria del 1% e del 3% rispettivamente per la Ripartizione sinistra/avanti e per la Stabilità complessiva dei supporti. Per la Ripartizione destra/indietro invece si vede un -1% che non altera praticamente nulla. Come ultimo risultato si riporta lo studio fatto sull'Affondo Sx, è possibile notare come al caso precedente delle percentuali di cambiamento molto basse. Per la Ripartizione sinistra/avanti si ha una variazione del 3% che però peggiora lo stato iniziale, per la Ripartizione destra/indietro invece si vede un +3%. Complessivamente per la Stabilità dei supporti si nota un incremento del 2% dopo aver effettuato il trattamento. Per quanto concerne la Stabilità del paziente si è sempre osservato un incremento del punteggio dopo aver fatto il trattamento con il macchinario IMOOVE. Risultati migliori sono riconducibili alla Stabilità del tronco +12%. Nelle misurazioni, che comprendevano l'utilizzo delle scale: Non Motor Symptoms Scale (NMSS), la Scala PDQ-8 e la scala visuo-analogica dell'EQ-5D sono stati registrati miglioramenti rispettivamente per i sintomi non motori, sulla qualità della vita quotidiana del paziente e sullo stato generale di salute percepito dal paziente.

Studio sulle alterazioni posturali nei pazienti con Malattia di Parkinson: incidenza, tipologia e management.

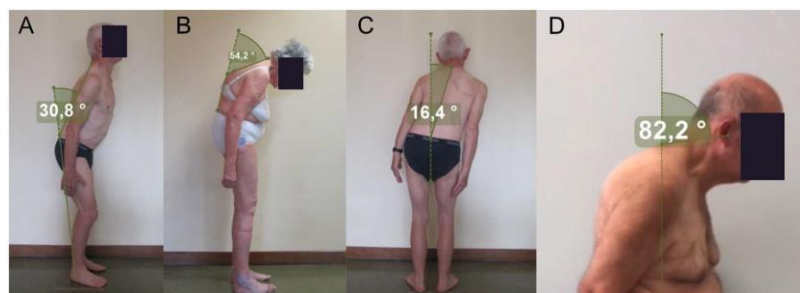
Le alterazioni posturali rappresentano una complicazione frequente e molto disabilitante nei pazienti affetti da Malattia di Parkinson (PD). Oltre all'incurvamento della postura, sintomo di per sé tipico di tali patologie, altre alterazioni più importanti possono verificarsi a carico della postura e/o dell'allineamento della colonna vertebrale. Queste deformità includono: Pisa syndrome (PS), camptocormia (CP), anterocollo (AC), scoliosi (S) e deformità striatali relative alle mani o ai piedi. La prevalenza di queste deformità posturali è variabile a causa della non univocità dei criteri diagnostici utilizzati per categorizzare ogni alterazione.

Lo scopo di questo studio è un seguito dello studio osservazionale, multicentrico, che aveva analizzato la prevalenza delle alterazioni posturali nella popolazione di pazienti affetti da Malattia di Parkinson e secondariamente valutato eventuali correlazioni con aspetti clinici e demografici in una ampia coorte di pazienti reclutati in modo consecutivo. Nello specifico, quest'anno si è

analizzata l'associazione tra grado di anomalie posturali e disabilità per determinare i valori di cut-off della flessione del tronco associati a limitazioni in attività della vita quotidiana (ADL), disturbi motori, cadute e mal di schiena.

Si intende valutare se sussistono associazioni significative tra alterazioni posturali e tra lo stadio di Hoehn e Yahr di malattia, durata della malattia, sesso e limitazione nelle ADL, disturbi motori, intensità del dolore alla schiena, e la storia delle cadute.

Per questo studio si sono utilizzati i dati dal database creato per lo studio epidemiologico multicentrico sulle anomalie posturali in PD, che comprende informazioni complete su 811 pazienti ambulatoriali consecutivi con PD che frequentano sette centri specializzati per disturbi del movimento in Italia. Presso l'IRCCS San Raffaele Pisana sono stati valutati 104 pazienti. La popolazione in studio è costituita da pazienti con una diagnosi di PD idiopatica che presentano ≥ 5 gradi di flessione sostenuta del tronco laterale o in avanti, misurata con un goniometro a muro. Il grado di flessione del tronco è stato calcolato utilizzando misurazioni basate su software (SBM) con il programma freeware Kinovea R. Un totale di 283 pazienti con PD sono stati arruolati secondo i criteri di inclusione ed esclusione.



Gli odds ratio aggiustati ha mostrato un'associazione significativa tra compromissione motoria e grado di flessione del tronco, indicando che un aumento della flessione laterale aumenta la probabilità di una maggiore disabilità motoria, e che il cut-off ottimale per identificare il motore da moderato a grave il danno era 10,5 gradi, corrispondente al cut-off più comune per la diagnosi di Pysa Syndrome. Al contrario, per la flessione in avanti superiore ed inferiore non è stata trovata alcuna associazione tra la limitazione di ADL, disturbi motori, dolore e cadute, ad eccezione di uno stadio più avanzato della malattia (H&Y stadio), durata della malattia più lunga e sesso. I dati ottenuti non possono spiegare l'associazione tra il grado di LTB e il genere femminile con disabilità motoria.

Sebbene individui con disabilità intellettive abbiano generalmente diverse limitazioni fisiche e motorie (Shumway-Cook & Woollacott, 1985), è per loro possibile partecipare in molte forme di attività sportiva e ricreativa. Tuttavia, questi pazienti hanno generalmente un basso livello di attività fisica rispetto ai pari età sani, mostrando un valore più basso di consumo di ossigeno, limitazioni aerobiche funzionali, e una peggiore ventilazione. In più, molti individui affetti, ad esempio da sindrome di Down sono sovrappeso o obesi, con un'ipotonìa muscolare diffusa (Dodd & Shields, 2005; Foley et al., 2014), una limitazione della coordinazione motoria e dell'equilibrio, e conseguenti alterazioni motorie e del cammino dovute anche a aumentata lassità legamentosa (Galli et al., 2008). In particolare, Caselli et al. (1991) hanno riportato che il cammino in giovani e adolescenti con sindrome di Down è caratterizzato da eccessiva extra rotazione delle anche, aumentata flessione del ginocchio e valgismo, rotazione esterna della tibia. Inoltre, si è osservato una marcata pronazione del piede con implicazioni sulla stabilità posturale della locomozione. Al contrario, gli individui con disabilità intellettive che scelgono di praticare attività sportiva hanno maggiori probabilità di alterare il loro stato di composizione corporea (Li et al., 2015), aiutando a migliorare la propria salute generale e diminuendo la probabilità di insorgenza di altri disturbi cardiovascolari e patologie come il diabete (Crawford et al., 2015). L'attività sportiva a sua volta promuove la fiducia in sé stessi e l'indipendenza, e pur non essendo queste direttamente connesse allo stato di salute, sono entrambi fattori importanti per la qualità della vita (Rimmer et al., 2004).

Ad oggi non vi è evidenza scientifica su quali siano gli effetti dell'attività sportiva sulla biomeccanica del cammino e sul controllo motorio e posturale in pazienti affetti da disabilità intellettive, e in particolare se tali effetti siano riconducibili ad un ripristino, anche parziale, delle funzionalità tipiche dell'individuo sano. Si può ipotizzare che la biomeccanica della deambulazione sia positivamente influenzata dell'esposizione alla pratica agonistica, ma tale ipotesi deve essere supportata da evidenze quantitative.

Lo scopo di questo studio è quello di valutare in modo quantitativo e multifattoriale gli effetti dell'attività sportiva di alto livello protratta nel tempo sulla biomeccanica del cammino in pazienti affetti da disabilità intellettive.

In particolare, si confronteranno le caratteristiche di un gruppo di soggetti affetti da disabilità intellettive partecipanti alle competizioni Special Olympics rispetto a un gruppo di controllo, allineato per età e tipo di patologia, di soggetti non praticanti attività sportiva, i cui dati vengono di routine raccolti dai laboratori clinici interessati.

Si intende verificare se la regolare attività fisica migliori le performances motorie, in particolare il cammino, anche nelle persone con disabilità intellettiva.

L'attività fisica regolare, fattore stimolante la plasticità cerebrale, può rappresentare un elemento importante anche per le persone con disabilità intellettiva. Un miglioramento dei parametri del cammino e della coordinazione motoria può rappresentare un risultato ancor più significativo in questi pazienti, potendo anche assumere valenza riabilitativa, oltre che ricreativa.

Si tratta di uno studio osservazionale prospettico e retrospettivo di coorte con lo scopo di investigare l'effetto funzionale e motorio indotto dall'esposizione prolungata all'attività fisica di alto livello. Si prevede, in base alla disponibilità e alla disciplina degli atleti, di valutare un numero pari o superiore a 40 partecipanti ai campionati Special Olympics e ad attività agonistiche affetti da disabilità intellettiva (sindrome di Down).

Le prove di gait analysis degli atleti saranno confrontate con un Gruppo di Controllo (CG) costituito da soggetti di simile età e grado di disabilità, non impegnati in attività agonistiche.

Saranno eseguite l'analisi quantitativa del cammino (Gait Analysis) in condizioni standard, con prove di evitamento di ostacoli (dual-task) e l'analisi posturale in entrambi i gruppi.

Le valutazioni verranno eseguite da osservatori in cieco rispetto al gruppo.

AREA DI RICERCA EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE

Studio di impatto di un intervento psicologico in pazienti affetti da BPCO: valutazione della qualità di vita e potenziali benefici sulla risposta riabilitativa (IMPROVE).

Le Malattie Respiratorie costituiscono la terza causa di morte dopo i tumori e le malattie cardiocircolatorie (malattie non trasmissibili, NCDs). Tra queste patologie la Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva - BPCO rappresenta l'entità nosologica più frequente, che si stima arriverà ad essere entro il 2030 la seconda causa di morte nel mondo, dopo cardiopatia e ictus [European Lung Foundation, 2012].

La BPCO è una malattia respiratoria progressiva, non completamente reversibile e altamente invalidante che compromette la qualità di vita dei soggetti che ne sono affetti [Vermeire, 2002]. Provoca una persistente ostruzione delle vie aeree e i sintomi respiratori più comuni comprendono la dispnea, la tosse e/o la produzione di espettorato. Tale condizione rende difficile la respirazione ed è dovuta alla somma degli insulti che si verificano nei polmoni nel corso degli anni, principalmente a causa del fumo di sigaretta. Tende ad essere progressiva e si associa ad un'importante risposta infiammatoria cronica delle vie aeree in seguito ad una malattia infettiva o all'esposizione a particelle, fumi e vapori irritanti (riacutizzazioni di BPCO) [GOLD, 2017].

L'impatto economico della BPCO sul PIL italiano è di circa 9 miliardi di euro; in Italia è la causa del 50% circa delle morti per malattie respiratorie, la mortalità è quasi 3 volte maggiore nel sesso maschile [<https://www.erswhitebook.org/>].

Un'approfondita e recente indagine, "La BPCO: le conoscenze, i vissuti, l'impatto sulla qualità di vita", condotta in cinque Paesi europei dalla GfK Eurisko - Gesellschaft für Konsumforschung, Society for Consumer Research - ha evidenziato il grave impatto della malattia sulla qualità della vita: la BPCO influenza la vita in generale nel 75% dei casi, il lavoro e le attività quotidiane nel 66%, la vita sociale, le relazioni e la vita familiare nel 56% e la vita di coppia nel 51% [<http://www.tecnomedicina.it/gfk-eurisko>].

La terapia farmacologica per la BPCO è utilizzata per ridurre i sintomi, ridurre la frequenza e la gravità delle riacutizzazioni, migliorare la tolleranza allo sforzo e lo stato di salute. Ad oggi, tuttavia, non vi è alcuna evidenza conclusiva di studi clinici che i farmaci disponibili per la BPCO possano modificare il declino a lungo termine della funzione polmonare. In tale contesto la riabilitazione polmonare svolge un ruolo cruciale, dimostrando di essere la strategia terapeutica più efficace per migliorare la dispnea, lo stato di salute, la tolleranza all'esercizio fisico e per ridurre i ricoveri ospedalieri tra i pazienti con precedente recente riacutizzazione [GOLD 2017].

Il recente piano di ricerca dei National Institutes of Health (NIH) sulla riabilitazione propone come obiettivo specifico di ricerca traslazionale il far progredire la comprensione degli approcci di medicina di precisione rilevanti per la medicina riabilitativa [<https://doi.org/10.1080/10400435.2017.1306411>].

Pertanto l'approccio alla riabilitazione del paziente cronico e complesso, come anche il paziente affetto da BPCO, si basa su una medicina orientata alla persona caratterizzata da un approccio olistico nella presa in carico del paziente nelle sue componenti biologica, fisica, psicologica, sociale e spirituale. L'obiettivo è inoltre quello di costruire un'alleanza terapeutica basata su fiducia, empatia, partecipazione e comprensione rispondente ai bisogni individuali del singolo paziente. Questo approccio è in accordo alla moderna teoria della Medicina P6: Predittiva, Personalizzata, Preventiva, Partecipatoria, Psico-cognitiva, Pubblica/Population-based [Hood & Friend, 2011; Gorini & Pravettoni, 2011; Ozdemir & Knoppers, 2013; Bragazzi, 2013]. Secondo tale prospettiva, il paziente diventa gradualmente consapevole del proprio stile di vita, comprendendo come le sue decisioni possano influenzare il suo stato di salute. Variabili psicologiche e personali influenzano l'esito clinico in termini di qualità della vita (QoL), contribuendo a preservare la vitalità e la soddisfazione percepita dal paziente.

Sir William Osler ha detto: “Il buon medico tratta la malattia; il grande medico tratta il paziente portatore di malattia.” In accordo con Ippocrate “È molto più importante sapere quale persona ha la malattia rispetto a quale malattia ha la persona”.

I pazienti affetti da BPCO soffrono frequentemente di depressione ed ansia e mostrano una ridotta qualità della vita, aspetti considerati come fattori di rischio per le riacutizzazioni e le ri-ospedalizzazioni [Huber MB, et al., 2015]. Inoltre, l’impatto della malattia sullo stato psicologico si manifesta anche con una riduzione dell’aspettativa di vita [Wagena EJ, et al., 2005; Baraniak A, et al., 2011].

La BPCO, quindi, non solo deteriora gli aspetti funzionali e biologici dell’organismo del paziente ma influenza anche la sua vita familiare, relazionale e sociale. In questo contesto si colloca l’importanza di attuare programmi di Riabilitazione Respiratoria globali e multidisciplinari volti a ridurre i sintomi, ottimizzare lo stato funzionale e promuovere la qualità di vita di tali soggetti. La Riabilitazione Respiratoria multidisciplinare si colloca all’interno dei 9 domini di outcomes evidenziati nel BES 2015 in cui la salute è definita: “...dimensione essenziale del benessere individuale che incide su tutte le dimensioni della vita delle persone e in tutte le sue diverse fasi, modificando le condizioni di vita e condizionando i comportamenti, le relazioni sociali, le opportunità e le prospettive dei singoli e, spesso, delle loro famiglie” [www.istat.it/it/files/2015/12/Rapporto_BES_2015.pdf].

Gli eventi quali lo stress psicologico e la depressione, possono alterare la funzione del sistema immunitario periferico e viceversa alterazioni del sistema immunitario periferico, come quelle che si verificano durante una malattia, possono influenzare il cervello, determinando modificazioni dell’umore, stati d’ansia e alterazioni cognitive. Secondo il concetto per il quale lo stato mentale può influire sulla gravità di una malattia fisica in un dato momento, è stato riportato che la BPCO è una sorta di malattia “somatopsichica” [Chen et al., 2015].

“Il sintomo non è mai una entità fenomenica unica, ma l’effetto finale, non standardizzato, di un convergere di molteplici azioni e reazioni. Indica un’alterazione della normale sensazione di sé e del proprio corpo in relazione ad uno stato patologico, riferito dal paziente. Si differenzia dal segno che è invece un reperto obiettivo patologico riconosciuto dal medico all’esame obiettivo del paziente stesso. La malattia è sempre un linguaggio dell’uomo totale, una parola che vuole essere capita. Non esiste la malattia, ma "l'uomo malato" [Antonio Meneghetti, 2008].

Un intervento psicologico, basato sia sul supporto psicologico ed emotivo sia sulla psicoeducazione, potrebbe rivelarsi una chiave importante nel processo di promozione della qualità di vita di tali pazienti, aiutandoli a sviluppare una maggiore percezione, responsabilizzazione e consapevolezza del proprio stato di salute, nell’ambito di una malattia cronica complessa, quale è la BPCO. Inoltre tale intervento potrebbe risultare efficace nel mantenere la capacità funzionale dei pazienti dopo il percorso di Riabilitazione Respiratoria.

Il punto di vista del paziente, attraverso le sue percezioni, credenze, emozioni, esperienze di vita quotidiana, è un nuovo parametro, che si affianca agli indicatori medico/clinici nella valutazione dell’esito di trattamenti, o di cambiamenti nello stato di salute e si rivela tanto più importante quanto più la pratica medica ed epidemiologica si trova di fronte a quadri clinici complessi, spesso composti da più patologie ad andamento cronico.

In accordo con un approccio multidisciplinare e personalizzato al paziente, obiettivo primario del presente studio consiste nel valutare gli effetti di un intervento psicologico, condotto mediante colloqui clinici vis à vis e telefonici, su pazienti affetti da BPCO, volto al miglioramento del benessere e della qualità di vita di tali pazienti.

Inoltre tale intervento potrebbe risultare efficace nel mantenere la capacità funzionale di tali pazienti dopo il percorso di Riabilitazione Respiratoria (obiettivo secondario).

Verranno indagati:

- Cambiamento della qualità della vita del paziente affetto da BPCO, valutato mediante i seguenti questionari: *Short Form Health Survey General and Mental Health* (SF-36); *Maugeri Foundation Respiratory Failure Questionnaire* (MRF-26).

- Mantenimento della capacità funzionale e respiratoria, valutato mediante i seguenti: il test del cammino (Six Minute Walking Test); The Medical Research Council; The Borg scale; The Barthel scale.
- Cambiamento dello stato psicologico e dell'uso delle strategie di coping del paziente, valutati mediante i seguenti test: Beck Depression Inventory - BDI-II; State-Trait Anxiety Inventory – STAI-Y; Brief COPE.

Il progetto sposta l'attenzione clinica e di ricerca verso terapie dirette ai pazienti e medicina personalizzata. Un intervento psicologico focalizzato sul supporto psicologico e sulla psicoeducazione nei pazienti con BPCO è una possibile chiave per migliorare la loro qualità di vita, per alleviare l'ansia-depressione e per portare questi soggetti a mostrare una maggiore consapevolezza del loro stato di salute. Il miglioramento della qualità di vita e dello stato psicologico è chiaramente significativo, dal momento che gli interventi che migliorano la gestione del proprio stato emotivo nei pazienti con BPCO sono correlati ad un'alta assistenza sanitaria.

La popolazione in studio consiste di uomini e donne, arruolati presso l'Unità Operativa di Riabilitazione Respiratoria, dell'IRCCS San Raffaele Pisana, secondo specifici criteri di inclusione ed esclusione.

Criteri di inclusione:

- Diagnosi clinica di BPCO
- Punteggio Mini Mental State Examination (MMSE) ≥ 26
- Six Minute Walking Test ≥ 90 metri
- Rilascio del consenso informato scritto

Criteri di esclusione:

- Comorbidità che influenzino la funzionalità polmonare;
- Delta Six Minute Walking Distance < 60 metri dopo le tre settimane di Riabilitazione Respiratoria.

Lo studio, condotto in un setting di Real Life e della durata complessiva di 12 mesi, è articolato secondo le seguenti quattro fasi: 1) Selezione e arruolamento dei soggetti partecipanti (previsione arruolamento di 36 soggetti); 2) Valutazione Pre Intervento IMPROVE; 3) Intervento IMPROVE; 4) Valutazione Post Intervento IMPROVE.

Intervento IMPROVE (6 mesi)

L'intervento psicologico dello studio IMPROVE è effettuato dopo il periodo di Riabilitazione Respiratoria e condotto da uno Psicologo Psicoterapeuta mediante colloqui clinici individuali, sia vis à vis che telefonicamente, a seconda del gruppo cui il soggetto è assegnato.

Tale intervento, personalizzato per ogni paziente a seconda delle specifiche esigenze e da quanto emerso dai test psicodiagnostici somministrati in fase di ricovero, si basa sul supporto psicologico ed emotivo e sulla psicoeducazione e ha come obiettivo quello di promuovere una maggiore percezione, responsabilizzazione e consapevolezza dello stato di salute del soggetto affetto da BPCO nella gestione della sua malattia cronica.

L'intervento IMPROVE è articolato in diverse sessioni, nell'arco dei 6 mesi:

- per il *Face-Telephone Group* sono previsti 10 colloqui clinici vis à vis (della durata di 45-60 minuti) e 10 colloqui telefonici (della durata 30 minuti), con cadenza quindicinale alternata. Per gli incontri vis à vis i pazienti sono invitati a recarsi presso l'IRCCS;
- per il *Telephone Group* sono previsti 10 colloqui telefonici (della durata di 30 minuti) con cadenza quindicinale;
- il *Control Group* non segue alcun tipo di intervento psicologico ed è richiamato per le valutazioni, relative allo stato psicologico e della qualità di vita, come previste dal protocollo dello studio IMPROVE.

Alla fine dei 6 mesi (rilevazione T2, dopo 6 mesi di trattamento) tutti i soggetti partecipanti allo studio IMPROVE sono contattati telefonicamente e invitati a tornare presso l'Unità Operativa di Riabilitazione Respiratoria per una nuova valutazione del loro stato di salute (rilevazione di

parametri respiratori e funzionali), della qualità di vita e dello stato psicologico mediante gli specifici test e questionari.

Promozione della qualità di vita e dell'aderenza terapeutica dei pazienti affetti da malattie respiratorie croniche: personalizzazione dei percorsi riabilitativi

Le malattie respiratorie croniche, severi quadri patologici che includono malattie croniche delle vie aeree e delle altre strutture polmonari, rappresentano le principali cause di morbilità e mortalità, di cui se ne prevede un trend sempre più in crescita nei prossimi anni. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) stima che attualmente circa 300 milioni di persone soffrano di asma, 80 milioni di broncopneumopatia cronico ostruttiva (BPCO), altri per le conseguenze di BPCO lievi, riniti allergiche e altre patologie respiratorie croniche. Nel loro complesso le malattie respiratorie causano il 17% di tutte le morti. In Italia rappresentano la terza causa di morte, dopo le malattie cardiovascolari e neoplasie, con un trend in crescita a causa dell'invecchiamento della popolazione.

Tali patologie insorgono a causa dell'azione di più fattori di rischio: ambientali (fumo attivo e passivo di sigaretta, esposizione occupazionale, inquinamento atmosferico outdoor/indoor, condizioni socio-economiche, alimentazione, infezioni, errati stili di vita) e individuali (predisposizione genetica, familiarità, obesità).

La BPCO, l'asma, le allergie respiratorie, le malattie professionali polmonari, la sindrome da apnee notturne (OSAS) e l'ipertensione polmonare sono prevenibili.

Nonostante esistano efficaci misure di prevenzione, le malattie respiratorie croniche sono sottovalutate, sottodiagnosticate e sottotrattate, compromettendo in modo severo la qualità della vita di coloro che ne sono portatori. Hanno un impatto rilevante sul grado di soddisfazione della vita di tali soggetti e comportano un elevato rischio di distress psicologico, depressione, ansia ed altri disturbi psichici. Tale sintomatologia influenza la risposta psicologica alla malattia e pertanto deve essere attentamente individuata e diagnosticata per una adeguata gestione della relazione terapeutica e del complesso percorso di cura di questi pazienti.

In pazienti con BPCO è stata documentata una prevalenza tre volte superiore di disturbi psichici rispetto alla popolazione generale, doppia nelle donne rispetto agli uomini. Disturbi psichici clinicamente significativi sono stati riscontrati in circa la metà di un gruppo di 116 pazienti candidati a trapianto polmonare [Craven J. Psychiatric aspects of lung transplantation: the Toronto Lung Transplant Group. *Can J Psychiatry* 1990; 35: 759–7646]. Il profilo di personalità, la presenza di distress psicologico e di depressione possono influenzare in modo indipendente la prognosi dei pazienti affetti da malattie respiratorie croniche terminali: nei soggetti con BPCO la presenza di sintomatologia depressiva è risultata essere associata ad un maggior tasso di riacutizzazioni e ri-ospedalizzazioni e ad una maggiore mortalità entro un anno [Xu W, Collet JP, Shapiro S, et al. Independent Effect of Depression and Anxiety on Chronic obstructive Pulmonary Disease Exacerbations and Hospitalizations. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 178: 913–920]. In uno studio longitudinale effettuato su soggetti affetti da BPCO la mortalità a 4 anni risultava influenzata in maniera indipendente dalla presenza di distress psicologico e dalla difficoltà di accettazione della malattia [Ashutosh K, Haldipur C, Boucher ML. Clinical and Personality Profiles and Survival in Patients With COPD. *Chest* 1997; 111: 95-98].

Si osserva infine che la BPCO ha anche un impatto sulla figura del caregiver. Uno studio ha evidenziato che la qualità della vita dei pazienti con BPCO e dei loro caregiver diminuisce al progredire della disabilità e della dipendenza del paziente [Miravittles M. et al., Caregivers' burden in patients with COPD, *International Journal of COPD*, February 2015].

La promozione di una maggiore consapevolezza della patologia respiratoria cronica consentirebbe un intervento terapeutico e riabilitativo migliore specialmente durante le prime fasi della malattia, rallentandone il corso e migliorando la qualità della vita sia dei pazienti che dei loro caregiver. Aumentare la consapevolezza di tali pazienti sulla gravità e la cronicità della loro malattia e sulle sue conseguenze permetterebbe di migliorare il loro ruolo decisionale nel

generale processo di cura di sé determinando anche una maggiore comunicazione e collaborazione con i diversi professionisti della salute. Nei pazienti con BPCO, una migliore conoscenza della malattia aumenta il numero di diagnosi e facilita l'invio dei pazienti verso percorsi di cura più adeguati per la loro patologia. La peculiarità della BPCO è che, pur essendo progressivamente invalidante, la maggior parte dei pazienti non sviluppa consapevolezza della malattia: anche nelle fasi più avanzate la terminalità viene considerata un incidente. [EFA books on Minimum Standards of Care for COPD Patients in Europe, 2014].

È pertanto opportuno sviluppare e promuovere il patient empowerment, forme di responsabilizzazione e di coinvolgimento attivo del paziente nel proprio processo di cura di modo che possa acquisire gli strumenti per autogestirsi e collaborare in forma proattiva con i caregiver e i clinici che lo hanno in carico. Il soggetto in cura non è passivo ma deve essere messo in grado di partecipare in modo consapevole e aderire al piano terapeutico proposto [M. Robin Di Matteo. Social support and Patient Adherence to medical treatment: A meta-analysis. Health Psychology 2004, Vol 23 no 2 207-218].

Tale processo si inserisce nel più ampio contesto della qualità di vita del paziente con malattia respiratoria cronica. Il concetto di qualità di vita (QoL) pone al centro del processo di cura il punto di vista del paziente, la sua soggettività e le sue scelte relativamente alla gestione della malattia e relativi percorsi di cura. Nell'ambito di quadri clinici complessi e ad andamento cronico la valutazione della qualità di vita rappresenta un parametro fondamentale, sia nella pratica clinica che epidemiologica, che si affianca alla valutazione degli indicatori medico/clinici, completando il profilo clinico del singolo paziente.

Tale concetto afferisce ai bisogni, alle credenze, agli stati emotivi, ai vissuti e alle esperienze di vita quotidiana di un soggetto e al suo generale benessere, in un'ottica classica di salute intesa come stato caratterizzato da un completo benessere fisico, mentale e sociale, e non semplicemente dall'assenza di malattia o infermità [The World Organization Quality of Life Assessment (WHO-QOL): position paper from the World Health Organization. Soc Sci Med 1995; 41:1403-9].

La consapevolezza della malattia tuttavia è strettamente legata a un corretto supporto educativo alla cui base diventa necessaria una attenta analisi dei bisogni del paziente. Tale analisi permetterebbe di esplorare in modo più approfondito il modo di intendere e di interpretare la malattia, in una visione più globale, restituendo la centralità al paziente. La conoscenza dei bisogni del paziente affetto da patologia respiratoria cronica consentirebbe di acquisire dati qualitativi utili a individuare ipotesi di possibili personalizzazioni di percorsi riabilitativi.

Il progetto è volto alla promozione della qualità di vita dei pazienti affetti da malattie respiratorie croniche mediante il raggiungimento dei seguenti obiettivi:

- sviluppo e promozione di una reale compliance ed aderenza terapeutica al percorso riabilitativo, attraverso l'analisi dei bisogni e l'empowerment del paziente;
- sviluppo e promozione di percorsi di riabilitazione personalizzati, attraverso la raccolta sia di dati real world (alla base della Real World Evidence) che di dati di QoL (Quality of Life);
- formazione mirata per una gestione ottimale dei pazienti con malattie respiratorie croniche, secondo una cultura di ascolto attivo del paziente.

Negli ultimi anni sta assumendo sempre più importanza la Real Life, ossia l'osservazione dei dati provenienti dalle cartelle cliniche dei pazienti, alla base della Real World Evidence (RWE), una medicina basata sull'evidenza. La raccolta dei real world dati non coinvolge, non influisce e non modifica l'attività clinica assistenziale.

Tale progetto è uno studio Proof of Principle condotto sulle malattie respiratorie croniche come modello di intervento vista l'esperienza e la collaborazione tra le due unità di Riabilitazione Respiratoria e di Epidemiologia Clinica e Molecolare.

Ci si aspetta di ottenere:

- Miglioramento nel Management dei percorsi riabilitativi dei pazienti con malattie respiratorie in una prospettiva di Real World Evidence.

- Individuazione di dati di qualità di vita per la costruzione di profili di aderenza terapeutica e riabilitativa dei pazienti.
- Personalizzazione dei percorsi riabilitativi, in un'ottica di una medicina narrativa.

La maggior parte dei pazienti con malattia cronica spesso non aderisce in modo adeguato al piano terapeutico prescritto e ciò porta ad effetti deleteri sia sul piano clinico che economico perché ne derivano il prolungarsi della malattia, l'aumento del numero di assenze dal posto di lavoro, l'aumento del numero delle ospedalizzazioni ed una generale compromissione della qualità di vita. Alcuni studi epidemiologici hanno dimostrato che i pazienti cronici che hanno partecipato attivamente a programmi di educazione presentano una riduzione significativa della comparsa di complicanze e un miglioramento dello stato di salute e dell'aderenza alla terapia. Ai fini dell'empowerment del paziente è importante che egli stesso sviluppi adeguate competenze riguardo alla sua malattia e che tutto il sistema assistenziale sia riorganizzato in modo da porlo al centro del percorso di cura. La partecipazione attiva nel proprio processo di cura implica che il soggetto diventi "competente", consapevole e responsabile del proprio stato di salute e del proprio progetto di vita.

Il progetto si articola in diversi WorkPackages (WP):

WP1-Studio retrospettivo volto alla creazione di un "data base", qualitativo e quantitativo, volto all'individuazione di specifiche modalità di riposta del paziente al trattamento riabilitativo - Approccio Real World Evidence.

WP2-Studio-pilota interventistico non farmacologico volto alla rilevazione dell'impatto della malattia cronica respiratoria sulla qualità di vita del paziente.

WP3- Studio-pilota interventistico non farmacologico volto all'analisi dei vissuti di malattia e della loro influenza nelle modalità di aderenza al percorso riabilitativo.

WP4 – Estensione dello studio ad altre malattie croniche (neuro)degenerative.

Nell'ambito del più ampio progetto volto alla costruzione di profili di aderenza terapeutica e riabilitativa dei pazienti con malattie respiratorie croniche, in un gruppo di 70 pazienti con BPCO, è stato analizzato il ruolo del polimorfismo FKBP5 rs4713916 e la sua correlazione con la risposta alla riabilitazione polmonare.

I pazienti BPCO portatori della variante GA, in tale polimorfismo, mostravano dopo 4 settimane di riabilitazione, una migliore risposta in termini di funzionalità polmonare (6MWD e FEV1) associata anche ad un migliore stato psicologico.

Nello specifico i pazienti FKBP5 rs4713916 GA, rispetto ai pazienti FKBP5 rs4713916 GG, mostrano le seguenti caratteristiche (Figura 1):

- 1) Migliori prestazioni cognitive,
- 2) Maggiore grado di indipendenza sia nelle attività quotidiane che nell'uso di strumenti,
- 3) Migliore qualità di vita, sia prima che dopo la riabilitazione,
- 4) Assenza di umore depresso e sintomi di ansia,
- 5) Assenza di familiarità per disturbi psichiatrici,
- 6) Migliore capacità di far fronte a situazioni stressanti, utilizzando strategie di coping adattive
- 7) Una tendenza a usare meno farmaci per il SNC.

Recentemente, un nuovo studio (Triest et al., 2019) è stata descritta la presenza di uno specifico cluster di comorbidità "psicologica" correlato alla BPCO non presente nella corrispondente popolazione di controllo. Questo cluster rispetto alla caratterizzazione clinica, si distingue per la presenza di disturbi dell'umore ed una peggiore qualità di vita.

Nel gruppo da di pazienti BPCO esaminato per il polimorfismo FKBP5 rs4713916, i pazienti FKBP5 rs4713916 GA sembrano non rientrare nel cluster di comorbidità "psicologica".

Al contrario i pazienti FKBP5 rs4713916 GG possono rientrare nel cluster di comorbidità "psicologica", caratterizzato da condizioni psicologiche degne di attenzione clinica, rappresentando un sottogruppo importante di pazienti cronici per i quali studiare programmi di riabilitazione mirati. I dati sono riportati nelle tabelle 1,2,3.

Tabella 1. Caratteristiche sociodemografiche e cliniche della popolazione studiata (N=70), stratificata second il genotipo FKBP5rs4713916 (GG or GA).

Characteristics	GG (N=57)	GA (N=13)
Gender		
<i>Male</i>	40.35%	53.85%
<i>Female</i>	59.65%	46.15%
Age	72.66±8.6	74.76±6.4
Education (years)	9.21±4.3	7.0±2.3
Marital Status		
<i>Married / With partner</i>	50%	61.54%
<i>Widower</i>	35.09%	15.38%
<i>Unmarried</i>	3.51%	7.69%
<i>Separated / Divorced</i>	12.28%	15.38%
Smoking Habit		
<i>Current smoker</i>	16.33%	15.38%
<i>Ex-smoker</i>	73.47%	76.92%
<i>Non-smoker</i>	10.20%	7.69%
Living situation		
<i>Caregiver Presence</i>	73.69%	76.92%
<i>None</i>	26.32%	23.08%
Current occupation		
<i>Employed</i>	18.74%	0
<i>Housewife</i>	10.42%	23.08%
<i>Retired</i>	70.83%	76.92%
LTOT	33.3%	30.77%
ICS therapy	100%	100%
BMI	27.95±8.5	28.83±9.5
CIRS		
<i>Severity</i>	1.614± 0.242	1.531± 0.192
<i>Comorbidity</i>	2.449± 1.444	2.889± 1.054
<i>Number x Patients</i>	3.593± 1.807	3.100±1.595
ComorbidityCondition		
<i>Circulatory System Diseases (ICD-9-CM 390-459)</i>	44 (77.2%)	10 (76.9%)
<i>Endocrine, Nutritional, Metabolic, and Immunity Disorders (240-279)</i>	24 (42.1%)	6 (38.5%)
<i>Genitourinary System Diseases (580-629)</i>	7 (12.3%)	2 (15.4%)
<i>Neoplasms</i>	3 (5.3%)	1 (7.7%)
Drugs for Neurologicaldiseases		
<i>Anti-Anxiety, Antidepressant, Antipsychotic, Hypnotic –Sedative</i>	19 (33.33 %)	4 (30.71%)
<i>Antiepileptic</i>	4 (7.02%)	1 (7.69%)
<i>Anti-Parkinson</i>	1 (1.75%)	0
<i>Analgesic</i>	2 (3.51%)	0
<i>Anti-dizziness</i>	1 (1.75%)	0
<i>No SNC Drugs</i>	30 (52.63%)	8 (61.54%)

* Data are expressed as mean±SD or percentage.

Table 2. Caratteristiche cognitive della popolazione (N=70), stratificata secondo il genotipo FKBP5 rs4713916 (GG, GA).

Characteristics	GG (N=57)	GA (N=13)	p
MMSE			
<i>Adjusted scores</i>	25.81±2.37	26.32±3.36	NS [†]
<i>Score range</i>			
30	0	0	
23.9-30	48 (84.2%)	10 (76.9%)	NS ^{††}
≤23.8	9 (15.4%)	3 (23.1%)	
MoCA*			
<i>Adjusted scores</i>	22.77±4.45	26.34±3.57	0.0094 [†]
<i>ES=0 (0→17.362)</i>	9 (17.4%)	0	
<i>ES=1 (17.363→19.500)</i>	6 (11.5%)	1 (7.7%)	
<i>ES=2 (19.501→21.562)</i>	4 (7.7%)	0	0.0361 ^{††}
<i>ES=3 (21.563→23.361)</i>	14 (26.9%)	1 (7.7%)	
<i>ES=4 (>23.361)</i>	19 (36.5%)	11 (84.6%)	
ROCF *			
<i>Direct copy</i>	26.97±6.79	28.56±10.5	NS [†]
		8	
<i>ES=0 (≤28.87)</i>	28 (53.8%)	3 (25%)	
<i>ES=1 (28.88 → 30.04)</i>	7 (13.5%)	0	
<i>ES=2 (30.05 → 31.21)</i>	1 (1.9%)	3 (25%)	0.0055 ^{††}
<i>ES=3 (31.22 → 32.40)</i>	0	0	
<i>ES=4 (≥32.41)</i>	16 (30.8%)	6 (50%)	
<i>Delayed copy</i>	13.32±5.77	12.75±7.0	NS [†]
<i>ES=0 (≤9.46)</i>	11 (21.2%)	4 (33.3%)	
<i>ES=1 (9.47 → 11.22)</i>	7 (13.5%)	0	
<i>ES=2 (11.23 → 12.98)</i>	7 (13.5%)	4 (33.3%)	NS ^{††}
<i>ES=3 (12.99 → 14.73)</i>	7 (13.5%)	0	
<i>ES=4 (≥14.74)</i>	20 (38.5%)	4 (33.3%)	

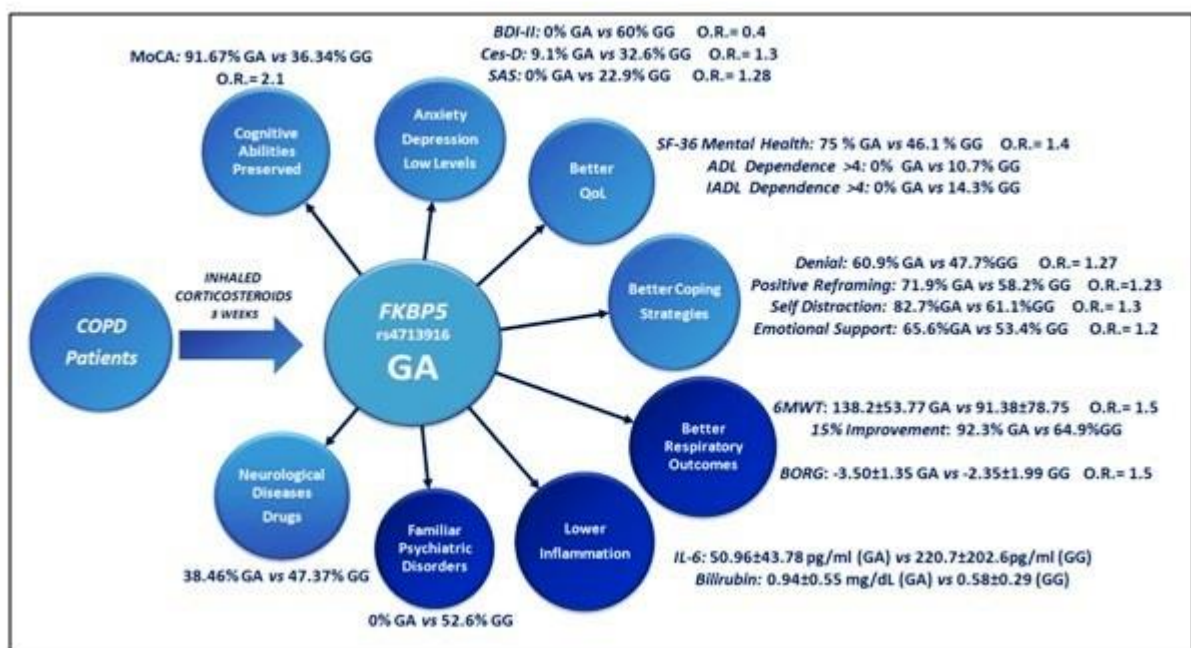
Data are expressed either as mean±SD or in number of patients (percentage). Adjusted scores are classified into five equivalent scores (ES). *5 GG carriers refused the MoCA and ROCF questionnaires; 1 GA carrier refused the ROCF questionnaire. [†] Unpaired T Test. ^{††} Analysis of contingency table: Chi-square.

Table 3. Parametri psicologici e qualità di vita della popolazione (N=70), stratificata secondo il genotipo FKBP5 rs4713916 (GG, GA). Dati espresso come media e deviazione standard.

Characteristics	GG (N=57)	GA (N=13)	P*
BDI-II	15.12±8.16	5.80±2.17	0.0054
CES-D	12.50±10.07	4.73±6.65	0.0046
<i>Depressive Affect</i>	3.10±4.62	0.64±1.57	0.0231
<i>Well-Being</i>	4.21±2.77	2.64±2.80	NS
<i>Somatic</i>	5.00±4.31	1.45±2.77	0.0043
<i>Inter-Personal</i>	0.19±0.57	0.0±0.0	NS
SAS	29.50±8.46	22.55±2.25	0.0017
<i>Affective symptoms</i>	7.27±2.15	5.67±1.12	0.0104
<i>Well-Being</i>	9.77±3.35	7.00±1.94	0.0111
<i>Somatic symptoms</i>	22.50±6.84	17.00±1.77	0.0062
SF-36			
<i>General Health</i>	73.21±12.49	74.42±7.42	NS
<i>Mental Health</i>	61.64±8.79	67.67±9.26	0.0455
Brief COPE†			
<i>Denial</i>	3.682±1.567	4.877	0.018
<i>Positive Reframing</i>	4.659±1.916	5.750±1.165	0.0798
<i>Self-distraction</i>	4.886±1.660	6.625±0.916	0.007
<i>Use of emotional support</i>	4.273±1.453	5.250±0.886	0.05

Data are expressed as mean±SD; *Non parametric Mann-Whitney test; †Kruskal-Wallis test.

La Figura 1 riporta la rappresentazione schematica dell'influenza del genotipo GA sulle caratteristiche cliniche, cognitive e psicologiche dei pazienti con BPCO sottoposti a riabilitazione polmonare. I dati pubblicati in precedenza (Russo et al., 2019b) sono riportati in colore più scuro.



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 processo di invecchiamento si assiste ad una riduzione (fisiologica o patologica) delle riserve funzionali di organi e apparati esponendo l'individuo ad un aumentato rischio di malattia e di perdita funzionale. Quando l'organismo si trova in una condizione di vulnerabilità e di rischio che lo espongono ad un equilibrio instabile di fronte ad eventi negativi, si parla di "fragilità".

La fragilità è uno stato dinamico che colpisce un individuo che sperimenta perdite in uno o più domini funzionali (fisico, psichico, sociale), causate dall'influenza di più variabili che aumentano il rischio di risultati avversi per la salute [Gobbens RJ, van Assen MA, Luijkx KG, Wijnen-Sponselee MT, Schols JM. Determinants of frailty J Am Med Dir Assoc. 2010 Jun;11(5):356-64]. È una sindrome fisiologica caratterizzata dalla riduzione delle riserve funzionali e dalla diminuita resistenza allo stress, risultante dal declino cumulativo di sistemi fisiologici multipli che causano vulnerabilità e conseguenze avverse, correlata a pluripatologia, disabilità, rischio di istituzionalizzazione e mortalità.

Il concetto di fragilità sposta l'ottica da un approccio al paziente anziano centrato sulla malattia o sull'organo, ad una visione più integrata e olistica della salute, considerando e comprendendo tutte le sfere che caratterizzano il soggetto.

Il concetto di fragilità implica la necessità di potenziare la ricerca scientifica con l'obiettivo di diffondere la cultura di "come invecchiare bene".

In accordo al National Institute of Aging, riconoscere le caratteristiche biologiche età-correlate della fragilità è importante per comprendere le sue determinanti fisiopatologiche. L'identificazione di marcatori biologici permette una rivelazione della fragilità in fase precoce, quando vi sono maggiori possibilità di prevenzione.

Obiettivo primario dello studio risiede nella identificazione di marcatori biologici che permettano una prevenzione primaria e secondaria dei soggetti fragili.

Ci si aspetta di poter identificare i marcatori biologici di fragilità e di poter creare un profilo personalizzato del paziente in prospettiva di una appropriata prevenzione e presa in carico da parte del SSN.

In una popolazione sempre più anziana è necessario identificare l'eventuale fragilità della persona in fase precoce. La fragilità è una delle principali cause di morte negli anziani.

La creazione di un profilo personalizzato di un soggetto potenzialmente fragile ne permette sia la prevenzione che l'individuazione precoce con conseguenti benefici sulla salute e qualità di vita del paziente nonché sui costi del SSN.

A) Effetto della storia familiare, occupazione e dieta sul rischio di malattia di Parkinson: uno studio caso-controllo.

La eziologia della malattia di Parkinson (PD) è ancora molto controversa, con una peculiare mancanza di fattori di rischio stabiliti o comportamenti protettivi.

È stato condotto uno studio caso-controllo su 634 pazienti con PD idiopatica ricoverati dal 2011 al 2015 in due ospedali situati nel centro Italia e 532 controlli abbinati per ospedale, sesso ed età (± 5 anni). Il questionario di studio includeva domande sui fattori dell'ospite, la storia familiare, la residenza, l'occupazione e lo stile di vita. Gli odds ratio (OR) per PD e gli intervalli di confidenza al 95% (IC) sono stati stimati con regressione logistica, aggiustando per fattori confondenti effettivi e potenziali.

Un OR inferiore è stato osservato nelle femmine (0,74; IC 95%: 0,58-0,96), mentre le classi di età più avanzata hanno mostrato un rischio costantemente aumentato di PD ($p < 0,005$) a partire dalla classe 65-69 anni. I soggetti che hanno segnalato un parente di primo grado affetto da PD, hanno mostrato un aumento borderline più evidente negli arruolati nel centro urbano di Roma (OR = 1,65; IC 95%: 1,09-2,50). Una significativa riduzione del rischio è stata associata al fumo corrente (OR = 0,48; IC 95%: 0,24-0,54) e

al consumo di verdure ($p < 0,03$), mentre gli aumenti borderline sono stati associati al consumo di carne e salumi. Le attività professionali classificate secondo le categorie ISCO-08 non hanno mostrato un aumento del rischio, mentre sono stati trovati OR superiori per piloti e medici.

Table 1. Selected demographic and life-style characteristics of the study population by PD status (n (%)).

Characteristic	PD Cases (n = 634)	Controls (n = 532)	P-value
			Fisher's exact test
Sex			0.004
Males	365 (57.6)	261 (49.1)	
Females	269 (42.4)	271 (50.9)	
Age class			0.001
≤ 59 y.	112 (17.7)	141 (26.5)	
60–64 y.	89 (14.0)	88 (16.5)	
65–69 y.	126 (19.9)	102 (19.2)	
70–74 y.	161 (25.4)	102 (19.2)	
≥ 75 y.	146 (23.0)	99 (18.6)	
Education			0.055
Primary school (5 y.)	126 (19.9)	80 (15.0)	
Secondary school(6–8 y.)	151 (23.8)	150 (28.2)	
High school(9–14 y.)	214 (33.8)	194 (36.5)	
Academic qualification (≥ 15y.)	140 (22.1)	103 (19.4)	
Residence			0.153
Urban	471 (74.3)	370 (69.5)	
Mixed	119 (18.8)	124 (23.3)	
Rural	36 (5.7)	30 (5.6)	
Smoking habit			<0.001
Non smoker	341 (53.8)	244 (45.9)	
Former smoker	228 (36.0)	187 (35.1)	
Current smoker	65 (10.2)	101 (19.0)	
Smoking duration			<0.001
0	341 (53.8)	244 (45.9)	
1–20	126 (19.9)	75 (14.1)	
21–40	105 (16.6)	118 (22.2)	
>40	53 (8.4)	88 (16.5)	
Pack-years			<0.001
0	341 (53.8)	244 (45.9)	
1–10	120 (18.9)	70 (13.2)	
11–30	97 (15.3)	109 (20.5)	
>30	67 (10.6)	101 (19.0)	
Passive smoking			0.292
No	167 (26.3)	154 (28.9)	
Yes	465 (73.3)	372 (69.9)	
Occupational activity			0.413
Science and engineering professionals	29 (4.7)	18 (3.4)	
Health professionals	26 (4.2)	17 (3.2)	
Teaching professionals	44 (7.1)	38 (7.2)	
Business and administration professionals	11 (1.8)	10 (1.9)	
Information and communications technology professionals	3 (0.5)	3 (0.6)	
Legal, social and cultural professionals	25 (4.0)	16 (3.0)	
Clerical support workers	160 (25.7)	173 (32.9)	
Services and sales workers	107 (17.2)	93 (17.7)	
Skilled agricultural workers	11 (1.8)	9 (1.7)	
Craft and related trade workers	65 (10.4)	43 (8.2)	

(Continued)

Table 1. (Continued)

Characteristic	PD Cases (n = 634)	Controls (n = 532)	P-value
			Fisher's exact test
Plant and machine operators and assemblers	64 (10.3)	45 (8.6)	
Armed forced occupations	11 (1.8)	4 (0.8)	
Housewives	65 (10.4)	57 (10.8)	
Prisoners	1 (0.2)	0 (0.0)	
Physicians	15 (2.4)	5 (0.9)	
Pilots	6 (0.9)	1 (0.2)	
Family history of PD (all relatives/1 st degree relatives)			<0.001/ 0.279
No	490 (77.3)/ 551 (86.9)	467 (87.8)/ 474 (89.1)	
Yes	144 (22.7)/ 83 (13.1)	65 (12.2)/ 58 (10.9)	

Table 2. Dietary profile of the study population by PD status (values are mean \pm SD or n (%)).

Characteristic	PD Cases (n = 634)	Controls (n = 532)	P-value
			Fisher's exact test
BMI			
Customary	25.8 \pm 3.9	25.8 \pm 4.1	0.841*
Current	26.0 \pm 4.2	26.5 \pm 4.3	0.071*
Fruit consumption			
Never	1 (0.2)	4 (0.8)	0.351
Once a month	6 (0.9)	6 (1.1)	
Once a week	93 (14.7)	67 (12.6)	
Once a day	532 (83.9)	447 (84.0)	
Vegetable consumption			
Never	3 (0.5)	1 (0.2)	0.042
Once a month	9 (1.4)	6 (1.1)	
Once a week	186 (29.3)	119 (22.4)	
Once a day	434 (68.5)	397 (74.6)	
Meat consumption			
Never	26 (4.1)	28 (5.3)	0.040
Once a month	63 (9.9)	63 (11.8)	
Once a week	486 (76.7)	407 (76.5)	
Once a day	56 (8.8)	26 (4.9)	
Fish consumption			
Never	19 (3.0)	12 (2.3)	0.549
Once a month	134 (21.1)	100 (18.8)	
Once a week	468 (73.8)	400 (75.2)	
Once a day	10 (1.6)	12 (2.3)	
Cold cuts consumption			
Never	41 (6.5)	40 (7.5)	0.014
Once a month	117 (18.5)	113 (21.2)	
Once a week	394 (62.1)	334 (62.8)	
Once a day	79 (12.5)	37 (7.0)	
Coffee consumption			
Never	71 (11.2)	48 (9.0)	0.061
Once a month	21 (3.3)	12 (2.3)	
Once a week	22 (3.5)	8 (1.5)	
Once a day	518 (81.7)	456 (85.7)	
Coffee consumption (cups/Day)			
0-1	259 (40.9)	187 (35.2)	0.120
2	207 (32.6)	174 (32.7)	
>3	166 (26.2)	162 (30.4)	
Missing	2 (0.3)	9 (1.7)	
Tea consumption			
Never	257 (40.5)	239 (44.9)	0.361
Once a month	168 (26.5)	130 (24.4)	
Once a week	86 (13.6)	69 (13.0)	
Once a day	121 (19.1)	86 (16.2)	
Cola consumption			
Never	321 (50.6)	297 (55.8)	0.043
Once a month	189 (29.8)	156 (29.3)	

(Continued)

Table 2. (Continued)

Characteristic	PD Cases (n = 634)	Controls (n = 532)	P-value
			Fisher's exact test
Once a week	77 (12.1)	50 (9.4)	0.147
Once a day	44 (6.9)	21 (3.9)	
Wine consumption			
Never	138 (21.8)	141 (26.5)	0.381
Occasionally	242 (38.2)	194 (36.5)	
Yes	253 (39.9)	194 (36.5)	
Beer consumption			
Never	253 (39.9)	232 (43.6)	0.381
Occasionally	352 (55.5)	277 (52.1)	
Yes	27 (4.3)	19 (3.6)	

*t-test

Table 3. Association of demographic parameters with PD status (OR and 95% CIs*).

	Odds Ratio	95% Confidence Interval	P value (LRT)
Sex			0.021
<i>Males</i>	Ref.	-	
<i>Females</i>	0.74	0.58–0.96	
Age-class			0.005
< 59 y.	Ref.	-	
60–64 y.	1.28	0.86–1.92	
65–69 y.	1.57	1.08–2.30	
70–74 y.	1.92	1.33–2.79	
≥ 75 y.	1.76	1.21–2.57	
Education			0.376
<i>Primary school (5 y.)</i>	Ref.	-	
<i>Secondary school(6–8 y.)</i>	0.75	0.51–1.10	
<i>High school(9–14 y.)</i>	0.87	0.60–1.26	
<i>Academic qualification ≥ 15y.)</i>	0.98	0.65–1.48	
Residence			0.103
<i>Urban</i>	Ref.	-	
<i>Mixed</i>	0.72	0.53–0.98	
<i>Rural</i>	0.97	0.57–1.65	
Family history of PD (all relatives)			<0.001
<i>No</i>	Ref.	-	
<i>Yes</i>	2.22	1.59–3.10	
Family history of PD (1st degree relatives)			0.124
<i>No</i>	Ref.	-	
<i>Yes</i>	1.34	0.92–1.93	

*ORs and 95% CIs computed from an unconditional logistic regression model and adjusted for sex, age, smoking habit, intake of vegetable, meat, and cold cuts.

Table 4. Association of selected food items with PD status (OR and 95% CIs)*.

	Odds Ratio	95% Confidence Interval	P value (LRT)	P value for trend
Meat consumption			0.085	0.028
Never	Ref.	-		
Once a month	0.93	0.48-1.80		
Once a week	1.23	0.69-2.19		
Once a day	1.99	0.95-4.17		
Cold cuts consumption			0.066	0.041
Never	Ref.	-		
Once a month	0.93	0.55-1.58		
Once a week	1.09	0.67-1.77		
Once a day	1.78	0.97-3.30		
Vegetable consumption			0.033	0.005
Never	Ref.	-		
Once a month	0.50	0.04-6.48		
Once a week	0.55	0.05-5.53		
Once a day	0.37	0.04-3.67		
Coffee consumption			0.178	0.169
Never	Ref.	-		
Once a month	1.08	0.47-2.45		
Once a week	1.76	0.70-4.39		
Once a day	0.80	0.53-1.21		
Carbonated drinks consumption			0.058	0.007
Never	Ref.	-		
Once a month	1.18	0.89-1.56		
Once a week	1.40	0.93-2.12		
Once a day	1.95	1.11-3.44		
Wine consumption			0.495	0.240
Never	Ref.	-		
Occasionally	1.22	0.88-1.68		
Yes	1.12	0.80-1.58		
Beer consumption			0.452	0.229
Never	Ref.	-		
Occasionally	1.17	0.91-1.52		
Yes	1.22	0.64-2.35		

*ORs and 95% CIs computed from an unconditional logistic regression model and adjusted for sex, age, smoking habit, intake of vegetable, meat, and cold cuts.

Table 5. Association of selected sectors of occupation with PD status (OR and 95% CIs)*.

Occupational activity	PD Cases (n = 634)	Controls (n = 532)	Odds Ratio	95% Confidence Interval	P value (LRT)
					0.893
Clerical support worker	160	173	Ref.	-	
Science and engineering professionals	29	18	1.34	0.69-2.61	
Health professionals	26	17	1.59	0.81-3.12	
Teaching professionals	44	38	1.33	0.79-2.23	
Business and administration professionals	11	10	0.85	0.34-2.14	
Information and communications technology professionals	3	3	1.36	0.26-7.01	
Legal, social and cultural professionals	25	16	1.33	0.67-2.64	
Services and sales workers	107	93	1.21	0.83-1.76	
Skilled agricultural workers	11	9	1.04	0.41-2.67	
Craft and related trade workers	65	43	1.29	0.81-2.06	
Plant and machine operators and assemblers	64	45	1.37	0.86-2.18	
Armed forces occupations	11	4	2.43	0.73-8.13	
Housewives	65	57	1.25	0.78-2.00	
Physicians	15	5	3.07	1.05-9.01	
Pilots	6	1	4.73	0.54-41.7	

*ORs and 95% CIs computed from an unconditional logistic regression model and adjusted for sex, age, smoking habit, intake of vegetable, meat, and cold cuts.

I risultati di questo studio hanno confermato il rischio più elevato di PD nei maschi e negli anziani e l'associazione inversa con l'abitudine al fumo. Viene suggerito il possibile ruolo eziologico del raggruppamento familiare, dell'abitudine alimentare e di alcune mansioni lavorative.

B) Associazione di mediatori dell'infiammazione con lo stato di fragilità negli anziani: risultati di una revisione sistematica e di una meta-analisi

La fragilità è una sindrome geriatrica definita come uno stato di estrema vulnerabilità ai fattori di stress, che porta a un rischio maggiore di esiti negativi relativi alla salute.

"Inflammaging", uno stato di infiammazione cronica di basso grado correlato all'età, è caratterizzato da una maggiore concentrazione di citochine pro-infiammatorie e proteine della fase acuta. L'inflammaging è stato postulato come un meccanismo alla base della fragilità e diversi studi hanno testato la relazione tra fragilità e concentrazione di mediatori infiammatori. Questa revisione sistematica e meta-analisi intendeva testare se i mediatori dell'infiammazione fossero prodotti in eccesso negli anziani fragili. Tra i 758 articoli identificati nella ricerca in letteratura, 50 sono stati inclusi nella revisione sistematica e 39 nelle tre meta-analisi, ovvero proteina C-reattiva (CRP), interleuchina 6 (IL6) e fattore di necrosi tumorale α . Per ridurre l'eterogeneità, le meta-analisi sono state limitate agli studi che identificano la fragilità da Fried *et al.*

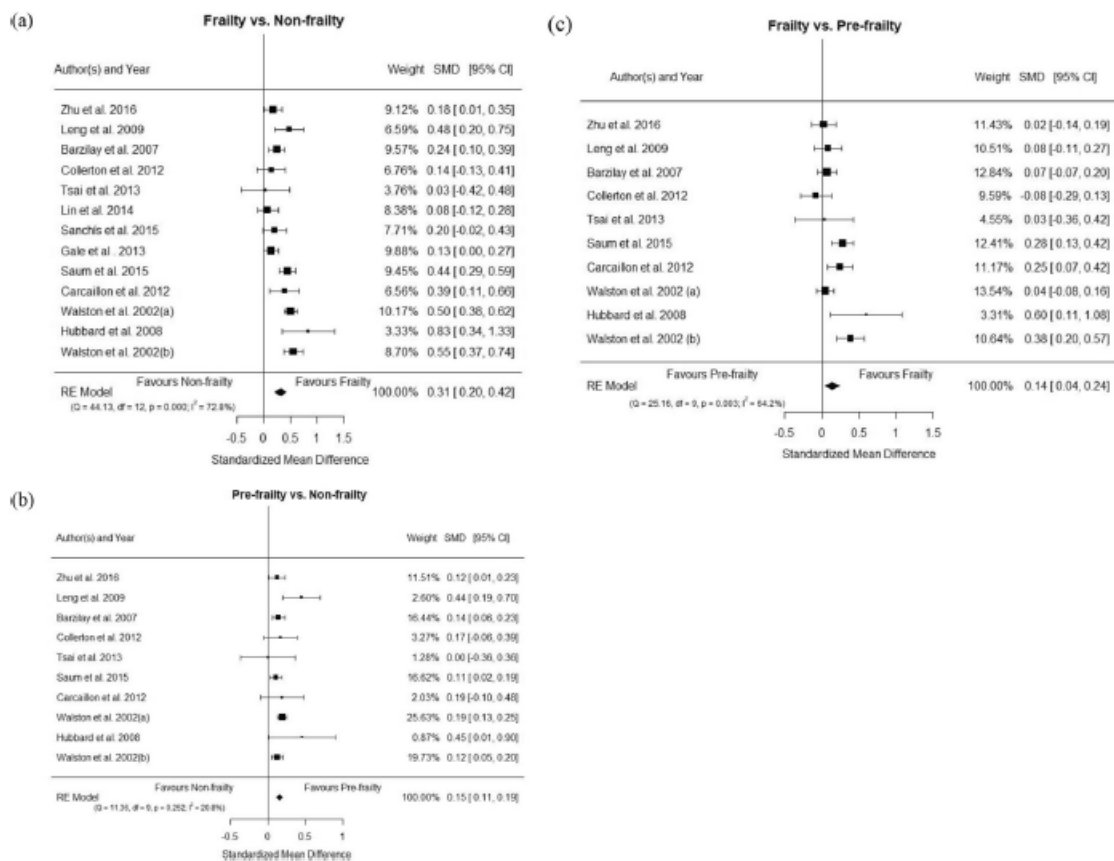


Fig. 2 Forest plots of CRP concentration (sensitivity analyses excluding Hwang et al. [38] and Marcos-Pérez et al. [51]): a frailty vs. non-frailty groups; b pre-frailty vs. non-frailty groups; c frailty vs. pre-frailty groups. In order to respect original data provided by

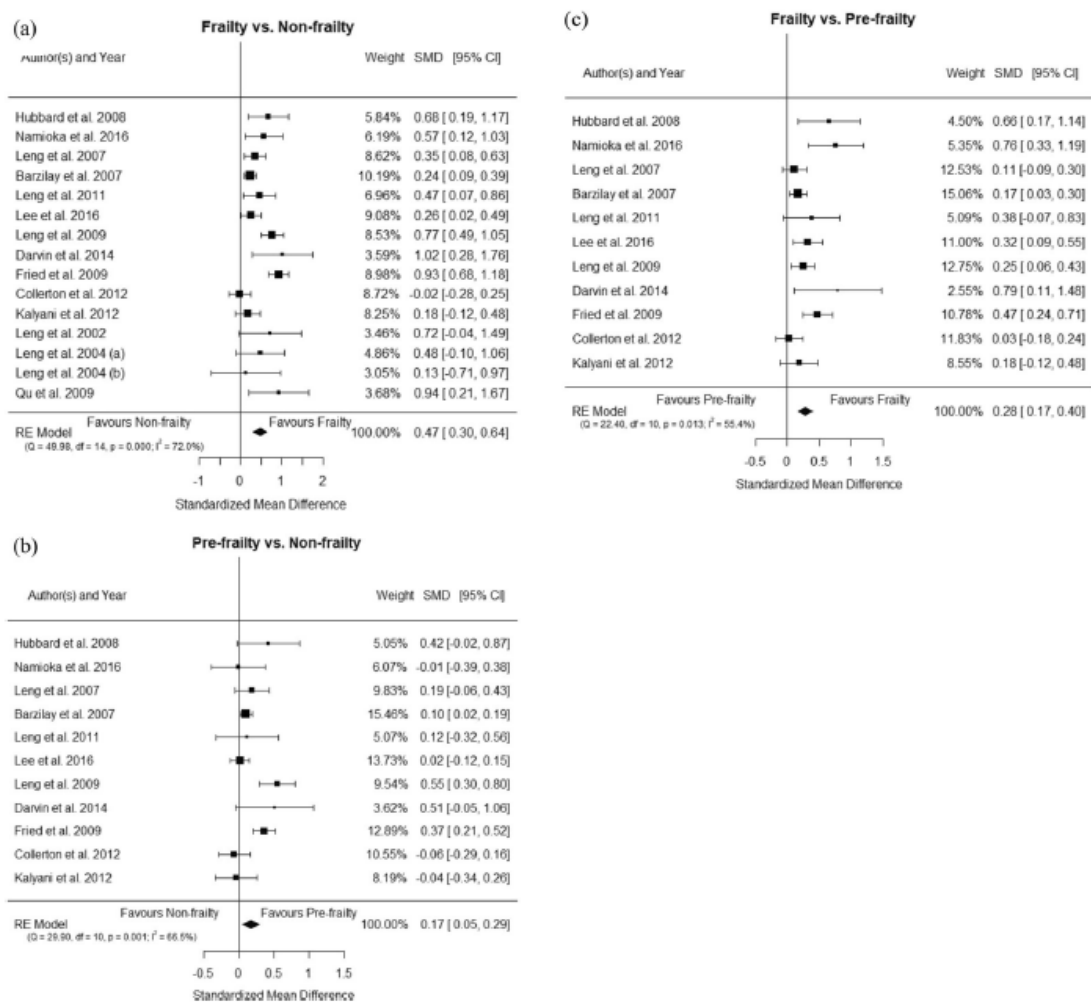


Fig. 3 Forest plots of IL6 concentration (sensitivity analyses excluding Marcos-Pérez et al. [51]): a frailty vs. non-frailty groups; b pre-frailty vs. non-frailty groups; c frailty vs. pre-frailty groups

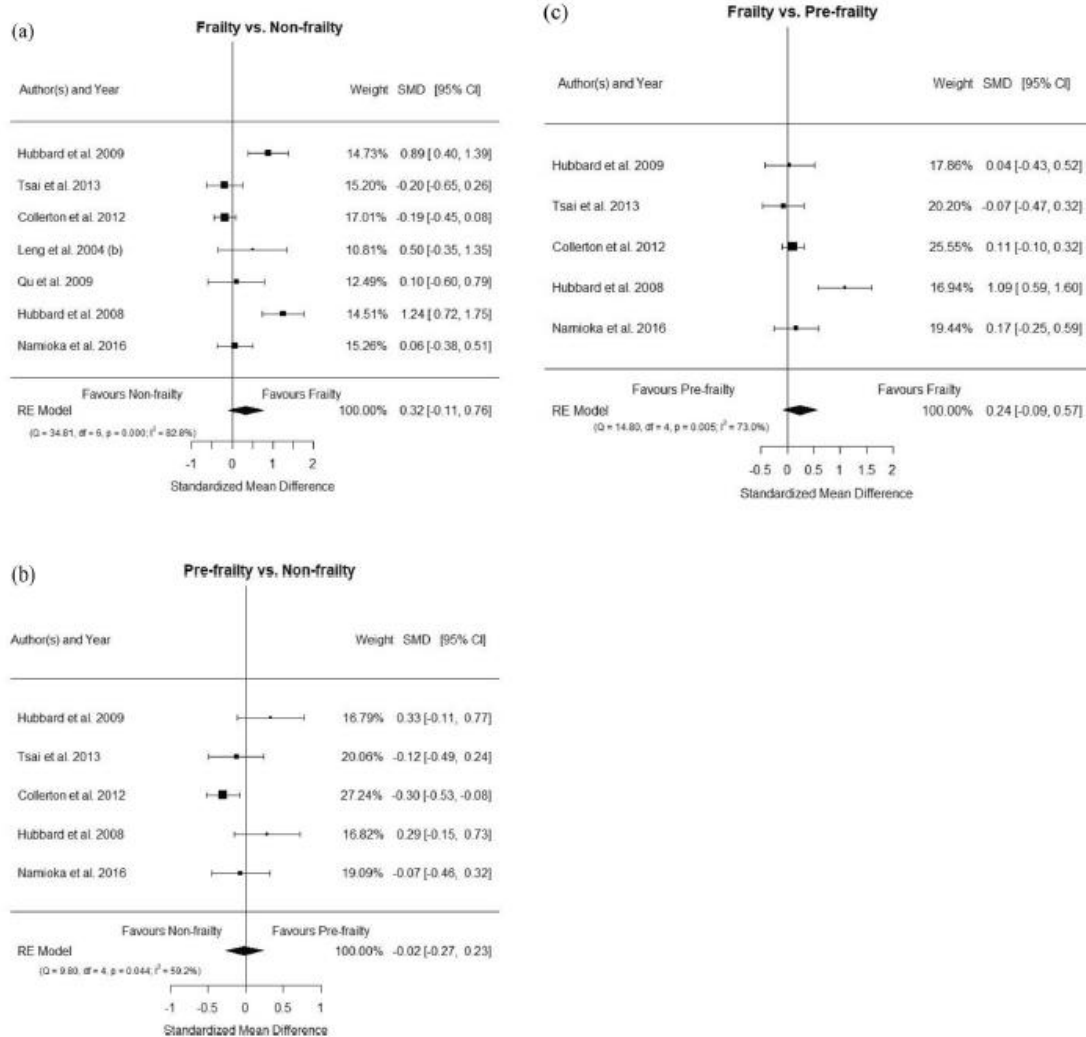


Fig. 4 Forest plots of TNF α concentration (sensitivity analyses excluding Marcos-Pérez et al. [51]): a frailty vs. non-frailty groups; b pre-frailty vs. non-frailty groups; c frailty vs. pre-frailty groups

Questo lavoro ha stabilito una forte associazione tra biomarcatori infiammatori e fragilità, confermando il ruolo dell'infiammazione cronica legata all'età nello sviluppo della fragilità.

C) Livelli bassi di vitamina D e stato di fragilità negli anziani: una revisione sistematica e una meta-analisi

La carenza sierica di vitamina D è diffusa tra gli anziani ed è un potenziale fattore di rischio modificabile per la fragilità. Inoltre, la fragilità è stata suggerita come un passaggio intermedio nell'associazione tra bassi livelli di vitamina D e mortalità. Pertanto, abbiamo condotto una revisione sistematica della letteratura e della meta-analisi per testare la possibile associazione di basse concentrazioni di 25-idrossivitamina D (25 (OH) D) sierica, un marker dello stato della vitamina D, con la fragilità nella vita successiva. Abbiamo esaminato gli studi trasversali o longitudinali che valutavano le popolazioni di anziani e identificavano la fragilità mediante una scala attualmente convalidata. Le meta-analisi erano limitate ai dati trasversali degli studi che utilizzavano il fenotipo di Fried per identificare la fragilità. Ventisei studi sono stati considerati nella sintesi qualitativa e tredici studi sono stati inclusi nelle meta-analisi. Le analisi quantitative hanno mostrato differenze significative nei confronti di fragili (differenza media standardizzata (SMD) -1,31, intervallo di confidenza 95% (CI) (-2,47, -0,15), $p = 0,0271$) e pre-fragili (SMD -0,79, 95% CI (-1,58, -0,003), $p = 0,0491$) soggetti vs. soggetti non fragili. Le analisi di sensibilità hanno ridotto l'eterogeneità, risultando in una differenza tra i gruppi più piccola ma comunque altamente significativa.

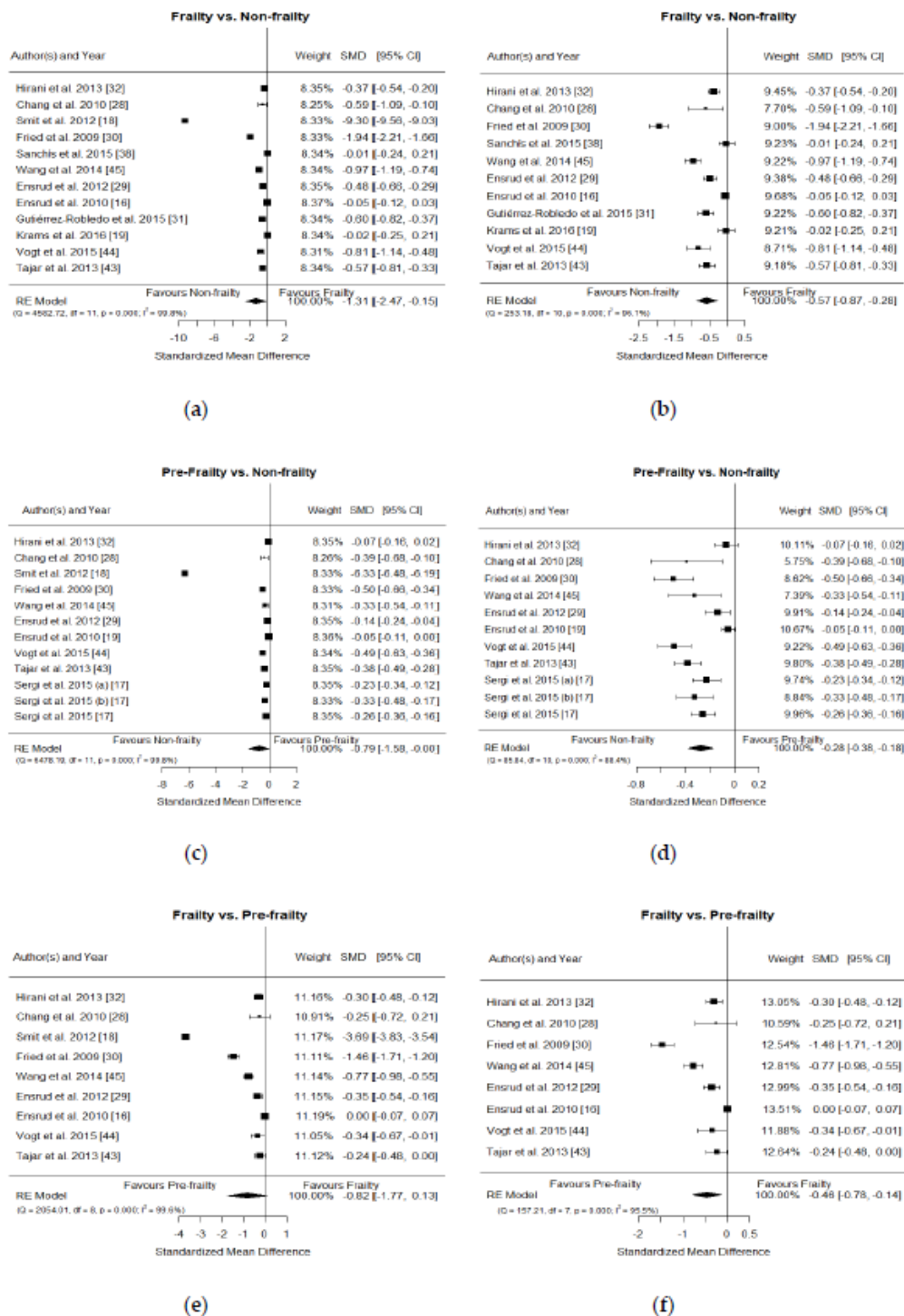
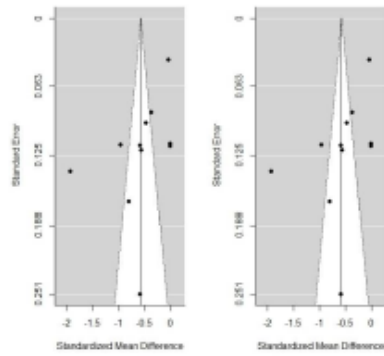
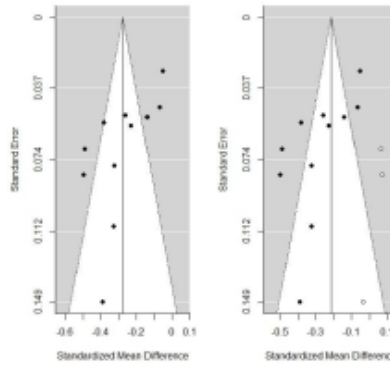


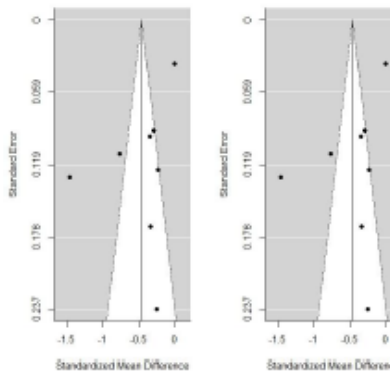
Figure 2. Forest plots for frailty vs. non-frailty comparison (a,b), pre-frailty vs. non-frailty comparison (c,d), and frailty vs. pre-frailty comparison (e,f); forest plots including all studies (a,c,e) and sensitivity analyses excluding Smit et al. [18] (b,d,f) are depicted. In order to respect original data provided by Sergi et al. [17], three populations from this study which differ in the number of positive criteria to classify pre-frail subjects were included in the meta-analyses comparing pre-frailty vs. non-frailty: pre-frail subjects with only one positive frailty criterion were embodied in “Sergi et al. 2015 (a) [17]”; pre-frail subjects with two positive criteria were embodied in “Sergi et al. 2015 (b) [17]”; and all pre-frail subjects (with one and two positive criteria) were embodied in “Sergi et al. 2015 [17]”. RE: random-effects.



(a)



(b)



(c)

Figure 3. Funnel plots for 25(OH)D concentrations (sensitivity analyses excluding Smit et al. [18]). (a) frailty vs. non-frailty comparison, (b) pre-frailty vs. non-frailty comparison, and (c) frailty vs. pre-frailty comparison. Original data are shown on the left, and filled-in data in the trim-and-fill method on the right.

I risultati ottenuti indicano che livelli inferiori di 25 (OH) D sono significativamente associati con l'aumento della gravità della fragilità. Le sfide future includono studi interventistici che testano i possibili benefici dell'integrazione di vitamina D negli anziani per prevenire / attenuare la fragilità e gli esiti associati.

Laboratorio di Bioingegneria della Riabilitazione

Valutazione di efficacia e ottimizzazione del protocollo di Action Observation Therapy in pazienti neurologici

Negli ultimi anni, al fine di migliorare l'Attività della Vita Quotidiana (Activity of Daily Living, ADL), sono sorte nuove strategie non invasive in alternativa a terapie fisiche tradizionali come trattamenti riabilitativi. Il Trattamento di Osservazione dell'Azione (AOT), sostenuto da risultati raccolti attraverso studi clinici controllati randomizzati (RCT), è uno di queste. Questo nuovo approccio riabilitativo si basa sulle proprietà del Mirror Neuron System (MNS). La vasta ricerca degli ultimi 20 anni sul MNS umano (hMNS) ha mostrato la sua importanza nel riconoscimento dell'azione, nelle intenzioni motorie e in altre funzioni cognitive sociali.

Negli ultimi anni è sorto molto interesse sull'uso della Terapia di Osservazione dell'Azione (Action Observation Treatment; AOT) come metodo di riabilitazione dei pazienti neurologici. L'AOT, nato nel campo della neurofisiologia, è un approccio recente, basato sul sistema dei neuroni specchio (Mirror Neuron System; MNS) e utilizzato per ricostruire, nonostante le lesioni neurologiche, le funzioni motorie di soggetti con mobilità limitata, grazie al coinvolgimento delle regioni cerebrali che si attivano durante sia l'esecuzione che l'osservazione di azioni motorie. Il profilo corticale dei pazienti verrà utilizzato per discriminare tra i responder e i not-responder all'AOT. Risultati favorevoli dello studio proposto confermeranno la reale potenza traslazionale dell'AOT aggiornato se ottimizzato con la reale risposta corticale agli stimoli del trattamento. I risultati del progetto proposto possono rappresentare una svolta nel campo della riabilitazione poiché potranno contribuire a migliorare la qualità della vita dei pazienti neurologici.

Il progetto intende valutare la riabilitazione svolta con protocolli di AOT, analizzare le caratteristiche elettrofisiologiche e funzionali in grado di prevedere i risultati della riabilitazione e fornire un protocollo di riabilitazione AOT ottimizzato e innovativo per soggetti neurologici.

Le scale utilizzate valutano l'efficacia della terapia su pazienti neurologici per quanto riguarda il recupero di funzionalità dell'arto superiore. Inoltre, i parametri EEG, EMG e cinematici forniscono una descrizione quantitativa della risposta corticale agli stimoli, dei cambiamenti e del recupero muscolare e motorio. L'EEG descrive i cambiamenti avvenuti nelle aree corticali coinvolte nella pianificazione e nell'esecuzione motoria dopo la terapia AOT e indicano i biomarcatori neurofisiologici per predire l'efficacia AOT, mentre le misurazioni EMG e la registrazione cinematica dell'arto superiore forniscono una descrizione quantitativa dei cambiamenti nel reclutamento muscolare e nel recupero funzionale.

Il profilo corticale dei pazienti verrà utilizzato per discriminare tra i responder e i not-responder all'AOT, e inoltre una validazione scientifica di un programma AOT a domicilio facile e conveniente dal punto di vista economico può aprire la strada all'utilizzo estensivo di queste tecniche nella pratica clinica di riabilitazione e per trattare un gran numero di pazienti. Risultati favorevoli dello studio proposto confermeranno la reale potenza traslazionale dell'AOT aggiornato se ottimizzato con la reale risposta corticale agli stimoli del trattamento. I risultati del progetto proposto possono rappresentare una svolta nel campo della riabilitazione poiché potranno contribuire a migliorare la qualità della vita dei pazienti neurologici.

Lo studio è un esempio di potenziamento della medicina traslazionale basata sull'evidenza, dalle neuroscienze di base alla riabilitazione clinica. La ricerca si propone di raccogliere parametri clinici e di neuro-imaging per ottimizzare l'AOT e determinare indicatori prognostici dei responder all'approccio riabilitativo.

La mancanza di effetti negativi immediatamente impliciti nel tipo di trattamento e nella soluzione tecnologica per lo sviluppo della possibilità di gestire il trattamento direttamente a casa

del paziente conferisce a questa ricerca un approccio riabilitativo particolarmente impegnativo e innovativo.

Un primo obiettivo specifico di questo progetto è quello di confermare l'efficacia dell'osservazione dell'azione come strumento riabilitativo aggiuntivo per migliorare la funzione degli arti superiori in termini di bradicinesia e di manualità e per indagare la stabilità degli effetti del trattamento dopo 4/6 mesi di follow-up per quanto riguarda il miglioramento funzionale e la qualità della vita (QoL). Misure di outcome primarie: il miglioramento nei test Box and Block e Nine Hole Peg Test.

Outcome secondari: test Small coin rotation (SCR) e small lock rotation (SLR), CGI Clinical Global Impression, analisi 3D multifattoriale del movimento.

Per le valutazioni cliniche pre-post AOT sono state incluse diverse scale di valutazione riconosciute dalla letteratura e dalle linee guida internazionali. Le valutazioni cliniche sono state somministrate da un terapeuta ignaro dell'assegnazione del gruppo. Per ogni paziente idoneo sono stati registrati dati EEG ed EMG, biomarcatori, parametri cinematici e scale riabilitative per valutare deterioramento, capacità funzionali e recupero all'inizio (T0), alla fine di esso (T1), e alla visita di controllo (follow-up a 2 mesi) (T2).

Il segnale EEG è stato registrato (0,01-100 Hz passa-banda; frequenza di campionamento: 1024 Hz) utilizzando da 32 a 128 elettrodi (sistema 10-10 aumentato) dapprima durante lo stato di riposo e successivamente durante un task motorio di reaching, somministrato per mezzo di un set-up sperimentale implementato in Labview 2020. Dall'EEG durante lo stato di riposo sono state estratte le mappe topografiche dominanti e le variazioni in potenza in frequenza delle diverse componenti del ritmo EEG (Bande: alfa 8-13 Hz, beta bassa 13-18 Hz, beta alta 18-25 Hz).

I risultati ottenuti dimostrano che l'attivazione corticale delle aree motorie in risposta all'osservazione di azioni risulta sensibile al significato e alla finalità del gesto. Di conseguenza, si ritiene che la tecnica di Action Observation possa contribuire al recupero funzionale di pazienti affetti da ictus se si scelgono accuratamente le azioni da mostrare. Sulla base dei risultati ottenuti (diversa sollecitazione del sistema mirror a seconda della tipologia di stimolo visuomotorio) il terapeuta ha formulato la terapia riabilitativa ottimizzata distribuita su 15 sedute AOT in 5 settimane.

Per la valutazione funzionale del recupero motorio è stato implementato il pointing task in ambiente Labview. Il task propone la valutazione temporale della risposta cinematica del soggetto agli stimoli proposti a video. È stata realizzata una circonferenza lungo la quale sono stati posizionati 9 markers su punti strategici della figura geometrica. Il task inizia premendo un tasto da tastiera e, in maniera casuale, è prevista sullo schermo l'accensione a intermittenza di un marker che il paziente dovrà premere senza vincoli di tempo. Successivamente, si innesca l'inizio di un nuovo task premendo un tasto qualsiasi da tastiera.

Il sistema proposto valuterà:

- Tempo di risposta del soggetto dalla presentazione dello stimolo (Tempo di Andata, TA);
- Tempo di ritorno dallo schermo alla tastiera (Tempo di Ritorno, TR).

Sono stati implementati setup sensorizzati nei quali si prevede la somministrazione del pointing task sincronizzata al network di sensori indossabili (sensori IMU, EMG) e al sistema EEG per la valutazione della risposta evento-correlata.

Ci si aspetta che i risultati di questo studio offrano una base oggettiva per delineare un protocollo di riabilitazione AOT innovativo e ottimizzato basato sulle proprietà dell'MNS e su variabili predittive, in grado di indurre una plasticità cerebrale a lungo termine e promuovere le capacità nelle ADL.

Sistema di autoapprendimento per la classificazione di pattern neuromotori secondo il protocollo Action Observation Treatment (AOT)

Negli ultimi anni è sorto molto interesse sull'uso di terapie innovative (Action Observation Treatment, Riabilitazione Robotica, terapie in realtà virtuale o aumentata) come metodo di riabilitazione dei pazienti con patologie del SNC. La terapia dell'Osservazione dell'Azione (AOT), nata nel campo della neurofisiologia, è un approccio attuale, basato sul sistema dei neuroni specchio (MNS) ed è utilizzato per ricostruire, nonostante le lesioni neurologiche, le funzioni motorie dei soggetti con mobilità limitata, grazie al coinvolgimento delle regioni cerebrali che si attivano durante l'esecuzione di azioni.

Il progetto fornisce un nuovo approccio di analisi che permette, mediante le più recenti tecniche dell'autoapprendimento supervisionato, la classificazione degli stimoli visuo-motori in base alla finalità.

L'interpretazione e l'analisi avanzata dei ritmi EEG durante sessioni di AOT potrebbero essere uno strumento valido per implementare nuove piattaforme di Interfacce Cervello-Computer (Brain Computer Interface; BCI), migliorando significativamente la comunicazione in pazienti affetti da ictus cronico.

Il presente progetto ha come scopo quello di analizzare il segnale EEG in soggetti sottoposti all'AOT, permettendo, tramite utilizzo di reti neurali a riconoscimento di pattern e algoritmi di regressione, l'auto-apprendimento delle caratteristiche corticali che sono indici di una replica del movimento finalizzato nella corteccia motoria del paziente mediante il MNS umano:

- Valutazione dell'efficacia degli stimoli e delle strategie per l'ottimizzazione della terapia;
- Indagine sulle componenti di sincronizzazione e desincronizzazione evento-correlata (ERD/ERS) dei ritmi cerebrali in seguito alla presentazione di un determinato stimolo visivo;
- Analisi avanzata dell'attività corticale per la creazione di modelli innovativi per la classificazione delle categorie di azioni facenti parte del protocollo di AOT.

I biomarcatori studiati per la valutazione della terapia, la localizzazione della risposta corticale indotta e l'autoapprendimento delle Categorie di Azione da dati neuro elettrici, sono validati e confrontati con scale cliniche per valutare l'efficacia della terapia su pazienti neurologici per quanto riguarda il recupero di funzionalità dell'arto superiore.

- sincronizzazione e desincronizzazione evento-correlata (ERD/ERS) dei ritmi cerebrali in seguito alla presentazione di un determinato stimolo visivo
- Classificazione delle categorie di azioni facenti parte del protocollo di AOT

A partire dallo studio della letteratura scientifica e delle recenti tecniche di auto apprendimento applicate alla riabilitazione neuromotoria, si propone uno strumento innovativo di intelligenza artificiale capace di: individuare le caratteristiche neurofisiologiche per la valutazione della risposta corticale, individuare le aree e le caratteristiche tempo-frequenza in grado di classificare il gesto finalizzato durante la stimolazione visiva secondo il protocollo AOT, predire la risposta corticale a partire da stimoli noti.

21 soggetti, 11 soggetti senza alcun disturbo neurologico e 10 soggetti affetti da ictus unilaterale in fase cronica sono stati reclutati per un protocollo di registrazione EEG. Ai soggetti è stato richiesto di osservare attentamente le azioni svolte dalle persone su un monitor durante un protocollo di stimolazione realizzato garantendo la sincronizzazione tra due dispositivi, uno per l'acquisizione dei segnali e uno per la somministrazione dei video realizzata tramite Psychopy 2.0 (Open Science Tools Ltd). Il protocollo è stato suddiviso in due fasi: registrazione EEG in stato di riposo di 6 minuti con occhi aperti e chiusi e simulazione AOT di 15 minuti che include 40 video ripetuti tre volte in modo casuale intervallati da pochi secondi di intertrial a schermo nero seguito da una croce di fissazione.

I video proposti appartengono a una delle seguenti cinque categorie: No Human Control Actions (NHCA), Human Control Actions (HCA), Self Care Actions (SCA), External Actions, Feeding Actions (FA).

In seguito al pre-processing dei segnali EEG con il fine di garantire l'eliminazione di artefatti, essi sono stati segmentati prima di procedere all'algoritmo di calcolo dell'ERD/ERS nel dominio del tempo e della frequenza. Gli indici ottenuti sono stati inseriti come features nell'algoritmo di machine learning per la classificazione delle risposte corticali.

Lo studio dell'indice ERD/ERS nei domini del tempo e della frequenza ha permesso di evidenziare differenze significative sia tra le categorie sopra elencate sia all'interno di una stessa categoria, suddividendo gli stimoli visivi SCA, FEA e EA in due fasi, una di Reaching e una di Grasping. L'analisi statistica sui dati in frequenza ha evidenziato una differenza statisticamente significativa nelle due fasi del gesto FEA, mentre non è presente alcun risultato rilevante per le altre categorie. Parallelamente, nel dominio del tempo, è stato ottenuto un risultato analogo: si ha una desincronizzazione maggiore nei video di FEA rispetto alle altre categorie contenenti azioni finalizzate.

Lo studio svolto con una bassa numerosità campionaria ha evidenziato come il sistema dei neuroni specchio riesca non solo ad attivarsi in presenza di stimoli visuo-motori, ma anche a discriminare la finalità dell'azione proposta.

In futuro verranno effettuate ulteriori registrazioni su soggetti sani e patologici, mirate a incrementare la numerosità del campione e, con essa, la performance dell'algoritmo di classificazione dei pattern neuromotori.

Studio delle caratteristiche dinamiche, cinematiche ed elettrofisiologiche per la valutazione funzionale del gesto motorio

La realizzazione delle azioni quotidiane richiede un meccanismo estremamente complesso, che coinvolge il sistema nervoso, quello scheletrico e quello muscolare in una rigorosa combinazione di coordinazione ed equilibrio. La lesione netta o parziale di uno o più meccanismi coinvolti in un gesto motorio (cammino, reaching, grasping), derivante da traumi o patologie invalidanti, rappresenta la condizione nella quale la "funzione movimento" è alterata, ridotta, inefficace, inducendo un 'deficit' motorio e inficiando il corretto e fisiologico movimento, sia che esso interessi gli arti inferiori sia gli arti superiori.

Per molti disordini motori non è ancora sufficientemente chiaro quali siano i trattamenti terapeutici e i protocolli clinici che risultino oggettivamente più efficaci per il migliore recupero della funzionalità motoria; a tal proposito è necessaria l'implementazione di protocolli e metodologie che possano quantificare in modo non soggettivo le performance del paziente.

Il panorama tecnologico a disposizione consente la definizione di procedure e metodologie per la valutazione funzionale della disabilità motoria basata su criteri qualitativi, oggettivi, accurati, ripetibili ma soprattutto multidominio. La profilazione del paziente è infatti corredata non solo da indici di natura clinica ma anche da caratteristiche elettrofisiologiche.

Al fine di valutare e validare l'efficacia reale della riabilitazione e di personalizzarla durante il trattamento terapeutico è necessario addentrarsi il più possibile, in maniera non invasiva, in quelli che risultano essere i meccanismi corticali, muscolari e articolari adottati dal soggetto prima e dopo la terapia per realizzare il gesto motorio sotto indagine.

Il progetto, attraverso un'analisi dei dati biomeccanici ottenuti per mezzo di dispositivi low cost e portabili (sistemi inerziali) ha lo scopo specifico di comprendere i diversi e complicati processi che interessano due gesti motori, uno per arto superiore e uno per arto inferiore, al fine di meglio programmare interventi terapeutici (chirurgici, riabilitativi, farmacologici). Ulteriori obiettivi specifici sono:

- Validare un setup sperimentale indossabile per la valutazione delle caratteristiche cinematiche e muscolari di un gesto motorio
- Consentire una misura rapida, pulita, ripetibile, accurata della cinematica articolare durante test di valutazione clinica sensorizzati (ad esempio il Box and Block test modificato)

Le valutazioni biometriche del gesto motorio prima, durante e al follow up della terapia riabilitativa completano il quadro clinico del soggetto con solidità ed efficacia: la definizione di algoritmi di elaborazione dei dati biometrici grezzi delle traiettorie e dei segnali elettromiografici durante movimenti finora non ancora strumentati facilita la ricerca di biomarcatori ottenuti tramite protocolli standardizzati che forniscano informazioni dettagliate sul recupero funzionale e sulla sua predizione.

I principali outcome includono le traiettorie dell'arto superiore, il timing di attivazione muscolare, l'indice di compensazione del gesto (compensazioni del tronco).

Un'attenta analisi dei segnali fisiologici e biometrici durante il gesto sui soggetti sani, rispetto ai quali confrontare quelli dei soggetti affetti da una patologia neurologica, è il primo passo come valido supporto alla ricerca traslazionale che deve stimolare il clinico ed il terapeuta ad individuare approcci innovativi e standardizzati per facilitare il recupero motorio.

Rispondere al quesito sull'esistenza di una classificazione dei pattern motori durante l'evoluzione di un task dei soggetti sani potrà essere di supporto ai clinici nella predizione del recupero funzionale e, quindi, nell'indirizzamento della terapia più efficace in minor tempo, per la quale oggi non esistono protocolli standardizzati in funzione dello stato del paziente.

Ai fini della sperimentazione presentata in questo progetto, sono stati arruolati 20 soggetti sani tra i 35 ed i 65 anni valutati in termini di destrezza manuale tramite il Box and Blocks Test. Grazie, poi, all'utilizzo di un network di sensori indossabili e portabili (Movit System G1) è stato possibile quantificare la performance e stimare i fenomeni compensativi durante un task simile al Box and Blocks Test modificato. I risultati così ottenuti dai soggetti sani rappresentano il pattern rispetto al quale confrontare la performance di un soggetto affetto da Morbo di Parkinson e di un soggetto affetto da emisinrome piramidale, al fine di evidenziarne le differenze nei termini utili a valutare lo stato di avanzamento della gestualità del paziente.

L'obiettivo ultimo è quello di identificare dei pattern fisiologici e patologici per mezzo dell'implementazione di un codice versatile in ambiente MATLAB R2019a per il pre-processing, la segmentazione automatica e l'elaborazione dei dati.

Lo studio delle traiettorie, degli indici ad esse correlati e degli angoli articolari durante il test Box&Block strumentato ha fornito risultati interessanti soprattutto in relazione allo standard in gait analysis posto come riferimento. Il setup risulta portatile e facilmente ripetibile. L'analisi del movimento dell'arto superiore dei soggetti sani ha fornito la baseline per l'algoritmo, mostrando come il gesto motorio ha bassa variabilità inter-soggetto sia in termini di destrezza, sia in termini di smoothness e di angoli articolari.

Il pattern sano ottenuto rappresenta il riferimento biomeccanico associato al gesto motorio analizzato rispetto al quale vengono confrontate le misure cinematiche restituite dagli esperimenti in corso somministrati su pazienti affetti da Morbo di Parkinson.

È stato verificato che il network di sensori impiegati può essere agevolmente utilizzato al di fuori della struttura ospedaliera e consente allo specialista di valutare l'andamento riabilitativo del paziente semplificandone il follow-up e consentendo valutazioni quantitative al di fuori di centri specialistici.

Da ultimo, un aspetto non secondario da evidenziare che supporta il consolidamento nell'utilizzo di questa tecnica, è rappresentato dal costo di questo tipo di sensori più contenuto rispetto a quello di altri sistemi di Motion Capture.

La definizione di una terapia più efficace e mirata caso per caso, grazie all'utilizzo di test di valutazione strumentati come quelli descritti in questo progetto, favorisce, oltre alla personalizzazione della cura, un'azione riabilitativa opportuna che porti al recupero motorio nel minor tempo possibile, garantendo un risparmio in termini di tempo e risorse; la conseguente pianificazione dei report e delle indicazioni terapeutiche definite dai risultati consente la stesura di protocolli standardizzati.

PUBBLICAZIONI

Savoia C, Iellamo F, Caminiti G, Doran DA, Pullinger S, Innaurato M, Annino G, Manzi V. *Rethinking training in elite soccer players: comparative evidence of small sided games and official match play in kinematic parameters.*

J Sports Med Phys Fitness. 2020 Dec 14. Epub ahead ofprint.

Mammalian cells use a specialized and complex machinery for the removal of altered proteins or dysfunctional organelles. Such machinery is part of a mechanism called autophagy. Moreover, when autophagy is specifically employed for the removal of dysfunctional mitochondria, it is called mitophagy. Autophagy and mitophagy have important physiological implications and roles associated with cellular differentiation, resistance to stresses such as starvation, metabolic control and adaptation to the changing microenvironment. Unfortunately, transformed cancer cells often exploit autophagy and mitophagy for sustaining their metabolic reprogramming and growth to a point that autophagy and mitophagy are recognized as promising targets for ongoing and future antitumoral therapies. Sirtuins are NAD⁺-dependent deacylases with a fundamental role in sensing and modulating cellular response to external stresses such as nutrients availability and therefore involved in aging, oxidative stress control, inflammation, differentiation and cancer. It is clear, therefore, that autophagy, mitophagy and sirtuins share many common aspects to a point that, recently, sirtuins have been linked to the control of autophagy and mitophagy. In the context of cancer, such a control is obtained by modulating transcription of autophagy and mitophagy genes, by post translational modification of proteins belonging to the autophagy and mitophagy machinery, by controlling ROS production or major metabolic pathways such as Krebs cycle or glutamine metabolism. The present review details current knowledge on the role of sirtuins, autophagy and mitophagy in cancer to then proceed to discuss how sirtuins can control autophagy and mitophagy in cancer cells. Finally, we discuss sirtuins role in the context of tumor progression and metastasis indicating glutamine metabolism as an example of how a concerted activation and/or inhibition of sirtuins in cancer cells can control autophagy and mitophagy by impinging on the metabolism of this fundamental amino acid.

Manzi V, Iellamo F, Alashram AR, D'onofrio R, Padua E, Casasco M, Annino G.

Effects of three different stretching protocols on hamstring muscle flexibility in professional soccer players: a randomized study.

J Sports Med Phys Fitness. 2020 Jul;60(7):999-1004.

The current study aimed to investigate and compare the influences of global postural rieducation techniques (GPR), stretching exercises on a whole-body vibration platform (WBV), and static stretching exercises on hamstrings flexibility in elite soccer players.

24 professional soccer players were randomly assigned to either global postural re-education (N.=8), stretching on whole-body vibration group (N.=8) or static stretching (N.=8), during the first 4 weeks of the precompetitive season. Assessment of hamstring muscle flexibility was performed using a straight leg raise test. All participants were assessed three times: at baseline, at the end of the study protocol and 14 days after the end of the study protocol.

The short-term increase in hamstring muscle flexibility was observed in all 3 groups, without significant differences among groups. However, after 14 days from the end of the interventions only the WBV group maintained the flexibility level achieved just at the end of the protocol with no significant changes in both legs whereas a significant decrease in the SLRT in GPR and SS groups, in right and left legs (GPR, P=0.002; P=0.015; SS, P=0.0001; P=0.0001), was observed.

These results would suggest that GPR, static stretching on whole-body vibration and static stretching techniques all improve hamstring muscle flexibility, but only stretching on WBV maintains the effect over time in professional soccer players.

Bosio A, Borchini M, Pecci C, Donatucci B, Montano M, Iellamo F.

Is the achievement of 85% of age-predicted heart ratemax at exercise test sufficient to make diagnosis of myocardial ischemia in athletes?

Minerva Cardioangiol. 2020 Apr;68(2):67-71.

Exercise test (ET) is a validated tool for the identification of coronary artery disease (CAD) even among athletes. A "cut-off" of 85% HRmax is often chosen as an "end point" although it has been shown that this percentage is far from a maximal effort and might be insufficient to evaluate athletes who often reach HRs close to 100% of the theoretical HRmax during sport activity. The aim of this study was to identify the percentage of theoretical HRmax (% HRmax) at which ST segment depression due to a coronary insufficiency on ECG at ET became significant and how much this value would be different from the "cut-off" of 85% of the theoretical HRmax.

Forty-two male competitive athletes of three different sport disciplines (58±7.9 years) tested positive during ET at HRmax greater than 85% with ST depression ≥2 mm from V1 to V6 and / or ≥1 mm from D1 to aVf at J point + 80 ms, were included. ECG traces recorded at 85% of HRmax, were compared with those recorded at the percentage of HRmax corresponding to the significant ST depression (%HRmaxST).

% HRmax at which the ST depression become significant was 93.4±3.4% with a Δ% of + 8.4% compared to 85%. ST segment depression at peak exercise on precordial leads was significantly different from that at 85% HRmax (P<0.0001). TC coronary scan confirmed CAD.

The cut off of 85% HRmax is insufficient to identify signs of reduced coronary reserve in competitive athletes.

Piepoli MF, Ponikowski PP, Volterrani M, Francis DP, Coats AJ.

Do Cheyne and Stokes have an important message for modern-day patients with heart failure? Yes they do.

Eur J Heart Fail. 2020 May 29. Epub ahead of print.

Iellamo F, Sposato B, Volterrani M.

Telemonitoring for the management of patients with heart failure.

Card Fail Rev. 2020 Apr 21;6:e07. Review.

Advances in technology now make it possible to manage heart failure (HF) from a remote to a telemonitoring approach using either noninvasive solutions or implantable devices. Nowadays, it is possible to monitor at-home parameters that can be recorded, stored and remotely transmitted to physicians, allowing them to make decisions for therapeutic modification, hospitalization or access to the emergency room. Standalone systems are available that are equipped with self-intelligence and are able to acquire and elaborate data that can inform the remote physician of impending decompensation before it results in additional complications. The development of miniature implantable devices, which could measure haemodynamic variables and transmit them to a monitor outside the body, offers the possibility for the physician to obtain more frequent evaluations of HF patients and the opportunity to take these data into account in management decisions. At present, several telemonitoring devices are available, but the only Food and Drug Administration-approved system is the cardio-microelectromechanical system, which is an implantable pulmonary arterial pressure (PAP) monitoring device that allows a direct monitoring of the PAP via a sensor implanted in the pulmonary artery. This information is then uploaded to a web-based interface from which healthcare providers can track the results and manage patients. At present, the challenge point for telemedicine management of HF is to find the more relevant biological parameter to monitor the clinical status.

Lombardi CM, Carubelli V, Iorio A, Inciardi RM, Bellasi A, Canale C, Camporotondo R, Catagnano F, Dalla Vecchia LA, Giovinazzo S, Maccagni G, Mapelli M, Margonato D, Monzo L, Nuzzi V, Oriecuia C, Peveri G, Pozzi A, Provenzale G, Sarullo F, Tomasoni D, Ameri P, Gnechi M, Leonardi S, Merlo M, Agostoni P, Carugo S, Danzi GB, Guazzi M, La Rovere MT, Mortara A, Piepoli M, Porto I, Sinagra G, Volterrani M, Specchia C, Metra M, Senni M.

Association of Troponin levels with mortality in italian patients hospitalized with Coronavirus Disease 2019: Results of a Multicenter Study.

JAMA Cardiol. 2020 Aug 26:e203538. Epub ahead of print.

Myocardial injury, detected by elevated plasma troponin levels, has been associated with mortality in patients hospitalized with coronavirus disease 2019 (COVID-19). However, the initial data were reported from single-center or 2-center studies in Chinese populations. Compared with these patients, European and US patients are older, with more comorbidities and higher mortality rates.

To evaluate the prevalence and prognostic value of myocardial injury, detected by elevated plasma troponin levels, in a large population of White Italian patients with COVID-19.

This is a multicenter, cross-sectional study enrolling consecutive patients with laboratory-confirmed COVID-19 who were hospitalized in 13 Italian cardiology units from March 1 to April 9, 2020. Patients admitted for acute coronary syndrome were excluded. Elevated troponin levels were defined as values greater than the 99th percentile of normal values.

Clinical characteristics and outcomes stratified as elevated or normal cardiac troponin levels at admission, defined as troponin T or troponin I at a level greater than the 99th percentile of normal values.

A total of 614 patients with COVID-19 were included in this study (mean age [SD], 67 [13] years; 70.8% male), of whom 148 patients (24.1%) died during the hospitalization. Elevated troponin levels were found in 278 patients (45.3%). These patients were older (mean [SD] age, 64.0 [13.6] years vs 71.3 [12.0] years; $P < .001$) and had higher prevalence of hypertension (168 patients [50.5%] vs 182 patients [65.9%]; $P < .001$), heart failure (24 [7.2%]; 63 [22.8%]; $P < .001$), coronary artery disease (50 [15.0%] vs 87 [31.5%]; $P < .001$), and atrial fibrillation (33 [9.9%] vs 67 [24.3%]; $P < .001$). Elevated troponin levels were associated with an increased in-hospital mortality (37% vs 13%; HR, 1.71 [95% CI, 1.13-2.59]; $P = .01$ via multivariable Cox regression analysis), and this was independent from concomitant cardiac disease. Elevated troponin levels were also associated with a higher risk of in-hospital complications: heart failure (44 patients [19.2%] vs 7 patients [2.9%]; $P < .001$), sepsis (31 [11.7%] vs 21 [6.4%]; $P = .03$), acute kidney failure (41 [20.8%] vs 13 [6.2%]; $P < .001$), multiorgan failure (21 [10.9%] vs 6 [2.9%]; $P = .003$), pulmonary embolism (27 [9.9%] vs 17 [5.2%]; $P = .04$), delirium (13 [6.8%] vs 3 [1.5%]; $P = .02$), and major bleeding (16 [7.0%] vs 4 [1.6%]; $P = .008$).

In this multicenter, cross-sectional study of Italian patients with COVID-19, elevated troponin was an independent variable associated with in-hospital mortality and a greater risk of cardiovascular and noncardiovascular complications during a hospitalization for COVID-19.

Gulizia Chairperson MM, Parrini Co-Chairperson I, Colivicchi Co-Chairperson F, Bisceglia I, Caiazza F, Gensini GF, Mureddu GF, Santomauro M, Ageno W, Ambrosetti M, Aspromonte N, Barni S, Bellocchi F, Caldarola P, Carletti M, De Luca L, Di Fusco SA, Di Lenarda A, Di Nisio M, Domenicucci S, Enea I, Francese GM, Lestuzzi C, Lucà F, Maurea N, Nassiacos D, Pedretti RFE, Pusineri E, Roscio G, Rossini R, Russo A, Volterrani M, Gabrielli Co-Chairperson D.

Documento di consenso della Consulta delle Società Cardiologiche HCF-ANMCO/AICPR/GIEC/ITAHFA/SICOA/SICP/SIMG/SIT: La terapia anticoagulante nel tromboembolismo venoso e nella fibrillazione atriale del paziente con cancro. Le attuali conoscenze e le nuove evidenze [HCF-ANMCO/AICPR/GIEC/ITAHFA/SICOA/SICP/SIMG/SIT Cardiological Societies Council Consensus document: Anticoagulant therapy in venous thromboembolism and atrial fibrillation of the patient with cancer. Current knowledge and new evidence].

G Ital Cardiol (Rome). 2020 Sep;21(9):687-738.

Venous thromboembolism (VTE), including pulmonary embolism and deep venous thrombosis, either symptomatic or incidental, is a common complication in the history of cancer disease. The risk of VTE is 4-7-fold higher in oncology patients, and it represents the second leading cause of death, after cancer itself. In cancer patients, compared with the general population, VTE therapy is associated with higher rates of recurrent thrombosis and/or major bleeding. The need for treatment of VTE in patients with cancer is a challenge for the clinician because of the multiplicity of types of cancer, the disease stage and the imbricated cancer treatment. Historically, in cancer patients, low molecular weight heparins have been preferred for treatment of VTE. More recently, in large randomized clinical trials, direct oral anticoagulants (DOACs) demonstrated to reduce the risk of VTE. However, in the "real life", uncertainties remain on the use of DOACs, especially for the bleeding risk in patients with gastrointestinal cancers and the potential drug-to-drug interactions with specific anticancer therapies. In cancer patients, atrial fibrillation can arise as a perioperative complication or for the side effect of some chemotherapy agents, as well as a consequence of some associated risk factors, including cancer itself.

The current clinical scores for predicting thrombotic events (CHA2DS2-VASc) or for predicting bleeding (HAS-BLED), used to guide antithrombotic therapy in the general population, have not yet been validated in cancer patients. Encouraging data for DOAC prescription in patients with atrial fibrillation and cancer are emerging: recent post-hoc analysis showed safety and efficacy of DOACs for the prevention of embolic events compared to warfarin in cancer patients. Currently, anticoagulant therapy of cancer patients should be individualized with multidisciplinary follow-up and frequent reassessment. This consensus document represents an advanced state of the art on the subject and provides useful notes on clinical practice.

Ameri P, Inciardi RM, Di Pasquale M, Agostoni P, Bellasi A, Camporotondo R, Canale C, Carubelli V, Carugo S, Catagnano F, Danzi G, Vecchia LD, Giovinazzo S, Gneccchi M, Guazzi M, Iorio A, La Rovere MT, Leonardi S, Maccagni G, Mapelli M, Margonato D, Merlo M, Monzo L, Mortara A, Nuzzi V, Piepoli M, Porto I, Pozzi A, Provenzale G, Sarullo F, Sinagra G, Tedino C, Tomasoni D, Volterrani M, Zaccone G, Lombardi CM, Senni M, Metra M.

Pulmonary embolism in patients with COVID-19: characteristics and outcomes in the Cardio-COVID Italy multicenter study.

Clin Res Cardiol. 2020 Nov 3. Epub ahead of print. PMID: 33141251.

Pulmonary embolism (PE) has been described in coronavirus disease 2019 (COVID-19) critically ill patients, but the evidence from more heterogeneous cohorts is limited.

Data were retrospectively obtained from consecutive COVID-19 patients admitted to 13 Cardiology Units in Italy, from March 1st to April 9th, 2020, and followed until in-hospital death, discharge, or April 23rd, 2020. The association of baseline variables with computed tomography-confirmed PE was investigated by Cox hazards regression analysis. The relationship between D-dimer levels and PE incidence was evaluated using restricted cubic splines models.

The study included 689 patients (67.3 ± 13.2 year-old, 69.4% males), of whom 43.6% were non-invasively ventilated and 15.8% invasively. 52 (7.5%) had PE over 15 (9-24) days of follow-up. Compared with those without PE, these subjects had younger age, higher BMI, less often heart failure and chronic kidney disease, more severe cardio-pulmonary involvement, and higher admission D-dimer [4344 (1099-15,118) vs. 818.5 (417-1460) ng/mL, $p < 0.001$]. They also received more frequently darunavir/ritonavir, tocilizumab and ventilation support. Furthermore, they faced more bleeding episodes requiring transfusion (15.6% vs. 5.1%, $p < 0.001$) and non-significantly higher in-hospital mortality (34.6% vs. 22.9%, $p = 0.06$). In multivariate regression, only D-dimer was associated with PE (HR 1.72, 95% CI 1.13-2.62; $p = 0.01$). The relation between D-dimer concentrations and PE incidence was linear, without inflection point. Only two subjects had a baseline D-dimer < 500 ng/mL.

PE occurs in a sizable proportion of hospitalized COVID-19 patients. The implications of bleeding events and the role of D-dimer in this population need to be clarified.

Klompstra L, Kyriakou M, Lambrinou E, Piepoli MF, Coats AJ, Cohen-Solal A, Cornelis J, Gellen B, Marques-Sule E, Niederseer D, Orso F, Piotrowicz E, Van Craenenbroeck EM, Simonenko M, Witte K, Wozniak A, Volterrani M, Jaarsma T.

Measuring physical activity with activity monitors in patients with heart failure. From literature to practice. A position paper from the Committee on Exercise Physiology and Training of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2020 Oct 27. Epub ahead of print.

The aims of this paper were to provide an overview of available activity monitors used in research in patients with heart failure and to identify the key criteria in the selection of the most appropriate activity monitor for collecting, reporting, and analysing physical activity in heart failure research. This study was conducted in three parts. First, the literature was systematically reviewed to identify physical activity concepts and activity monitors used in heart failure research. Second, an additional scoping literature search for validation of these activity monitors was conducted. Third, the most appropriate criteria in the selection of activity monitors were identified. Nine activity monitors were evaluated in terms of size,

weight, placement, costs, data storage, water resistance, outcomes and validation, and cut-off points for physical activity intensity levels were discussed. The choice of a monitor should depend on the research aims, study population and design regarding physical activity. If the aim is to motivate patients to be active or set goals, a less rigorously tested tool can be considered. On the other hand, if the aim is to measure physical activity and its changes over time or following treatment adjustment, it is important to choose a valid activity monitor with a storage and battery longevity of at least one week. The device should provide raw data and valid cut-off points should be chosen for analysing physical activity intensity levels. Other considerations in choosing an activity monitor should include data storage location and ownership and the upfront costs of the device.

Tomasoni D, Inciardi RM, Lombardi CM, Tedino C, Agostoni P, Ameri P, Barbieri L, Bellasi A, Camporotondo R, Canale C, Carubelli V, Carugo S, Catagnano F, Dalla Vecchia LA, Danzi G, Di Pasquale M, Gaudenzi M, Giovinazzo S, Gnechi M, Iorio A, La Rovere MT, Leonardi S, Maccagni G, Mapelli M, Margonato D, Merlo M, Monzo L, Mortara A, Nuzzi V, Piepoli M, Porto I, Pozzi A, Sarullo F, Sinagra G, Volterrani M, Zacccone G, Guazzi M, Senni M, Metra M. *Impact of heart failure on the clinical course and outcomes of patients hospitalized for COVID-19. Results of the Cardio-COVID-Italy multicentre study.* Eur J Heart Fail. 2020 Nov 12. doi: 10.1002/ejhf.2052. Epub ahead of print

The aim of the study is to assess the prognostic value of a history of heart failure (HF) in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). We enrolled 692 consecutive patients admitted for COVID-19 in 13 Italian cardiology centres between 1 March and 9 April 2020. Mean age was 67.4 ± 13.2 years, 69.5% of patients were males, 90 (13.0%) had a history of HF, median hospitalization length was 14 days (interquartile range 9-24). In-hospital death occurred in 37 of 90 patients (41.1%) with HF history vs. 126 of those with no HF history (20.9%). The increased risk of death associated with HF history remained significant after adjustment for clinical variables related to COVID-19 and HF severity, including comorbidities, oxygen saturation, lymphocyte count and plasma troponin [adjusted hazard ratio (HR) for death: 2.25; 95% confidence interval (CI) 1.26-4.02; $P = 0.006$ at multivariable Cox regression model including 404 patients]. Patients with a history of HF also had more in-hospital complications including acute HF (33.3% vs. 5.1%, $P < 0.001$), acute renal failure (28.1% vs. 12.9%, $P < 0.001$), multiorgan failure (15.9% vs. 5.8%, $P = 0.004$) and sepsis (18.4% vs. 8.9%, $P = 0.006$). Other independent predictors of outcome were age, sex, oxygen saturation and oxygen partial pressure at arterial gas analysis/fraction of inspired oxygen ratio (PaO₂ /FiO₂). In-hospital treatment with corticosteroids and heparin had beneficial effects (adjusted HR for death: 0.46; 95% CI 0.29-0.74; $P = 0.001$; $n = 404$ for corticosteroids, and adjusted HR 0.41; 95% CI 0.25-0.67; $P < 0.001$; $n = 364$ for heparin). Hospitalized patients with COVID-19 and a history of HF have an extremely poor outcome with higher mortality and in-hospital complications. HF history is an independent predictor of increased in-hospital mortality.

Caminiti G, Iellamo F, Volterrani M. *Evaluating the effects of exercise training on short-term blood pressure variability: is it a matter of index?* J Hum Hypertens. 2020 Jul;34(7):477. Epub 2020 Apr 27.

It is with great interest that we read about the study of Pagonas et al. [1] published in this journal. In that study, authors investigated for the first time the effects of a 12-week interval training program on short-term blood pressure variability (BPV) of patients already treated with antihypertensive drugs. They observed that BPV did not change at the end of the exercise program in comparison with baseline in the exercise group; conversely BP values significantly decreased in the same group. Recently, we compared three small groups of hypertensive subjects that performed a single exercise training session of three different exercise modalities: aerobic continuous, interval, and combined training, this latter including aerobic continuous and resistance exercises [2]. We observed that interval training reduced BP values but increased short-term BPV; conversely aerobic continuous and combined trainings reduced both BP values and variability. We noticed a greater effect on systolic BPV with the combined modality. Apparently our data seems to confirm those of Pagonas et al. However data obtained by these studies are hardly comparable because they used different indices for BPV assessment. Up to now several indices for estimating BPV have been developed and there is no general agreement on what index should be

preferred over others [3]. Pagonas et al. used the coefficient of variability, a measure of dispersion that is the ratio between standard deviation and mean BP; instead we used average real variability that, when directly compared to standard deviation, showed a stronger relation with the outcome of hypertensive subjects and had a predictive value that was similar to that of systolic BP [4, 5]. In our opinion, given the growing interest on short-term BPV as a therapeutic target for patients with hypertension there is a need for further trials evaluating the effects of exercise training on daily BP fluctuations. At the same time, in order to get comparable results from different studies on this topic, a general agreement among investigators for adopting the same index of BPV is needed.

Volterrani, M., Perrone, V., Sangiorgi, D., Giacomini, E., Iellamo, F., Degli Esposti, L., & on the behalf of a LHUs Study Group (see Appendix).

Effects of hyperkalaemia and non-adherence to renin–angiotensin–aldosterone system inhibitor therapy in patients with heart failure in Italy: A propensity-matched study.

European Journal of Heart Failure. 2020. 22(11), 2049-2055.

The aims of this study were to evaluate if the risk of cardiovascular events and all-cause mortality was higher in the presence of hyperkalaemia (HK) in patients with heart failure (HF) treated with renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors (RAASi), and to investigate in this cohort the increased risk of cardiovascular events and all-cause mortality among HK patients with non-optimal adherence to RAASi therapy.

In this retrospective cohort study based on administrative databases of five Italian Local Health Units, all adult patients with a HF diagnosis between January 2010 and December 2017 were included only if they were prescribed RAASi therapy during the first 3 months after the index date, that corresponded to the date of first HF diagnosis during the inclusion period. Patients were considered to have HK if serum potassium level was ≥ 5.5 mmol/L. A propensity score matching was applied before evaluation of hazard ratios. Patients with HK were 37% ($P < 0.001$) and 70% ($P < 0.001$), respectively, more at risk of cardiovascular events and of dying for all-cause mortality compared to non-HK patients. Among the HK group, patients non-adherent to RAASi therapy had a 39% ($P = 0.105$) higher risk of cardiovascular events and a twofold increased risk ($P < 0.001$) of all-cause death.

Findings from this real-world study showed that in a cohort of HF patients under RAASi therapy, subjects with HK had an enhanced risk of cardiovascular events or death compared to patients without HK. Moreover, in HK patients, sub-optimal adherence to RAASi therapy was associated with an increased risk of all-cause mortality.

Wleklik M, Uchmanowicz I, Jankowska EA, Vitale C, Lisiak M, Drozd M, Pobrotyn P, Tkaczyszyn M, Lee C.

Multidimensional approach to frailty.

Front Psychol. 2020 Mar 25;11:564.

The concept of frailty syndrome (FS) was first described in the scientific literature three decades ago. For a very long time, we understood it as a geriatric problem, recently becoming one of the dominant concepts in cardiology. It identifies symptoms of FS in one in 10 elderly people. It is estimated that in Europe, 17% of elderly people have FS. The changes in FS resemble and often overlap with changes associated with the physiological aging process of the body. Although there are numerous scientific reports confirming that FS is age correlated, it is not an unavoidable part of the aging process and does not apply only to the elderly. FS is a reversible clinical condition. To maximize benefits of frailty-reversing activities for patient with frailty, identification of its determinants appears to be fundamental. Many of the determinants of the FS have already been known: reduction in physical activity, malnutrition, sarcopenia, polypharmacy, depressive symptom, cognitive disorders, and lack of social support. This review shows that insight into FS determinants is the starting point for building both the comprehensive definition of FS and the adoption of the assessment method of FS, and then successful clinical management.

Biffi A, Rea F, Scotti L, Lucenteforte E, Vannacci A, Lombardi N, Chinellato A, Onder G, Vitale C, Cascini S, Ingrassiotta Y, Roberto G, Mugelli A, Corrao G; Italian Group for Appropriate Drug prescription in the Elderly (I-GrADE).

Antidepressants and the risk of cardiovascular events in elderly affected by cardiovascular disease: a real-life investigation from Italy.

J Clin Psychopharmacol. 2020 Mar/Apr;40(2):112-121.

The purpose of this study was to assess the possible relation between use of antidepressant (AD) drugs, that is, tricyclic ADs, selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), and atypical ADs (AAs), and the risk of hospitalization for cardiovascular (CV) events among older patients with previous CV diseases.

A nested case-control study was carried out among patients aged 65 years and older from 5 Italian health care territorial units who were discharged for CV disease during 2008 to 2010. The cohort was composed by 344,747 individuals, and of these, 97,739 (28%) experienced hospital admission for CV events (myocardial infarction, arrhythmia, stroke, heart failure) during follow-up (until 2014) and were included as cases. Up to 5 controls were randomly selected and matched to each. A conditional logistic regression was fitted to estimate the risk of CV events associated with ADs past or current use. A within-patient comparison was performed by the case-crossover design to account the effect of depression.

Current users of SSRIs and AAs were at increased risk of CV events with odds ratios of 1.25 (95% confidence interval, 1.21-1.29) and 1.31 (1.25-1.37), respectively. An increased risk of arrhythmia and stroke was associated with current use of SSRIs and AAs, whereas an increased risk of heart failure was detected with current use of any ADs. The results were confirmed by the case-crossover approach.

Evidence that AD use is associated with an increased risk of CV events in accordance with specific mechanisms of action among older people with CV disease was added by this study.

Maltese G, Corsonello A, Di Rosa M, Soraci L, Vitale C, Corica F, Lattanzio F.

Frailty and COVID-19: a systematic scoping review.

J Clin Med. 2020 Jul 4;9(7):2106.

Older people have paid a huge toll in terms of mortality during the coronavirus disease-19 (COVID-19) pandemic. Frailty may have contributed to the vulnerability of older people to more severe clinical presentation. We aimed at reviewing available evidence about frailty and COVID-19. We searched PUBMED, Web of Science, and EMBASE from 1 December 2019 to 29 May 2020. Study selection and data extraction were performed by three independent reviewers. Qualitative synthesis was conducted and quantitative data extracted when available. Forty papers were included: 13 editorials, 15 recommendations/guidelines, 3 reviews, 1 clinical trial, 6 observational studies, 2 case reports. Editorials and reviews underlined the potential clinical relevance of assessing frailty among older patients with COVID-19. However, frailty was only investigated in regards to its association with overall mortality, hospital contagion, intensive care unit admission rates, and disease phenotypes in the few observational studies retrieved. Specific interventions in relation to frailty or its impact on COVID-19 treatments have not been evaluated yet. Even with such limited evidence, clinical recommendations on the use of frailty tools have been proposed to support decision making about escalation plan. Ongoing initiatives are expected to improve knowledge of COVID-19 interaction with frailty and to promote patient-centered approaches.

Uchmanowicz I, Lee CS, Vitale C, Manulik S, Denfeld QE, Uchmanowicz B, Rosińczuk J, Drozd M, Jaroch J, Jankowska EA.

Frailty and the risk of all-cause mortality and hospitalization in chronic heart failure: a meta-analysis.

ESC Heart Fail. 2020 Sep 21;7(6):3427-3437.

To estimate the risk of all-cause mortality and hospitalization in frail patients with chronic heart failure (HF), a systematic search and meta-analysis was carried out to identify all prospective cohort studies conducted among adults with HF where frailty was quantified and related to the primary endpoints of all-cause mortality and/or hospitalization. Twenty-nine studies reporting the link between frailty and all-cause mortality in 18 757 patients were available for the meta-analysis, along with 11 studies, with 13 525

patients, reporting the association between frailty and hospitalization. Frailty was a predictor of all-cause mortality and hospitalization with summary hazard ratios (HRs) of 1.48 [95% confidence interval (CI): 1.31-1.65, $P < 0.001$] and 1.40 (95% CI: 1.27-1.54, $P < 0.001$), respectively. Summary HRs for all-cause mortality among frail inpatients undergoing ventricular assist device implantation, inpatients hospitalized for HF, and outpatients were 1.46 (95% CI: 1.18-1.73, $P < 0.001$), 1.58 (95% CI: 0.94-2.22, $P =$ not significant), and 1.53 (95% CI: 1.28-1.78, $P < 0.001$), respectively. Summary HRs for all-cause mortality and frailty based on Fried's phenotype were 1.48 (95% CI: 1.03-1.93, $P < 0.001$) and 1.42 (95% CI: 1.05-1.79, $P < 0.001$) for inpatients and outpatients, respectively, and based on other frailty measures were 1.42 (95% CI: 1.12-1.72, $P < 0.001$) and 1.60 (95% CI: 1.43-1.77, $P < 0.001$) for inpatients and outpatients, respectively. Across clinical contexts, frailty in chronic HF is associated with an average of 48% and 40% increase in the hazard of all-cause mortality and hospitalization, respectively. The relationship between frailty and all-cause mortality is similar across clinical settings and comparing measurement using Fried's phenotype or other measures.

Vitale C, Lucchi M, Bissacco D, Bilancini S, D'Abate F, Santoliquido A.

Expert consensus on the conservative management of patients with chronic venous disease in CEAP clinical classes C0s-C3 in Italy.
Phlebology. 2020 Jun;35(5):316-324.

The aim of the study is to define a consensual approach for the conservative treatment of patients C0s-C3. The project was structured into two phases. The first one involved a group of Italian specialists in angiology and/or vascular surgery with the aim to compare their therapeutic choices in the management of patients in CEAP C0s-C3. The second phase used a Delphi consensus in order to elaborate practical statements on the conservative management of these patients.

The first phase involved a group of 166 Italian specialists while the second phase involved a Steering Committee of 6 specialists and a panel of 20 specialists. At the end of the third round, a consensus $>80\%$ was reached on seven assertions.

Seven statements have been drafted by a group of Italian specialists to provide physicians with practical guidance for the conservative treatment of C0s-C3 patients. Outstanding issues on the management of these patients were identified, confirming the urgent need of further research.

Hill L, Carson MA, Vitale C.

Care plans for the older heart failure patient.
Eur Heart J Suppl. 2019 Dec;21(Suppl L):L32-L35.

Heart failure (HF) professionals are managing an older population with multiple, often interconnected comorbidities. The average age of the HF patient has increased substantially and many have a number of comorbidities. For the older HF patient, diligent planning of care has the potential to reduce hospitalization, improve quality of life and mortality; nevertheless, this vital component is often overlooked. Frailty, cachexia, sarcopenia, and cognitive impairment are all common in the older HF patient and require special care considerations. Many older HF patients live for many years with troublesome symptoms that could be better addressed through the incorporation of a palliative approach to care. Effective care plans can help patients maximize their health potential through both lifestyle and pharmacological interventions. However, current evidence remains scarce on what constitutes an optimal plan, therefore further studies are urgently needed. We review the care that could be implemented for the complex older HF patient with comorbidities.

Vitale C, Uchmanowicz I.

Frailty in patients with heart failure.
Eur Heart J Suppl. 2019 Dec;21(Suppl L):L12-L16. Epub 2019 Dec 23.

The importance of frailty in heart failure (HF) patients has been increasingly recognized because of its high prevalence and its significantly adverse impact on prognosis and quality of life. Due to the impact of frailty on both prognosis and treatment of HF patients, all patients with HF, regardless of their chronological age, should be evaluated for the presence of, or the risk for developing frailty. However, although several instruments are available, there is still no consensus as to which is the best method to

assess frailty in patients with HF. Therefore, a validated and easy to apply instrument to assess frailty in HF patients in daily practice is warranted.

Jankowska EA, Vitale C, Uchmanowicz I, Tkaczyszyn M, Drozd M, Ponikowski P.
Drug therapy in elderly heart failure patients.
Eur Heart J Suppl. 2019 Dec;21(Suppl L):L8-L11. Epub 2019 Dec 23.

Although heart failure (HF) is considered as a cardiogeriatric syndrome, elderly and very elderly patients are under-represented in the vast majority of clinical trials investigating novel drugs and therapies in this population. The homeostatic systems of elderly subjects are very fragile, and the management of HF accompanied by numerous comorbidities requires a holistic approach towards the patient, with special emphasis not only on psychosomatic problems but also on the individual (including social) needs of each particular patient, along with the support for the family and/or caregivers. In this article, we summarize current evidence regarding pharmacotherapy of elderly patients with HF and summarize the clinical problems occurring in this population.

Vitale C, Hill L.
Assess frailty but avoid frailtyism.
Eur Heart J Suppl. 2019 Dec;21(Suppl L):L17-L19. Epub 2019 Dec 23.

The assessment of frailty in heart failure patients can help clinicians to build a tailored care plan, aimed at improving the selection of patients likely to benefit from one treatment vs. another, thereby improving outcomes. Although progress has been made in the 'operationalization' of frailty assessment, there is still the need to provide an improved instrument to assess frailty that is easy, quick and at the same time predictive within the setting of a busy clinical practice. Using such an ideal instrument, clinicians would be able to optimize the use of limited health care resources and avoid what has been termed 'frailtyism'. This term, similar to ageism, can be defined as prejudice or discrimination based on the presence of frailty.

Savarese G, Reiner MF, Uijl A, D'Amario D, Agewall S, Atar D, Baumgartner I, Borghi C, De Carlo M, Drexel H, Kaski JC, Kjeldsen KP, Kucher N, Lund LH, Niessner A, Semb AG, Schmidt TA, Sulzgruber P, Tamargo J, Vitale C, Wassmann S, Aboyans V, Lewis BS.
Antithrombotic therapy and major adverse limb events in patients with chronic lower extremity arterial disease: systematic review and meta-analysis from the European Society of Cardiology Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy in Collaboration with the European Society of Cardiology Working Group on Aorta and Peripheral Vascular Diseases.
Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Apr 1;6(2):86-93.

The role and selection of antithrombotic therapy to improve limb outcomes in chronic lower extremity artery disease (LEAD) is still debated. We conducted a meta-analysis to examine the efficacy and safety of antithrombotic and more intense antithrombotic therapy on limb outcomes and limb salvage in patients with chronic LEAD.

Study inclusion criteria were: enrolment of patients with LEAD, randomized allocation to more vs. less intense antithrombotic therapy [more vs. less intense single-antiplatelet therapy (SAPT); dual-antiplatelet therapy vs. SAPT; dual antithrombotic therapy vs. SAPT or oral anticoagulant]; enrolment of ≥ 200 patients; reporting of at least one of following outcomes: limb amputation or revascularization. Seven randomized studies enrolling 30 447 patients were included. Over a median follow-up of 24 months, more vs. less intense antithrombotic therapy or placebo significantly reduced the risk of limb revascularization [relative risk (RR) 0.89, 95% confidence interval (CI) 0.83-0.94] and limb amputation (RR 0.63, 95% CI 0.46-0.86), as well as stroke (RR 0.82, 95% CI 0.70-0.97). There was no statistically significant effect on the risk of myocardial infarction (RR 0.98, 95% CI 0.87-1.11), all-cause (RR 0.93, 95% CI 0.86-1.01), and cardiovascular death (RR 0.97, 95% CI 0.86-1.08). Risk of major bleeding increased (RR 1.23, 95% CI 1.04-1.44).

In patients with LEAD, more intense antithrombotic therapy reduces the risk of limb amputation and revascularization as well as stroke with an increase in the risk of bleeding events.

Caprio M, Vitale C, Rosano GMC.

From glucose lowering to treatment of cardiovascular disease: the repositioning of glucose-lowering agents.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Apr 16. [Epub ahead of print]

Lombardo M, Bellia C, Aulisa G, Pratesi A, Perrone MA, Padua E, Iellamo F, Caprio M, Bellia A. *The different daily distribution of proteins does not influence the variations in body composition in a sample of subjects undergoing a low-calorie mediterranean-type diet.*

Minerva Gastroenterol Dietol. 2020 Mar 24. [Epub ahead of print]

Controversy exists regarding whether the different daily balances of proteins between meals and snacks in a low-calorie diet may influence the effects on body composition (BC) results. Aim of this study is to evaluate BC changes made by a lifestyle intervention in a randomised homogeneous sample of two groups with equal daily caloric reduction but different protein distributions between meals.

Forty-seven men and women (mean \pm SD age: 32 ± 10 y; body mass index: 28.4 ± 2.4) consumed an energy-restricted diet (788 kcal/d below the requirement) for eight weeks in a free-living contest. Subjects consumed 90.1 g protein/d (1.10 ± 0.16 g \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹) and were randomised in an EVEN (16.7% at breakfast, 32.8% at lunch, 31.3% at dinner, 19.2% at snacks; n= 23) or UNEVEN (15.4% at breakfast, 36.6% at lunch, 34.9% at dinner, 12.4% at snacks; n= 24) distribution pattern. The nutritional characteristics and caloric deficit of the two diets were similar.

The total sample had an overall improvement in both BMI (-0.9 ± 0.6) and fat mass (FM: -2.3 ± 1.5), while lean body mass was preserved (LBM: 0.0 ± 0.7). There were no significant differences between the two groups in variations in BC.

In overweight and obese subjects undergoing a Mediterranean-type low-calorie diet, a different distribution of daily protein intake between meals and snacks does not result in significant differences in terms of FM loss and LBM maintenance. This is one of the first studies showing that nutritional dietary plans with different daily protein distribution show no particular differences in fat loss and lean mass maintenance.

Paoli A, Mancin L, Giacona MC, Bianco A, Caprio M.

Effects of a ketogenic diet in overweight women with polycystic ovary syndrome.

J Transl Med. 2020 Feb 27;18(1):104.

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common endocrine disorder in women during reproductive age. It is characterised clinically by oligo-ovulation or anovulation, hyper-androgenism, and the presence of polycystic ovaries. It is associated with an increased prevalence of metabolic syndrome, cardiovascular disease and type 2 diabetes. The onset of PCOS has been associated to several hereditary and environmental factors, but insulin resistance plays a key pathogenetic role. We sought to investigate the effects of a ketogenic diet (KD) on women of childbearing age with a diagnosis of PCOS.

Fourteen overweight women with diagnosis of PCOS underwent to a ketogenic Mediterranean diet with phytoextracts (KEMEPHY) for 12 weeks. Changes in body weight, body mass index (BMI), fat body mass (FBM), lean body mass (LBM), visceral adipose tissue (VAT), insulin, glucose, HOMA-IR, total cholesterol, low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), triglycerides (TGs), total and free testosterone, luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH); dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAs), estradiol, progesterone, sex hormone binding globulin (SHBG) and Ferriman Gallwey score were evaluated.

After 12 weeks, anthropometric and body composition measurements revealed a significant reduction of body weight (-9.43 kg), BMI (-3.35), FBM (8.29 kg) and VAT. There was a significant, slightly decrease of LBM. A significant decrease in glucose and insulin blood levels were observed, together with a significant improvement of HOMA-IR. A significant decrease of triglycerides, total cholesterol and LDL were observed along with a rise in HDL levels. The LH/FSH ratio, LH total and free testosterone, and DHEAS blood levels were also significantly reduced. Estradiol, progesterone and SHBG increased. The Ferriman Gallwey Score was slightly, although not significantly, reduced.

Our results suggest that a KD may be considered as a valuable non pharmacological treatment for PCOS. Longer treatment periods should be tested to verify the effect of a KD on the dermatological aspects of

PCOS. Trial registration Clinicaltrial.gov, NCT04163120, registered 10 November 2019, retrospectively registered, <https://clinicaltrials.gov>.

Infante M, Sears B, Rizzo AM, Mariani Cerati D, Caprio M, Ricordi C, Fabbri A.
Omega-3 PUFAs and vitamin D co-supplementation as a safe-effective therapeutic approach for core symptoms of autism spectrum disorder: case report and literature review.
Nutr Neurosci. 2020 Oct;23(10):779-790.

Autism spectrum disorder (ASD) is a group of neurodevelopmental disorders characterized by abnormal development of cognitive, social, and communicative skills. Although ASD aetiology and pathophysiology are still unclear, various nutritional factors have been investigated as potential risk factors for ASD development, including omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and vitamin D deficiency. In fact, both omega-3 PUFAs and vitamin D are important for brain development and function. Herein, we report the case of a 23-year-old young adult male with autism who was referred to our Unit due to a 12-month history of cyclic episodes of restlessness, agitation, irritability, oppositional and self-injurious behaviours. Laboratory tests documented a markedly altered omega-6/omega-3 balance, along with a vitamin D deficiency, as assessed by serum levels of 25-hydroxyvitamin D. Omega-3 and vitamin D co-supplementation was therefore started, with remarkable improvements in ASD symptoms throughout a 24-month follow-up period. A brief review of the literature for interventional studies evaluating the efficacy of omega-3 or vitamin D supplementation for the treatment of ASD-related symptoms is also provided. Conclusion: To our knowledge, this is the first case reporting remarkable beneficial effects on ASD symptoms deriving from omega-3 and vitamin D combination therapy. This case report suggests omega-3 and vitamin D co-supplementation as a potential safe-effective therapeutic strategy to treat core symptoms of ASD. However, larger studies are needed to evaluate the real efficacy of such therapeutic approach in a broader sample of ASD patients.

Lombardo M, Bellia C, Moletto C, Aulisa G, Padua E, Della-Morte D, Caprio M, Bellia A.
Effects of quality and quantity of protein intake for Type 2 Diabetes Mellitus prevention and metabolic control.
Curr Nutr Rep. 2020 Jun 23. Epub ahead of print.

The aim of this review is to evaluate the ideal protein quality and quantity and the dietary composition for the prevention and metabolic control of type 2 diabetes mellitus (T2DM). Although some reviews demonstrate the advantages of a diet with a higher protein intake, other reviews have observed that a diet high in carbohydrates, with low-glycaemic index carbohydrates and good fibre intake, is equally effective in improving insulin sensitivity. Over 2831 articles were screened, and 24 from the last 5 years were analysed and summarised for this review, using the protein, diabetes and insulin glucose metabolic keywords in Pubmed in June 2019.

Eleven studies demonstrate that a higher consumption of proteins has a positive effect on insulin sensitivity. A higher intake of animal protein seems to be related to an increased risk of T2DM. Four studies show that consumption of meat has a deleterious effect. Higher intake of plant protein and dairy products is associated with a modestly reduced risk.

Based on the results obtained, for the prevention of T2DM and all disorders related to metabolic syndrome, no ideal dietary composition has yet been found. The advantage of plant protein sources may be related to the foods' low-glycaemic index due to the high fibre content. However, the right protein quality (animal and plant) and the quantity for T2DM prevention and metabolic control are unclear and need to be investigated with further long-term studies.

Lombardo M, Perrone MA, Guseva E, Aulisa G, Padua E, Bellia C, Della-Morte D, Iellamo F, Caprio M, Bellia A.
Losing weight after menopause with minimal aerobic training and mediterranean diet.

It is a common belief that menopausal women have greater difficulty losing weight. The aim of this study was to assess the efficacy of a Mediterranean diet (MD) to promote weight loss in postmenopausal women. All participants were prescribed a hypocaloric traditional MD, tailored to the individual. Subjects were asked not to begin any kind of physical activity. Body composition was measured at the beginning and after 8 weeks of treatment. In total, 89 women (age 52.8 ± 4.5 years, BMI 30.0 ± 5.2 kg/m², fat mass 31.6 ± 10.5 kg) were divided into two groups: the first group consisted of fertile women over 45 years of age, the second group consisted of those diagnosed as menopausal. All women had an improvement in body composition (fat mass -2.3 ± 2.1 kg, $p < 0.001$; protein -0.1 ± 0.7 kg, $p = 0.190$) and blood pressure values. No differences were found between the two groups except for a higher reduction of low-density lipoprotein in the menopausal group ($p = 0.035$). A positive significant correlation between plant to animal protein ratio and fat-free mass variation was found in the menopausal group. These data suggest that a high adherence to a traditional MD would enable menopausal women to lose fat mass and maintain muscle mass with no significant difference to younger women. Fat mass reduction provides menopausal women with improved cardiovascular and metabolic risk factors.

Infante M, Ricordi C, Alejandro R, Caprio M, Fabbri A.

Hydroxychloroquine in the COVID-19 pandemic era: in pursuit of a rational use for prophylaxis of SARS-CoV-2 infection.

Expert Rev Anti Infect Ther. 2020 Aug 16:1-12. Epub ahead of print.

Over the last few months, coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic caused by the novel coronavirus SARS-CoV-2 has posed a serious threat to public health on a global scale. Given the current lack of an effective vaccine, several drugs have been repurposed for treatment and prophylaxis of COVID-19 in an attempt to find an effective cure.

The antimalarial drug hydroxychloroquine (HCQ) initially garnered widespread attention following the publication of preliminary results showing that this drug exerts an anti-SARS-CoV-2 activity in vitro.

To date, clinical evidence suggests lack of benefit from HCQ use for the treatment of hospitalized patients with COVID-19. In such patients, HCQ also appears to be associated with an increased risk of QT interval prolongation and potentially lethal ventricular arrhythmias. Therefore, FDA has recently revoked the Emergency Use Authorization (EUA) for emergency use of HCQ and chloroquine to treat COVID-19. Conversely, whether HCQ use may represent an effective prophylactic strategy against COVID-19 is a separate question that still remains to be answered. In addition, relevant aspects regarding the potential risks and benefits of HCQ need to be clarified, in pursuit of a rational use of this drug in the COVID-19 pandemic era.

Paoli A, Gorini S, Caprio M.

The dark side of the spoon - glucose, ketones and COVID-19: a possible role for ketogenic diet?

J Transl Med. 2020 Nov 20;18(1):441.

The novel coronavirus disease (COVID-19) is posing a serious challenge to the health-care systems worldwide, with an enormous impact on health conditions and loss of lives. Notably, obesity and its related comorbidities are strictly related with worse clinical outcomes of COVID-19 disease. Recently, there is a growing interest in the clinical use of ketogenic diets (KDs), particularly in the context of severe obesity with related metabolic complications. KDs have been proven effective for a rapid reduction of fat mass, preserving lean mass and providing an adequate nutritional status. In particular, the physiological increase in plasma levels of ketone bodies exerts important anti-inflammatory and immunomodulating effects, which may reveal as precious tools to prevent infection and potential adverse outcomes of COVID-19 disease. We discuss here the importance of KDs for a rapid reduction of several critical risk factors for COVID-19, such as obesity, type 2 diabetes and hypertension, based on the known effects of ketone bodies on inflammation, immunity, metabolic profile and cardiovascular function. We do believe that a rapid reduction of all modifiable risk factors, especially obesity with its metabolic complications, should be a pillar of public health policies and interventions, in view of future waves of SARS-CoV-2 infection.

Barrea L, Caprio M, Tuccinardi D, Moriconi E, Di Renzo L, Muscogiuri G, Colao A, Savastano S; Obesity Programs of nutrition, Education, Research and Assessment (OPERA) group.

Could ketogenic diet "starve" cancer? Emerging evidence.

Crit Rev Food Sci Nutr. 2020 Dec 4:1-22. Epub ahead of print.

Cancer cells (CCs) predominantly use aerobic glycolysis (Warburg effect) for their metabolism. This important characteristic of CCs represents a potential metabolic pathway to be targeted in the context of tumor treatment. Being this mechanism related to nutrient oxidation, dietary manipulation has been hypothesized as an important strategy during tumor treatment. Ketogenic diet (KD) is a dietary pattern characterized by high fat intake, moderate-to-low protein consumption, and very-low-carbohydrate intake (<50 g), which in cancer setting may target CCs metabolism, potentially influencing both tumor treatment and prognosis. Several mechanisms, far beyond the originally proposed inhibition of glucose/insulin signaling, can underpin the effectiveness of KD in cancer management, ranging from oxidative stress, mitochondrial metabolism, and inflammation. The role of a qualified Nutritionist is essential to reduce and manage the short and long-term complications of this dietary therapy, which must be personalized to the individual patient for the planning of tailored KD protocol in cancer patients. In the present review, we summarize the proposed antitumor mechanisms of KD, the application of KD in cancer patients with obesity and cachexia, and the preclinical and clinical evidence on KD therapy in cancer.

Pozzoli M, Gonzalez-Costello J, Bayes-Genis A, Sinagra G, Anker SD, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Filippatos G, Laroche C, Maggioni AP, Mebazaa A, Piepoli MF, Tavazzi L; ESC Heart Failure Long-Term Registry Investigators Group.

Prevalence of risk of thrombosis and of bleeding and antithrombotic treatment in patients with heart failure.

Eur J Heart Fail. 2020 Mar 30. [Epub ahead of print]

Rossignol P, Lainscak M, Crespo-Leiro MG, Laroche C, Piepoli MF, Filippatos G, Rosano GMC, Savarese G, Anker SD, Seferovic PM, Ruschitzka F, Coats AJS, Mebazaa A, McDonagh T, Sahuquillo A, Penco M, Maggioni AP, Lund LH; Heart Failure Long-Term Registry Investigators Group.

Unravelling the interplay between hyperkalaemia, renin-angiotensin-aldosterone inhibitor use and clinical outcomes. Data from 9222 chronic heart failure patients of the ESC-HFA-EORP Heart Failure Long-Term Registry.

Eur J Heart Fail. 2020 Apr 3. [Epub ahead of print]

We assessed the interplay between hyperkalaemia (HK) and renin-angiotensin-aldosterone system inhibitor (RAASi) use, dose and discontinuation, and their association with all-cause or cardiovascular death in patients with chronic heart failure (HF). We hypothesized that HK-associated increased death may be related to RAASi withdrawal.

The ESC-HFA-EORP Heart Failure Long-Term Registry was used. Among 9222 outpatients (HF with reduced ejection fraction: 60.6%, HF with mid-range ejection fraction: 22.9%, HF with preserved ejection fraction: 16.5%) from 31 countries, 16.6% had HK (≥ 5.0 mmol/L) at baseline. Angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEi) or angiotensin receptor blocker (ARB) was used in 88.3%, a mineralocorticoid receptor antagonist (MRA) in 58.7%, or a combination in 53.2%; of these, at $\geq 50\%$ of target dose in ACEi: 61.8%; ARB: 64.7%; and MRA: 90.3%. At a median follow-up of 12.2 months, there were 789 deaths (8.6%). Both hypokalaemia and HK were independently associated with higher mortality, and ACEi/ARB prescription at baseline with lower mortality. MRA prescription was not retained in the model. In multivariable analyses, HK at baseline was independently associated with MRA non-prescription at baseline and subsequent discontinuation. When considering subsequent discontinuation of RAASi (instead of baseline use), HK was no longer found associated with all-cause deaths. Importantly, all RAASi (ACEi, ARB, or MRA) discontinuations were strongly associated with mortality.

In HF, hyper- and hypokalaemia were associated with mortality. However, when adjusting for RAASi discontinuation, HK was no longer associated with mortality, suggesting that HK may be a risk marker for RAASi discontinuation rather than a risk factor for worse outcomes.

Spoletini I, Ferrari R, Rosano GMC.

Living with stable angina: patients' pathway and needs in angina.

J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2020 May;21(5):377-382.

There is evidence that stable angina patients may suffer from emotional disorders that further impair their quality of life. However, the emotional experience of living with stable angina from the patient's perspective still has to be explored. Thus, the main aim of this study was to explore patients' emotional experience of having stable angina and their reported needs during the pathway from the first symptoms, through the process of diagnosis, to management and related lifestyle changes.

A survey was conducted in 75 chronic ischemic heart disease patients with angina (Brazil, China, Romania, Russia, and Turkey) using a 75-min, face-to-face in-depth interview.

Patients' responses highlighted the need to increase individuals' awareness on the first signs and symptoms of the disease. The survey also showed that chronic stable angina patients need constant emotional support to overcome stress, anxiety, and depression. Finally, this study suggests the need to offer greater space for dialogue with healthcare professionals to get more comprehensive and 'patient-friendly' information.

Manolis AJ, Kallistratos MS, Poulimenos LE, Ambrosio G, Dechend R, Lopez-Sendon J, Rosano G, Collins P.

The ESC 2019 CCS guidelines: have we left our patients and scientific evidence behind?

Eur J Intern Med. 2020 Feb;72:5-8. Epub 2019 Dec 24.

The ESC CCS 2019 guidelines recognize that successful management of anginal symptoms relies on effective therapy tailored to individual patient characteristics but do not provide any specific advice or clarity on how to utilize pharmacotherapy in order to achieve these goals. In this review, we are going to summarize and discuss the main points of disagreement.

Hollan I, Ronda N, Dessein P, Agewall S, Karpouzas G, Tamargo J, Niessner A, Savarese G, Rosano G, Kaski JC, Wassmann S, Meroni PL.

Lipid management in rheumatoid arthritis: a position paper of the Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy of the European Society of Cardiology.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Apr 1;6(2):104-114.

Rheumatoid arthritis (RA) is associated with increased cardiovascular morbidity, partly due to alterations in lipoprotein quantity, quality and cell cholesterol trafficking. Although cardiovascular disease significantly contributes to mortality excess in RA, cardiovascular prevention has been largely insufficient. Because of limited evidence, optimal strategies for lipid management (LM) in RA have not been determined yet, and recommendations are largely based on expert opinions. In this position paper, we describe abnormalities in lipid metabolism and introduce a new algorithm for estimation of cardiovascular risk (CVR) and LM in RA. The algorithm stratifies patients according to RA-related factors impacting CVR (such as RA activity and severity and medication). We propose strategies for monitoring of lipid parameters and treatment of dyslipidaemia in RA (including lifestyle, statins and other lipid-modifying therapies, and disease modifying antirheumatic drugs). These opinion-based recommendations are meant to facilitate LM in RA until more evidence is available.

Mascolo A, Urbanek K, De Angelis A, Sessa M, Scavone C, Berrino L, Rosano GMC, Capuano A, Rossi F.

Angiotensin II and angiotensin 1-7: which is their role in atrial fibrillation?

Heart Fail Rev. 2020 Mar;25(2):367-380.

Atrial fibrillation (AF) is a significant cause of morbidity and mortality as well as a public health burden considering the high costs of AF-related hospitalizations. Pre-clinical and clinical evidence showed a potential role of the renin angiotensin system (RAS) in the etiopathogenesis of AF. Among RAS mediators, angiotensin II (AII) and angiotensin 1-7 (A1-7) have been mostly investigated in AF. Specifically, the stimulation of the pathway mediated by AII or the inhibition of the pathway mediated by A1-7 may participate in inducing and sustaining AF. In this review, we summarize the evidence showing that both RAS pathways may balance the onset of AF through different biological mechanisms involving inflammation, epicardial adipose tissue (EAT) accumulation, and electrical cardiac remodeling. EAT is a predictor for AF as it may induce its onset through direct (infiltration of epicardial adipocytes into the underlying atrial myocardium) and indirect (release of inflammatory adipokines, the stimulation of oxidative stress, macrophage phenotype switching, and AF triggers) mechanisms. Classic RAS blockers such as angiotensin converting enzyme inhibitors (ACE-I) and angiotensin receptor blockers (ARB) may prevent AF by affecting the accumulation of the EAT, representing a useful therapeutic strategy for preventing AF especially in patients with heart failure and known left ventricular dysfunction. Further studies are necessary to prove this benefit in patients with other cardiovascular diseases. Finally, the possibility of using the A1-7 or ACE2 analogues, to enlarge current therapeutic options for AF, may represent an important field of research.

Drexel H, Rosano GMC, Lewis BS, Huber K, Vonbank A, Dopheide JF, Mader A, Niessner A, Savarese G, Wassmann S, Agewall S.

The age of randomized clinical trials: three important aspects of randomized clinical trials in cardiovascular pharmacotherapy with examples from lipid and diabetes trials.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Apr 1;6(2):97-103.

Randomized clinical trials (RCTs) are important and the Gold Standard for drugs in modern cardiovascular (CV) therapy. The cornerstone of RCTs is the recording of hard clinical endpoints instead of surrogates. It is important to select an appropriate endpoint. Efficacy endpoints must be clinically relevant and can be hierarchically divided. A very interesting innovation in endpoint acquisition is the total event paradigm.

Anker SD, Butler J, Khan MS, Abraham WT, Bauersachs J, Bocchi E, Bozkurt B, Braunwald E, Chopra VK, Cleland JG, Ezekowitz J, Filippatos G, Friede T, Hernandez AF, Lam CSP, Lindenfeld J, McMurray JJV, Mehra M, Metra M, Packer M, Pieske B, Pocock SJ, Ponikowski P, Rosano GMC, Teerlink JR, Tsutsui H, Van Veldhuisen DJ, Verma S, Voors AA, Wittes J, Zannad F, Zhang J, Seferovic P, Coats AJS.

Conducting clinical trials in heart failure during (and after) the COVID-19 pandemic: an Expert Consensus Position Paper from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC).

Eur Heart J. 2020 Jun 7;41(22):2109-2117.

The coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), has important implications for the safety of participants in clinical trials and the research staff caring for them and, consequently, for the trials themselves. Patients with heart failure may be at greater risk of infection with COVID-19 and the consequences might also be more serious, but they are also at risk of adverse outcomes if their clinical care is compromised. As physicians and clinical trialists, it is our responsibility to ensure safe and effective care is delivered to trial participants without affecting the integrity of the trial. The social contract with our patients demands no less. Many regulatory authorities from different world regions have issued guidance statements regarding the conduct of clinical trials during this COVID-19 crisis. However, international trials may benefit from expert guidance from a global panel of experts to supplement local advice and regulations, thereby enhancing the safety of participants and the integrity of the trial. Accordingly, the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology on 21 and 22 March 2020 conducted web-based meetings with expert clinical trialists in Europe, North America, South America, Australia, and Asia. The main objectives of this Expert Position Paper are to highlight the challenges that this pandemic poses for the conduct of clinical trials in heart failure and to offer advice on how they might be overcome, with

some practical examples. While this panel of experts are focused on heart failure clinical trials, these discussions and recommendations may apply to clinical trials in other therapeutic areas.

Seferović PM, Fragasso G, Petrie M, Mullens W, Ferrari R, Thum T, Bauersachs J, Anker SD, Ray R, Çavuşoğlu Y, Polovina M, Metra M, Ambrosio G, Prasad K, Seferović J, Jhund PS, Dattilo G, Čelutkienė J, Piepoli M, Moura B, Chioncel O, Ben Gal T, Heymans S, de Boer RA, Jaarsma T, Hill L, Lopatin Y, Lyon AR, Ponikowski P, Lainščak M, Jankowska E, Mueller C, Cosentino F, Lund L, Filippatos GS, Ruschitzka F, Coats AJS, Rosano GMC.

Sodium-glucose co- transporter 2 inhibitors in heart failure: beyond glycaemic control. The position paper of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2020 Jul 2. Epub ahead of print.

Heart failure (HF) is common and associated with a poor prognosis, despite advances in treatment. Over the last decade cardiovascular outcome trials with sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors in patients with type 2 diabetes mellitus have demonstrated beneficial effects for three SGLT2 inhibitors (empagliflozin, canagliflozin and dapagliflozin) in reducing hospitalisations for HF. More recently, dapagliflozin reduced the risk of worsening HF or death from cardiovascular causes in patients with chronic HF with reduced left ventricular ejection fraction, with or without type 2 diabetes mellitus. A number of additional trials in HF patients with reduced and/or preserved left ventricular ejection fraction are ongoing and/or about to be reported. The present position paper summarises recent clinical trial evidence and discusses the role of SGLT2 inhibitors in the treatment of HF, pending the results of ongoing trials in different populations of patients with HF.

Čelutkienė J, Pudil R, López-Fernández T, Grapsa J, Nihoyannopoulos P, Bergler-Klein J, Cohen-Solal A, Farmakis D, Tocchetti CG, von Haehling S, Barberis V, Flachskampf FA, Čėponienė I, Haegler-Laube E, Suter T, Lapinskas T, Prasad S, de Boer RA, Wechalekar K, Anker MS, Iakobishvili Z, Bucciarelli-Ducci C, Schulz-Menger J, Cosyns B, Gaemperli O, Belenkov Y, Hulot JS, Galderisi M, Lancellotti P, Bax J, Marwick TH, Chioncel O, Jaarsma T, Mullens W, Piepoli M, Thum T, Heymans S, Mueller C, Moura B, Ruschitzka F, Zamorano JL, Rosano G, Coats AJS, Asteggiano R, Seferovic P, Edvardsen T, Lyon AR.

Role of cardiovascular imaging in cancer patients receiving cardiotoxic therapies: a position statement on behalf of the Heart Failure Association (HFA), the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) and the Cardio-Oncology Council of the European Society of Cardiology (ESC).

Eur J Heart Fail. 2020 Jul 4. doi: 10.1002/ejhf.1957. Epub ahead of print.

Cardiovascular (CV) imaging is an important tool in baseline risk assessment and detection of CV disease in oncology patients receiving cardiotoxic cancer therapies. This position statement examines the role of echocardiography, cardiac magnetic resonance, nuclear cardiac imaging and computed tomography in the management of cancer patients. The Imaging and Cardio-Oncology Study Groups of the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC) in collaboration with the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) and the Cardio-Oncology Council of the ESC have evaluated the current evidence for the value of modern CV imaging in the cardio-oncology field. The most relevant echocardiographic parameters, including global longitudinal strain and three-dimensional ejection fraction, are proposed. The protocol for baseline pre-treatment evaluation and specific surveillance algorithms or pathways for anthracycline chemotherapy, HER2-targeted therapies such as trastuzumab, vascular endothelial growth factor tyrosine kinase inhibitors, BCr-Abl tyrosine kinase inhibitors, proteasome inhibitors and immune checkpoint inhibitors are presented. The indications for CV imaging after completion of oncology treatment are considered. The typical consequences of radiation therapy and the possibility of their identification in the long term are also summarized. Special populations are discussed including female survivors planning pregnancy, patients with carcinoid disease, patients with cardiac tumours and patients with right heart failure. Future directions and ongoing CV imaging research in cardio-oncology are discussed.

Chioncel O, Parissis J, Mebazaa A, Thiele H, Desch S, Bauersachs J, Harjola VP, Antohi EL, Arrigo M, Gal TB, Celutkiene J, Collins SP, DeBacker D, Iliescu VA, Jankowska E, Jaarsma T, Keramida K, Lainscak M, Lund LH, Lyon AR, Masip J, Metra M, Miro O, Mortara A, Mueller C, Mullens W, Nikolaou M, Piepoli M, Price S, Rosano G, Vieillard-Baron A, Weinstein JM, Anker SD, Filippatos G, Ruschitzka F, Coats AJS, Seferovic P.

Epidemiology, pathophysiology and contemporary management of cardiogenic shock - a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2020 May 29. Epub ahead of print.

Cardiogenic shock (CS) is a complex multifactorial clinical syndrome with extremely high mortality, developing as a continuum, and progressing from the initial insult (underlying cause) to the subsequent occurrence of organ failure and death. There is a large spectrum of CS presentations resulting from the interaction between an acute cardiac insult and a patient's underlying cardiac and overall medical condition. Phenotyping patients with CS may have clinical impact on management because classification would support initiation of appropriate therapies. CS management should consider appropriate organization of the health care services, and therapies must be given to the appropriately selected patients, in a timely manner, whilst avoiding iatrogenic harm. Although several consensus-driven algorithms have been proposed, CS management remains challenging and substantial investments in research and development have not yielded proof of efficacy and safety for most of the therapies tested, and outcome in this condition remains poor. Future studies should consider the identification of the new pathophysiological targets, and high-quality translational research should facilitate incorporation of more targeted interventions in clinical research protocols, aimed to improve individual patient outcomes. Designing outcome clinical trials in CS remains particularly challenging in this critical and very costly scenario in cardiology, but information from these trials is imperiously needed to better inform the guidelines and clinical practice. The goal of this review is to summarize the current knowledge concerning the definition, epidemiology, underlying causes, pathophysiology and management of CS based on important lessons from clinical trials and registries, with a focus on improving in-hospital management.

Kapłon-Cieślicka A, Laroche C, Crespo-Leiro MG, Coats AJS, Anker SD, Filippatos G, Maggioni AP, Hage C, Lara-Padrón A, Fucili A, Drożdż J, Seferovic P, Rosano GMC, Mebazaa A, McDonagh T, Lainscak M, Ruschitzka F, Lund LH; Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC) and the ESC Heart Failure Long-Term Registry Investigators.

Is heart failure misdiagnosed in hospitalized patients with preserved ejection fraction? From the European Society of Cardiology - Heart Failure Association EURObservational Research Programme Heart Failure Long-Term Registry.

ESC Heart Fail. 2020 Jul 2. Epub ahead of print.

In hospitalized patients with a clinical diagnosis of acute heart failure (HF) with preserved ejection fraction (HFpEF), the aims of this study were (i) to assess the proportion meeting the 2016 European Society of Cardiology (ESC) HFpEF criteria and (ii) to compare patients with restrictive/pseudonormal mitral inflow pattern (MIP) vs. patients with MIP other than restrictive/pseudonormal.

We included hospitalized participants of the ESC-Heart Failure Association (HFA) EURObservational Research Programme (EORP) HF Long-Term Registry who had echocardiogram with ejection fraction (EF) $\geq 50\%$ during index hospitalization. As no data on e' , E/e' and left ventricular (LV) mass index were gathered in the registry, the 2016 ESC HFpEF definition was modified as follows: elevated B-type natriuretic peptide (BNP) (≥ 100 pg/mL for acute HF) and/or N-terminal pro-BNP (≥ 300 pg/mL) and at least one of the echocardiographic criteria: (i) presence of LV hypertrophy (yes/no), (ii) left atrial volume index (LAVI) of >34 mL/m², or (iii) restrictive/pseudonormal MIP. Next, all patients were divided into four groups: (i) patients with restrictive/pseudonormal MIP on echocardiography [i.e. with presumably elevated left atrial (LA) pressure], (ii) patients with MIP other than restrictive/pseudonormal (i.e. with presumably normal LA pressure), (iii) atrial fibrillation (AF) group, and (iv) 'grey area' (no consistent description of MIP despite no report of AF). Of 6365 hospitalized patients, 1848 (29%) had EF $\geq 50\%$. Natriuretic peptides were assessed in 28%, LV hypertrophy in 92%, LAVI in 13%, and MIP in 67%. The

2016 ESC HFpEF criteria could be assessed in 27% of the 1848 patients and, if assessed, were met in 52%. Of the 1848 patients, 19% had restrictive/pseudonormal MIP, 43% had MIP other than restrictive/pseudonormal, 18% had AF and 20% were grey area. There were no differences in long-term all-cause or cardiovascular mortality, or all-cause hospitalizations or HF rehospitalizations between the four groups. Despite fewer non-cardiac comorbidities reported at baseline, patients with MIP other than restrictive/pseudonormal (i.e. with presumably normal LA pressure) had more non-cardiovascular (14.0 vs. 6.7 per 100 patient-years, $P < 0.001$) and cardiovascular non-HF (13.2 vs. 8.0 per 100 patient-years, $P = 0.016$) hospitalizations in long-term follow-up than patients with restrictive/pseudonormal MIP.

Acute HFpEF diagnosis could be assessed (based on the 2016 ESC criteria) in only a quarter of patients and confirmed in half of these. When assessed, only one in three patients had restrictive/pseudonormal MIP suggestive of elevated LA pressure. Patients with MIP other than restrictive/pseudonormal (suggestive of normal LA pressure) could have been misdiagnosed with acute HFpEF or had echocardiography performed after normalization of LA pressure. They were more often hospitalized for non-HF reasons during follow-up. Symptoms suggestive of acute HFpEF may in some patients represent non-HF comorbidities.

Jaarsma T, Hill L, Bayes-Genis A, Brunner La Rocca HP, Castiello T, Čelutkienė J, Marques-Sule E, Plymen CM, Piper SE, Riegel B, Rutten FH, Ben Gal T, Bauersachs J, Coats A, Chioncel O, Lopatin Y, Lund LH, Lainscak M, Moura B, Mullens W, Piepoli MF, Rosano G, Seferovic P, Strömberg A.

Self-care of heart failure patients: practical management recommendations from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2020 Sep 18. Epub ahead of print.

Self-care is essential in the long-term management of chronic heart failure. Heart failure guidelines stress the importance of patient education on treatment adherence, lifestyle changes, symptom monitoring and adequate response to possible deterioration. Self-care is related to medical and person-centred outcomes in patients with heart failure such as better quality of life as well as lower mortality and readmission rates. Although guidelines give general direction for self-care advice, health care professionals working with patients with heart failure need more specific recommendations. The aim of the management recommendations in this paper is to provide practical advice for health professionals delivering care to patients with heart failure. Recommendations for nutrition, physical activity, medication adherence, psychological status, sleep, leisure and travel, smoking, immunization and preventing infections, symptom monitoring, and symptom management are consistent with information from guidelines, expert consensus documents, recent evidence and expert opinion.

El Hadidi S, Rosano G, Tamargo J, Agewall S, Drexel H, Kaski JC, Niessner A, Lewis BS, Coats AJS.

Potentially Inappropriate Prescriptions in Heart Failure with Reduced Ejection Fraction (PIP-HFrEF).

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Sep 17:pvaa108. Epub ahead of print.

Heart failure (HF) is a chronic debilitating and potentially life-threatening condition. Heart Failure patients are usually at high risk of polypharmacy and consequently, potentially inappropriate prescribing leading to poor clinical outcomes. Based on the published literature, a comprehensive HF-specific prescribing review tool is compiled to avoid medications that may cause HF or harm HF patients and to optimize the prescribing practice of HF guideline-directed medical therapies. Recommendations are made in line with the last versions of ESC guidelines, ESC position papers, scientific evidence, and experts' opinions.

Marzilli M, Vinereanu D, Lopaschuk G, Chen Y, Dalal JJ, Danchin N, Etriby E, Ferrari R, Gowdak LH, Lopatin Y, Milicic D, Parkhomenko A, Pinto F, Ponikowski P, Seferovic P, Rosano GMC. *Corrigendum to "Trimetazidine in cardiovascular medicine," [Int. J. Cardiol., 293 (2019) 39-44].*

Int J Cardiol. 2020 Sep 2:S0167-5273(20)33405-7. Epub ahead of print. Erratum for: Int J Cardiol. 2019 Oct 15;293:39-44. PMID: 32891464.

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

Corrigendum to "Anti-anginal drugs: Systematic review and clinical implications" [Int. J. Cardiol. 283 (2019) 55-63].

Int J Cardiol. 2020 Jul 9:S0167-5273(20)33406-9. Epub ahead of print. Erratum for: Int J Cardiol. 2019 May 15;283:55-63.

Mascolo A, Urbanek K, De Angelis A, Sessa M, Scavone C, Berrino L, Rosano GMC, Capuano A, Rossi F. C

Correction to: Angiotensin II and angiotensin 1-7: which is their role in atrial fibrillation?

Heart Fail Rev. 2020 Sep;25(5):897. Erratum for: Heart Fail Rev. 2020 Apr 20

Tripodkiadis F, Butler J, Abboud FM, Armstrong PW, Adamopoulos S, Atherton JJ, Backs J, Bauersachs J, Burkhoff D, Bonow RO, Chopra VK, de Boer RA, de Windt L, Hamdani N, Hasenfuss G, Heymans S, Hulot JS, Konstam M, Lee RT, Linke WA, Lunde IG, Lyon AR, Maack C, Mann DL, Mebazaa A, Mentz RJ, Nihoyannopoulos P, Papp Z, Parissis J, Pedrazzini T, Rosano G, Rouleau J, Seferovic PM, Shah AM, Starling RC, Tocchetti CG, Trochu JN, Thum T, Zannad F, Brutsaert DL, Segers VF, De Keulenaer GW.

The continuous heart failure spectrum: moving beyond an ejection fraction classification.

Eur Heart J. 2019 Jul 1;40(26):2155-2163.

Randomized clinical trials initially used heart failure (HF) patients with low left ventricular ejection fraction (LVEF) to select study populations with high risk to enhance statistical power. However, this use of LVEF in clinical trials has led to oversimplification of the scientific view of a complex syndrome. Descriptive terms such as 'HF_rEF' (HF with reduced LVEF), 'HF_pEF' (HF with preserved LVEF), and more recently 'HF_{mr}EF' (HF with mid-range LVEF), assigned on arbitrary LVEF cut-off points, have gradually arisen as separate diseases, implying distinct pathophysiologies. In this article, based on pathophysiological reasoning, we challenge the paradigm of classifying HF according to LVEF. Instead, we propose that HF is a heterogeneous syndrome in which disease progression is associated with a dynamic evolution of functional and structural changes leading to unique disease trajectories creating a spectrum of phenotypes with overlapping and distinct characteristics. Moreover, we argue that by recognizing the spectral nature of the disease a novel stratification will arise from new technologies and scientific insights that will shape the design of future trials based on deeper understanding beyond the LVEF construct alone.

Manolis AJ, Kallistratos MS, Poulimenos LE, Ambrosio G, Dechend R, Lopez-Sendon J, Rosano G, Collins P.

The ESC 2019 CCS guidelines: Have we left our patients and scientific evidence behind?

Eur J Intern Med. 2020 Feb;72:5-8. Epub 2019 Dec 24.

The ESC CCS 2019 guidelines recognize that successful management of anginal symptoms relies on effective therapy tailored to individual patient characteristics but do not provide any specific advice or clarity on how to utilize pharmacotherapy in order to achieve these goals. In this review, we are going to summarize and discuss the main points of disagreement.

Rossignol P, Coats AJ, Chioncel O, Spoletini I, Rosano G.

Renal function, electrolytes, and congestion monitoring in heart failure.

Eur Heart J Suppl. 2019 Dec;21(Suppl M):M25-M31. Epub 2019 Dec 31.

Congestion, renal function, and electrolyte imbalance (particularly potassium) are common problems in the management of the complex multi-morbid patient with heart failure (HF). Poor control of these

fundamental clinical features is associated with adverse outcomes. Close monitoring of serum potassium and renal function is recommended by most current guidelines during the management of an episode of acute decompensated HF, yet the recommendations remain poorly implemented. Physicians are advised to treat a state of euvoemia after an admission with decompensated HF and residual congestion is a marker of worse outcome, yet control of congestion is poorly assessed and managed in real-world practice. This document reflects the key points discussed by a panel of experts during a Heart Failure Association meeting on physiological monitoring of the complex multi-morbid HF patient, and here, we present to aspects related to renal function, electrolyte, and congestion monitoring.

Kapelić CJ, Laroche C, Crespo-Leiro MG, Anker SD, Coats AJS, Díaz-Molina B, Filippatos G, Lainscak M, Maggioni AP, McDonagh T, Mebazaa A, Metra M, Moura B, Mullens W, Piepoli MF, Rosano GMC, Ruschitzka F, Seferović PM, Lund LH; Heart Failure Long-Term Registry Investigators Group.

Association between loop diuretic dose changes and outcomes in chronic heart failure: observations from the ESC-EORP Heart Failure Long-Term Registry.

Eur J Heart Fail. 2020 Apr 1. doi:10.1002/ejhf.1796.

Guidelines recommend down-titration of loop diuretics (LD) once euvoemia is achieved. In outpatients with heart failure (HF), we investigated LD dose changes in daily cardiology practice, agreement with guideline recommendations, predictors of successful LD down-titration and association between dose changes and outcomes.

We included 8130 HF patients from the ESC-EORP Heart Failure Long-Term Registry. Among patients who had dose decreased, successful decrease was defined as the decrease not followed by death, HF hospitalization, New York Heart Association class deterioration, or subsequent increase in LD dose. Mean age was 66 ± 13 years, 71% men, 62% HF with reduced ejection fraction, 19% HF with mid-range ejection fraction, 19% HF with preserved ejection fraction. Median [interquartile range (IQR)] LD dose was 40 (25-80) mg. LD dose was increased in 16%, decreased in 8.3% and unchanged in 76%. Median (IQR) follow-up was 372 (363-419) days. Diuretic dose increase (vs. no change) was associated with HF death [hazard ratio (HR) 1.53, 95% confidence interval (CI) 1.12-2.08; $P = 0.008$] and nominally with cardiovascular death (HR 1.25, 95% CI 0.96-1.63; $P = 0.103$). Decrease of diuretic dose (vs. no change) was associated with nominally lower HF (HR 0.59, 95% CI 0.33-1.07; $P = 0.083$) and cardiovascular mortality (HR 0.62, 95% CI 0.38-1.00; $P = 0.052$). Among patients who had LD dose decreased, systolic blood pressure [odds ratio (OR) 1.11 per 10 mmHg increase, 95% CI 1.01-1.22; $P = 0.032$], and absence of (i) sleep apnoea (OR 0.24, 95% CI 0.09-0.69; $P = 0.008$), (ii) peripheral congestion (OR 0.48, 95% CI 0.29-0.80; $P = 0.005$), and (iii) moderate/severe mitral regurgitation (OR 0.57, 95% CI 0.37-0.87; $P = 0.008$) were independently associated with successful decrease.

Diuretic dose was unchanged in 76% and decreased in 8.3% of outpatients with chronic HF. LD dose increase was associated with worse outcomes, while the LD dose decrease group showed a trend for better outcomes compared with the no-change group. Higher systolic blood pressure, and absence of (i) sleep apnoea, (ii) peripheral congestion, and (iii) moderate/severe mitral regurgitation were independently associated with successful dose decrease.

Seferović PM, Fragasso G, Petrie M, Mullens W, Ferrari R, Thum T, Bauersachs J, Anker SD, Ray R, Çavuşoğlu Y, Polovina M, Metra M, Ambrosio G, Prasad K, Seferović J, Jhund PS, Dattilo G, Čelutkienė J, Piepoli M, Moura B, Chioncel O, Ben Gal T, Heymans S, Jaarsma T, Hill L, Lopatin Y, Lyon AR, Ponikowski P, Lainščak M, Jankowska E, Mueller C, Cosentino F, Lund LH, Filippatos GS, Ruschitzka F, Coats AJS, Rosano GMC.

Heart Failure Association of the European Society of Cardiology Update on Sodium Glucose Co-transporter-2 Inhibitors in Heart Failure (an update on the Sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors in heart failure: beyond glycaemic control. The position paper of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology).

Eur J Heart Fail. 2020 Oct 17. Epub ahead of print.

Drexel H, Coats AJS, Spoletoni I, Bilato C, Mollace V, Perrone Filardi P, Rosano GMC.

ESC position paper on statins adherence and implementation of new lipid-lowering medications: barriers to be overcome.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Apr 1;6(2):115-121.

Benefits and safety on statins have been well-established over 20 years of research. Despite this, the vast majority of patients are not adequately treated and do not achieve the low-density lipoprotein cholesterol target levels. This is mainly due to poor adherence, which is associated with dangerous and sometimes fatal outcomes. To increase adherence and prevent worse outcomes, a combination therapy with lower dosage of statins and new lipid-lowering drugs may be used. However, the implementation of new lipid-lowering drugs in European countries is still at the beginning. For these reasons, the aim of this position paper is to give an up-to-date indication from the ESC Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy in order to discuss the barriers towards statins adherence and new lipid-lowering drugs implementation in Europe.

Rosano G, Schiefke I, Göhring UM, Fabien V, Bonassi S, Stein J.

A pooled analysis of serum phosphate measurements and potential hypophosphataemia events in 45 interventional trials with ferric carboxymaltose.

J Clin Med. 2020 Nov 6;9(11):E3587.

Ferric carboxymaltose (FCM) has been shown to achieve rapid replenishment of iron stores and correction of anaemia in various populations with iron deficiency. A decrease in serum phosphate (PO₄³⁻) levels, which in most cases is asymptomatic, has been reported with IV iron preparations. Hypophosphataemia (HP) is a known adverse drug reaction with FCM. This post hoc pooled analysis investigates the frequency, duration, risk factors, and clinical signs of HP as reported in interventional clinical trials with FCM. Pooled data from subjects enrolled across 45 clinical trials in different therapy areas were included. A three-step adjudication process was utilised to identify adverse events of HP. Stratified analyses by therapy group and stepwise logistic regression analysis were used to identify predictors of HP. This pooled analysis confirms that FCM is associated with increased rates of serum PO₄³⁻ lowering, but mean serum PO₄³⁻ values were seen to recover at Week 4 and further recover at Week 8. Among all subjects receiving FCM therapy (n = 6879), 41.4% (n = 2847) reached a PO₄³⁻ nadir value <2.5 mg/dL at any point on study and 0.7% (n = 49) reached a nadir <1 mg/dL. Although gastroenterology and women's health subjects were identified to be at higher risk, occurrence of severe HP (<1 mg/dL [0.3 mmol/L]) following FCM administration was not observed to be common among subjects in these studies. Furthermore, there was no correlation between laboratory serum PO₄³⁻ values and the occurrence of reported adverse events related to low PO₄³⁻ levels.

Drexel H, Lewis BS, Rosano GMC, Saely CH, Tautermann G, Huber K, Dopheide JF, Kaski JC, Mader A, Niessner A, Savarese G, Schmidt TA, Semb A, Tamargo J, Wassmann S, Kjeldsen KP, Agewall S, Pocock SJ.

The age of randomized clinical trials: three important aspects of randomized clinical trials in cardiovascular pharmacotherapy with examples from lipid, diabetes, and antithrombotic trials.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Nov 2;pvaa126. Epub ahead of print.

This review article aims to explain the important issues that data safety monitoring boards (DSMB) face when considering early termination of a trial and is specifically addressed to the needs of clinical and research cardiologists. We give an insight into the overall background and then focus on the three principal reasons for stopping trials, i.e. efficacy, futility, and harm. The statistical essentials are also addressed to familiarize clinicians with the key principles. The topic is further highlighted by numerous examples from lipid trials and antithrombotic trials. This is followed by an overview of regulatory aspects, including an insight into industry–investigator interactions. To conclude, we summarize the key elements that are the basis for a decision to stop a randomized clinical trial (RCT).

Ferrari R, Rosano G.

2019 guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes: congratulations and criticism.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Sep 1;6(5):331-332.

The ESC released the new guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes (CCS) in August 2019. On November 14, a corrigendum was published in the *European Heart Journal* following some comments and suggestions.

We would like to congratulate the authors of the guidelines, particularly for the first part related to symptoms and to the diagnostic flowcharts. A new and more precise terminology has been proposed [CCS instead of coronary artery disease (CAD)] and, for the pre-test probability model, a contemporary prevalence of CCS has been adopted, enriched by the addition of several risk factors. For the first time, dyspnoea is considered an ischaemic equivalent. Congratulations for anticipating the still unpublished suggestions of the 'ISCHAEMIA' trial and suggesting as the first diagnostic test for CCS coronary computed angiography (CTA) (to detect coronary anatomy) or non-invasive functional imaging (to detect ischaemia) with a relative downgrading of the 'old' exercise ECG. This, obviously, is good for those who can afford CTA or can perform a reliable non-invasive test. Congratulations also for all the prevention suggestions, in terms of lifestyle changes, reduction of progression of coronary atherosclerosis, and, in particular, prevention of thrombus formation. For the latter, the guidelines consider in detail all of the different scenarios: whether patients are in sinus rhythm or in atrial fibrillation or whether they have experienced a myocardial infarction or not, and provide clear indications on how to use aspirin, antiplatelet therapies (and which one), as well as the non-vitamin K antagonist oral anticoagulants and the concomitant use of proton pump inhibitors.

The problems with these guidelines relate to the approach to antianginal treatments. The 2013 guidelines were severely criticized for categorizing antianginal drugs in first- and second-line treatment without supporting scientific evidence. The criticism, unfortunately, remains for the 2019 guidelines. Despite the test which states that there is no evidence that one class of drugs is superior to another, the flowchart continues to recommend a stepwise strategy with first-, second-, even third-, and, in some instances, fourth-line drugs, and also contradicts the recommendations provided by the Regulatory Agencies (EMA and FDA) which have generated the publication of the corrigendum.² It is not clear how treatment with beta-blockers has the highest level of labelling, 1A, in the absence of multiple randomized trials (RCTs), while other classes of drugs with more contemporary and well-conducted RCTs are considered only a third step. There is an inexplicable upgrade for the use of long-lasting nitrates based mainly on rather personal opinions in the absence of new supporting studies and evidence that these drugs do not have any significant additive antianginal effect.^{3,4} Taking into consideration the multiplicity of mechanisms that can cause myocardial ischaemia and CCS, and in the absence of evidence that any drug is superior to another, it would have been better, as was done for the hypertension guidelines, to leave the choice of treatment to the practitioners, according to the pathophysiology of CCS or to patients' comorbidities.

The recommendations for myocardial revascularization of CCS are rather scanty and basically the reader is referred to the 2018 ESC myocardial revascularization guidelines. However, even these are facing some criticism as the European Association of Cardio-Thoracic Surgery has withdrawn its support as the guidelines recommended both stents and heart surgery for low-risk patients, largely based on the results of the EXCEL trial which is raising concerns related to the definition of heart attack.

Writing a guideline is a duty and a gift for a few experts on behalf of the entire medical community. It is not an easy job, particularly in the absence of appropriate and contemporary data. This generates a lot of congratulations but also some criticism. Probably, for the 2019 guidelines on CCS, the congratulations will be more than the criticism.

Tamargo J, Rosano G.

Low quality of some generic cardiovascular medicinal products represents a matter for growing concern.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2020 Jul 1;6(3):176-187.

Generic medicinal products (GMPs) are low-priced copies of off-patent medicines that reduce healthcare costs and broaden access to healthcare. Thus, healthcare authorities, professionals, and providers recommend their use. In recent years, the US Food and Drug Administration (FDA) and the European Medicines Agency (EMA) approved hundreds of GMPs based on specific bioequivalent trials. The question is whether the brand name drugs and GMPs or the different GMPs similar in purity, efficacy, and safety.

We have reviewed the progressive increasing recalls and warning letters of cardiovascular GMPs issued recently by the FDA/EMA. Both Agencies found numerous irregularities in the purity, safety,

effectiveness, and current good manufacturing practices in some GMPs widely used in cardiovascular therapy. This evidence and the recent identification of nitrosamine impurities classified as probable human carcinogens in several angiotensin receptor blockers confirm that the presence of low-quality/substandard GMPs represents a serious public health problem with significant impact on national clinical and economic burden.

A global strategy that unifies the efforts of all the stakeholders, including drug manufacturers, healthcare providers, governments, health professionals, patients, and judicial systems are needed to protect the drug chain supply and ensure that only high-quality GMPs are available for use.

Rosano G, Quek D, Martínez F.

Sodium-Glucose Co-transporter 2 inhibitors in heart failure: recent data and implications for practice.

Card Fail Rev. 2020 Nov 13;6:e31.

Heart failure is a shared chronic phase of many cardiac diseases and its prevalence is on the rise globally. Previous large-scale cardiovascular outcomes trials of sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors in patients with type 2 diabetes (T2D) have suggested that these agents may help to prevent primary and secondary hospitalisation due to heart failure and cardiovascular death in these patients. Data from the Study to Evaluate the Effect of Dapagliflozin on the Incidence of Worsening Heart Failure or Cardiovascular Death in Patients With Chronic Heart Failure (DAPA-HF) and Empagliflozin Outcome Trial in Patients With Chronic Heart Failure With Reduced Ejection Fraction (EMPEROR-Reduced) have demonstrated the positive clinical impact of SGLT2 inhibition in patients with heart failure with reduced ejection fraction both with and without T2D. These data have led to the approval of dapagliflozin for the treatment of patients with heart failure with reduced ejection fraction, irrespective of T2D status. This article reviews the latest data reported from the DAPA-HF and EMPEROR-Reduced trials and their clinical implications for the treatment of patients with heart failure.

Dschietzig TB, Rosano GMC, Anker SD.

The (apparent) sacubitril/valsartan sex interaction in heart failure with preserved ejection fraction: not the result of relaxin effects but of BNP action?!

ESC Heart Fail. 2020 Dec 15. Epub ahead of print.

In the discussion of PARALLAX after the presentation in the late-breaking trial session at the virtual ESC Congress 2020, it was mentioned that the result for the second primary endpoint of this study (i.e. the change in 6 min walk test distance) also showed a significant sex interaction in favour of women with HFpEF having a benefit from the use of sacubitril/valsartan vs. placebo. 3 This comment sets out to explore whether there could be biological plausibility for a sex interaction in the effects of sacubitril/valsartan vs. placebo in HFpEF patients. [...]it is conceivable that the actions of B-type natriuretic peptide (BNP) differ between atria and ventricles, which might explain the striking difference (in terms of presence and absence of the sex interaction) between the PARAGON-HF and PARADIGM-HF trials. Endogenous relaxin-2 At first sight, there could be the following link: angiotensin type-1 receptor (AT1R) blockers (ARBs) have recently been shown to completely block the anti-fibrotic effects of therapeutic relaxin, both in rodent models of renal and cardiac fibrosis and in human cardiac fibroblasts. 5,6 This is attributable to a direct interaction at receptor level—between RXFP1, the cognate receptor for relaxin-2, the AT1R, and the AT2R—and it enables antagonists to each receptor blocking agonist effects at the other receptors. 5 In other words, ARBs have been shown in these models to completely nullify relaxin's anti-fibrotic signalling. [...]it is inconclusive if and which other relaxin effects may be affected by use of ARBs. Most if not all women enrolled should have been post-menopausal, which effectively abolishes the said sex difference in endogenous relaxin levels. [...]the blockade of relaxin effects by valsartan would have been present in the active control arm as well—then, the sex interaction favouring women's outcome would rather rest in the sacubitril part of the drug to which we presently do not see any clue.

Zago M, Duarte NAC, Grecco LAC, Condoluci C, Oliveira CS, Galli M.

Gait and postural control patterns and rehabilitation in Down syndrome: a systematic review.

J Phys Ther Sci. 2020 Apr;32(4):303-314. Epub 2020 Apr 2. Review.

The aim of the study is to describe (1) the current knowledge on gait and postural control in individuals with Down syndrome in terms of spatiotemporal, kinematics and kinetics, and (2) relevant rehabilitation strategies. Randomized and non-randomized clinical trials published between January 1997 and October 2019 were selected by searching four scientific databases. We included studies on patients with Down syndrome involving gait analysis or postural control. A custom data-extraction and appraisal form was developed to collect the key features of each article. The PEDro Scale was used to evaluate the methodological quality of the studies. A total of 37 out of 146 cross-sectional and longitudinal studies were included in the review. The main abnormalities included: reduction of gait velocity and step length, poor static balance with increased anteroposterior and mediolateral oscillations and a larger step width. A number of compensatory patterns during movement was observed, with a direct influence on improvements in stability and postural control throughout daily life. Intensive gait training at an early age appears to produce long-term improvements in this population. Future research should focus on the interaction between the motor and cognitive function, and on the functional effects due to the exposure to an enriched environment.

Cimolin V, Condoluci C, Manzia CM, Girolamo GD, Galli M.

Quantification of upper body strategy during gait in children with spastic diplegia using a summary parameter.

Comput Methods Biomech Biomed Engin. 2020 Jul 23:1-7.

A summary measure for quantification of the upper body position (Upper Body Profile Score [UBPS]) during gait was proposed and used in 38 children with Cerebral Palsy (CP) and 15 healthy children (Control Group: CG). Patients with CP exhibited higher values of most of the summary parameters of the upper body position than the CG. The higher influence on UBPS is by the upper body position in sagittal and transversal plane. A significant and fair correlation between UBPS and Gait Profile Score (a summary measure to quantify the lower limb gait pattern) suggests that altered upper body movements during walking could be associated with the presence of lower limb impairments.

Zago M, Esposito F, Bertozzi F, Tritto B, Rampichini S, Galvani C, Galli M, Sforza C.

Kinematic effects of repeated turns while running.

Eur J Sport Sci. 2019 Sep;19(8):1072-1081. Epub 2019 Mar 5.

In team sports, non-contact ACL and MCL injuries occur during abrupt changes of direction, like turns or cutting manoeuvres. Fatigue affects dynamic neuromuscular control and increases knee injury risk. This study analysed how lower limb joints and centre-of-mass kinematics are affected throughout a high-intensity running protocol involving repeated 180°-turns. Twenty young men (18-23 years, BMI: 20.8-24.4 kg m⁻²) completed a 5-m shuttle running trial lasting 5 min at an average speed of 75% of their maximum aerobic speed. During the test, cardio-metabolic parameters were obtained, together with joints and centre-of-mass kinematics, using a motion capture system. Kinematic data were compared between the first and the last minute of exercise. Perceived exercise intensity ranged from "hard" to "maximum exertion" and post-exercise lactate concentration ranged from 5.4 to 15.5 mM. The repetition of 180°-turns induced a substantial reduction of hip (-60%, $p < .001$, large effect) and knee flexion (-40%, $p = .003$, medium-to-large effect), and an increase of hip adduction and internal rotation (+25-30%, $p < .05$, medium-to-large effect). Since such movements are factors increasing the likelihood of non-contact knee injuries, we concluded that the prolonged repetition of turns may expose participants to increased risk of ligament failure. Prevention programmes should include discipline-specific neuromuscular training especially in late practices.

Elisa Ravizzotti, Stefano Vercelli, Leonardo Pellicciari, Mariusz P. Furmanek, Giulia Zagnoni, Daniele Piscitelli.

Reliability and Validity of the Trunk Control Measurement Scale Among Children and Adolescents With Cerebral Palsy in Tanzania.

Percept Motor Skill 2020; 1-14.

The aim of this study was to investigate the reliability and validity of the Trunk Control Measurement Scale (TCMS) among children with cerebral palsy (CP) who were living in Tanzania. Two physiotherapy trainees, each blinded to the other's test findings, independently administered the TCMS to 38 children with CP (16 female; M age = 7.2, SD = 4.8 years) twice over sessions separated by a 30-day interval. We assessed internal consistency and intra/inter-rater reliability using Cronbach's alpha and the Intraclass Correlation Coefficient (ICC), respectively. We examined measurement error through Standard Error of Measurement (SEM) and Minimal Detectable Change (MDC). We assessed construct validity with Spearman's correlation coefficient between the TCMS and both the Gross Motor Function Classification System (GMFCS) and the Manual Ability Classification System (MACS). We found a frank floor effect. Internal consistency ($\alpha = 0.945$) and reliability indices were excellent for the total scale (ICC for intra-rater reliability = 0.985, inter-rater reliability = 0.997) and for each sub-scale score. We found low values of SEM (1.7 points) and MDC (4.8 points). Construct validity was supported by moderate and strong correlations between the TCMS and the GMFCS and MACS in this sample. We conclude that the psychometric properties of the TCMS support its clinical and research use for youth with CP in low-income settings.

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

Dopaminergic symptoms in migraine: A cross-sectional study on 1148 consecutive headache center-based patients.

Cephalalgia. 2020 Jun 2:333102420929023. Online ahead of print.

Dopaminergic symptoms may be extremely pronounced in some migraine patients during the attack, representing a major source of disability.

We aimed to carefully characterize the clinical picture of migraine patients with dopaminergic symptoms in a large patients' population as a putative migraine endophenotype, allowing more precise disease management, treatment and outcome prediction.

We screened 1148 consecutive tertiary care episodic and chronic migraine patients with face-to-face interviews collecting thorough data on lifestyle, socio-demographic factors, and clinical migraine features.

We identified 374 patients with migraine with dopaminergic symptoms (32.6%). The most frequent dopaminergic symptom was yawning followed by somnolence, nausea, vomiting, fatigue, mood changes and diuresis. Migraine patients with dopaminergic symptoms had longer attack duration (OR: 1.82; 95% CI: 1.41-2.36, $p < 0.0001$), more frequent osmophobia (OR: 2.01; 95% CI: 1.50-2.69, $p < 0.0001$), allodynia (OR: 1.43; 95% CI: 1.10-1.85, $p = 0.0071$) and unilateral cranial autonomic symptoms (OR: 1.31; 95% CI: 1.01-1.68, $p = 0.045$), but used less preventative treatments (OR: 0.74; 95% CI: 0.57-0.98, $p = 0.033$) than patients without dopaminergic symptoms.

Migraine patients with dopaminergic symptoms are characterized by a full-blown, more disabling migraine. Dopaminergic system modulation should be carefully considered in individuals with migraine with dopaminergic symptoms for both acute and preventative treatments in future ad hoc designed studies.

Barbanti P, Brighina F, Egeo G, Di Stefano V, Silvestro M, Russo A.

Migraine as a Cortical Brain Disorder.

Headache. 2020 Oct;60(9):2103-2114. Epub 2020 Aug 26.

Egeo G, Fofi L, Barbanti P.

Botulinum neurotoxin for the treatment of neuropathic pain.

Front Neurol. 2020 Aug 11;11:716.

Botulinum neurotoxin is widely used for the treatment of central and peripheral neurological conditions. Initially used to treat strabismus, over the years its use has been expanded also to spasticity and other neurological disorders. This review summarizes the evidence from the published literature regarding its effect on neuropathic pain. Almost all investigations were performed using onabotulinum toxin type A (BoNT/A). Most studies provided positive results, even though toxin formulation, dose, dilution, injection techniques, and sites are heterogeneous across studies. Future larger, high-quality, specifically designed clinical trials are warranted to confirm botulinum neurotoxin efficacy in neuropathic pain.

Altamura C, Costa C, Fofi L, Viticchi G, Fallacara A, Brunelli N, Egeo G, Aurilia C, Migliore S, Barbanti P, Silvestrini M, Vernieri F.

Migraineurs' psychological traits do not influence response to erenumab.

Neurol Sci. 2020 Aug 27. Epub ahead of print.

Vernieri F, Altamura C, Aurilia C, Brunelli N, Egeo G, Fofi L, Costa CM, Fallacara A, Favoni V, Pierangeli G, Aguggia M, Bertuzzo D, Albanese M, Di Fiore P, Frediani F, Cevoli S, Barbanti P. *Effectiveness, safety, and tolerability of galcanezumab in a real-life setting in patients with migraine in Italy (the GARLIT study).*

Neurol Sci. 2020 Aug 26. Epub ahead of print.

Altamura C, Cevoli S, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, Torelli P, Brunelli N, Pierangeli G, Favoni V, Fallacara A, Pensato U, Barbanti P, Vernieri F.

Locking down the CGRP pathway during the COVID-19 pandemic lockdown: the PandeMig study. Neurol Sci. 2020 Dec;41(12):3385-3389.

The COVID-19 pandemic and the consequent lockdown came as a storm disrupting people's everyday life. This study aimed at observing whether the COVID-19 related lockdown influenced migraine frequency and disability in migraine patients on therapy with monoclonal antibodies inhibiting the CGRP pathway.

In this longitudinal observational cohort study, 147 consecutive patients receiving monthly administration of erenumab or galcanezumab were enrolled in four Italian headache centers. All patients filled a questionnaire concerning working and household settings, recent flu symptoms or COVID-19 diagnosis, and family loss due to COVID-19 infection. Monthly migraine days (MMDs), monthly painkiller intake (MPI), and HIT-6 disability relative to the first month of lockdown imposition (T-lock) and the month before (T-free) were also collected.

From T-free to T-lock, the cohort displayed a reduction in MMDs (from 10.5 ± 7.6 to 9.8 ± 7.6 , $p = .024$) and HIT-6 scores (from 59.3 ± 8.3 men reduced MPI more frequently than women ($p = .005$).

Our study observed that the lockdown impact to 57.8 ± 8.8 , $p = .009$), while MPI resulted unchanged (from 11.6 ± 11.5 to 11.1 ± 11.7 ; $p = .114$). MMDs, MPI, and HIT-6 variations from T-free to T-lock did not differ according to work settings or household. Patients beyond the first 3 months of therapy presented less often a reduction in MMDs ($p = .006$) and on everyday life did not affect the migraine load in patients receiving monoclonal antibodies inhibiting the CGRP pathway. Patients in the first months of therapy experienced a greater improvement according to drug pharmacokinetics, while women more frequently needed rescue medications, possibly indicating presenteeism or cephalalgophobia.

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

Erenumab during pregnancy: a case report in a patient with chronic migraine.

Neurol Sci. 2020 Nov 26. Epub ahead of print.

Barbanti P, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, Cevoli S, Colombo B, Filippi M, Frediani F, Bono F, Grazi L, Salerno A, Mercuri B, Carnevale A, Altamura C, Vernieri F.

Erenumab in the prevention of high-frequency episodic and chronic migraine: Erenumab in Real Life in Italy (EARLY), the first Italian multicenter, prospective real-life study.

Headache. 2020 Dec 18. Epub ahead of print.

To assess the effectiveness, safety, and tolerability of erenumab in a real-life migraine population, while trying to identify responsiveness predictors.

Erenumab is a fully human Ig-2 monoclonal antibody blocking the calcitonin gene-related peptide receptor, indicated for migraine prophylaxis. Phase II and III trials demonstrated that erenumab is effective, safe, and well tolerated in the prevention of episodic and chronic migraine (CM), showing an early onset of action.

This is a multicenter, prospective, cohort, and real-life study. We considered for enrolment all consecutive patients aged 18-65 affected by high-frequency episodic migraine (HFEM) or CM, with or without medication overuse, visited at nine Italian Headache Centers from December 20, 2018 to September 30, 2019. Each patient was treated with erenumab 70 mg, administered subcutaneously every 4 weeks. Treatment duration was planned to last from 6 to 12 months, depending on the patient's response. The primary endpoint was the change in monthly migraine days (MMDs) at weeks 9-12 compared to baseline. Secondary endpoints included changes in monthly analgesics intake, $\geq 50\%$, $\geq 75\%$, and 100% responder rates and any variation in the Visual Analog Scale (VAS) and Headache Impact Test scores (HIT).

In total, 372 migraine patients were treated with at least one dose of erenumab 70 mg. At weeks 9-12, erenumab decreased MMDs by 4.5 ± 4.1 days (mean \pm SD) in patients with HFEM and by 9.3 ± 9.1 (mean \pm SD) days in those with CM compared to baseline. At weeks 9-12 VAS score was reduced by 1.9 ± 1.9 (mean \pm SD), HIT score by 10.7 ± 8.8 (mean \pm SD), and median monthly analgesics intake passed from 12.0 (interquartile range [IQR] 10.0-14.0) to 5.0 (IQR 3.0-7.0) in HFEM. In CM patients, VAS was reduced by 1.7 ± 2.0 (mean \pm SD), HIT by 9.7 ± 10.4 (mean \pm SD), and median monthly analgesics intake passed from 20.0 (IQR 15.0-30.0) to 8.0 (IQR 5.0-15.0). At week 12, $\geq 50\%$ responders were 60/101 (59.4%) for HFEM and 146/263 (55.5%) for CM, $\geq 75\%$ responders were 17/101 (16.8%) and 59/263 (22.4%) and 100% responders 1/101 (1.0%) and 3/263 (1.1%), respectively. Erenumab responsiveness in HFEM was positively associated with unilateral pain localization (OR: 3.03, 95% CI: 1.24-7.40; $p = 0.015$), whereas in CM responsiveness was positively associated with and baseline migraine frequency (OR: 1.06, 95% CI: 1.02-1.11; $p = 0.031$), dopaminergic symptoms (OR: 2.01, 95% CI: 1.14-3.52; $p = 0.015$), and negatively associated with psychiatric comorbidities (OR: 0.43, 95% CI: 0.20-0.93; $p = 0.003$).

Erenumab 70 mg is effective, safe, and well tolerated in real life. Easily obtainable clinical features might be of help in predicting patient's responsiveness.

Marcos-Pérez D, Sánchez-Flores M, Proietti S, Bonassi S, Costa S, Teixeira JP, Fernández-Tajes J, Pásaro E, Valdiglesias V, Laffon B.

Low vitamin D levels and frailty status in older adults: asystematic review and meta-analysis. Nutrients. 2020 Jul 30;12(8):2286.

Serum vitamin D deficiency is widespread among older adults and is a potential modifiable risk factor for frailty. Moreover, frailty has been suggested as an intermediate step in the association between low levels of vitamin D and mortality. Hence, we conducted a systematic review of the literature and meta-analysis to test the possible association of low concentrations of serum 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D), a marker of vitamin D status, with frailty in later life. We reviewed cross-sectional or longitudinal studies evaluating populations of older adults and identifying frailty by a currently validated scale. Meta-analyses were restricted to cross-sectional data from studies using Fried's phenotype to identify frailty. Twenty-six studies were considered in the qualitative synthesis, and thirteen studies were included in the meta-analyses. Quantitative analyses showed significant differences in the comparisons of frail (standardized mean difference (SMD)-1.31, 95% confidence interval (CI) (-2.47, -0.15), $p = 0.0271$) and pre-frail (SMD-0.79, 95% CI (-1.58, -0.003), $p = 0.0491$) subjects vs. non-frail subjects. Sensitivity analyses reduced heterogeneity, resulting in a smaller but still highly significant between-groups difference. Results obtained indicate that lower 25(OH)D levels are significantly associated with increasing frailty severity. Future challenges include interventional studies testing the possible benefits of vitamin D supplementation in older adults to prevent/palliate frailty and its associated outcomes.

Marcos-Pérez D, Sánchez-Flores M, **Proietti S**, Bonassi S, Costa S, Teixeira JP, Fernández-Tajes J, Pásaro E, Laffon B, Valdiglesias V.

Association of inflammatory mediators with frailty status in older adults: results from a systematic review and meta-analysis.

Geroscience. 2020 Aug 15. Epub ahead of print.

Frailty is a geriatric syndrome defined as a status of extreme vulnerability to stressors, leading to a higher risk of negative health-related outcomes. "Inflammaging", an age-related state of low-grade chronic inflammation, is characterized by an increased concentration of pro-inflammatory cytokines and acute

phase proteins. Inflammaging has been postulated as an underlying mechanism of frailty, and several studies tested the relationship between frailty and concentration of inflammatory mediators. The aim of this systematic review and meta-analysis was to test whether inflammatory mediators are overproduced in frail older adults. Among the 758 articles identified in the literature search, 50 were included in the systematic review, and 39 in the three meta-analyses, i.e., C-reactive protein (CRP), interleukin 6 (IL6), and tumor necrosis factor α . To reduce heterogeneity, meta-analyses were restricted to studies identifying frailty by the Fried et al. [1] [J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 56, M146-56] phenotypic criteria. Quantitative analyses measuring the association between frailty and biomarker concentrations showed significant differences when frail subjects were compared to non-frail and pre-frail subjects for CRP and IL6. This work established strong association between inflammatory biomarkers and frailty, confirming the role of age-related chronic inflammation in frailty development.

Santoro A, Tomino C, Prinzi G, Cardaci V, Fini M, Macera L, Russo P, Maggi F.

Microbiome in chronic obstructive pulmonary disease: role of natural products against microbial pathogens.

Curr Med Chem. 2020;27(18):2931-2948.

The "microbiome" is the operative term to refer to a collection of all taxa constituting microbial communities, such as bacteria, archaea, fungi and protists (originally microbiota). The microbiome consists of the indigenous microbial communities and of the host environment that they inhabit. Actually, it has been shown that there is a close relationship between the microbiome and human health and disease condition. Although, initially, the lung was considered sterile, actually, the existence of a healthy lung microbiome is usually accepted. Lung microbiome changes are reported in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) and in its exacerbation. Viral and bacterial infections of the respiratory system are a major cause of COPD exacerbations (AECOPD) leading to increased local and systemic inflammation. Detection rates of virus in AECOPD are variable between 25-62% according to the detection method. The study of human airway and lung disease virome is quite recent and still very limited. The purpose of this review is to summarize recent findings on the lung microbiome composition with a special emphasis on virome in COPD and in AECOPD. Some drugs of natural origins active against resistant bacteria and virus are described.

Russo P, Tomino C, Santoro A, Prinzi G, Proietti S, Kisialiou A, Cardaci V, Fini M, Magnani M, Collacchi F, Provinciali M, Giacconi R, Bonassi S, Malavolta M.

FKBP5 rs4713916: a potential genetic predictor of interindividual different response to inhaled corticosteroids in patients with chronic obstructive pulmonary disease in a real-life setting.

Int J Mol Sci. 2019 Apr 24;20(8):2024.

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a common, preventable, and manageable lung disease characterized by large heterogeneity in disease presentation and grades impairment. Inhaled corticosteroids (ICS) are commonly used to manage COPD/COPD-exacerbation. The patient's response is characterized by interindividual variability without disease progression/survival modification. We hypothesize that a therapeutic intervention may be more effective if single nucleotide polymorphisms (SNPs) are investigated. Methods: In 71 COPD patients under pulmonary rehabilitation, a small number of powerful SNPs, selected according to current literature, were analyzed; namely the glucocorticoid receptor gene NR3C1 (rs6190/rs6189/rs41423247), the glucocorticoid-induced transcript 1 gene (GLCCI1 rs37972), and the related co-chaperone FKBP5 gene (rs4713916). MDR1 rs2032582 was also evaluated. Lung function outcomes were assessed. A significant association with functional outcomes, namely FEV1 (forced expiration volume/one second) and 6MWD (six-minutes walking distance), was found for rs4713916 and weakly for rs37972. The genotype rs4713916(GA) and, in a lesser extent, the genotype rs37972(TT), were more favorable than the wild-type. Our study supports a possible picture of pharmacogenomic control for COPD intervention. rs4713916 and, possibly, rs37972 may be useful predictors of clinical outcome. These results may help to tailor an optimal dose for individual COPD patients based on their genetic makeup.

Valencia-Quintana R, Milić M, Jakšić D, Šegvić Klarić M, Tenorio-Arvide MG, Pérez-Flores GA, Bonassi S, Sánchez-Alarcón J.

Environment changes, aflatoxins, and health issues, a review.
Int J Environ Res Public Health. 2020 Oct 27;17(21):E7850.

Crops contaminated by aflatoxins (AFs), the toxic and carcinogenic mycotoxins produced namely by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, have severe impacts on human health. Changes in temperature and water availability related to actual climate changes (increased temperature, heavy rainfalls, and droughts) are modulating factors of mould growth and production of mycotoxins. To protect human and animal health from the harmful effects caused by AFs, the development of a safe and effective multifaceted approach in combating food and feed contamination with AFs is necessary. This review aims to collect and analyze the available information regarding AF presence in food and feed to reinforce AF management and to prevent health issues related to the AF exposure in the light of actual climate changes.

Fenech M, Knasmueller S, Bolognesi C, Holland N, Bonassi S, Kirsch-Volders M.
Micronuclei as biomarkers of DNA damage, aneuploidy, inducers of chromosomal hypermutation and as sources of pro-inflammatory DNA in humans.
Mutat Res. 2020 Oct-Dec;786:108342. Epub 2020 Oct 28.

Micronuclei (MNi) are among the most widely studied biomarkers of DNA damage and chromosomal instability in humans. They originate from chromosome fragments or intact chromosomes that are not included in daughter nuclei during mitosis. The main reasons for their formation are a lack of functional centromere in the chromosome fragments or whole chromosomes or defects in one or more of the proteins of the mitotic system that, consequently, fails to segregate chromosomes properly. Assays have been developed to measure MNi in peripheral blood lymphocytes, red blood cells as well as various types of epithelial cells such as buccal, nasal, urothelial and cervical cells. Some of the assays have been further developed into micronucleus (MN) cytome assays to include additional nuclear anomalies, cell death and nuclear division biomarkers. In addition, the use of molecular probes has been adopted widely for the purpose of understanding the mechanistic origin of MNi. MN assays in humans are used for the purpose of investigating the genotoxic effects of adverse environmental, life-style and occupational factors, genetic susceptibility to DNA damage, and for determining risk of accelerated aging and diseases affected by genomic instability such as developmental defects and cancer. The emerging new knowledge showing that chromosomes trapped in MNi can undergo a high rate of fragmentation and become massively re-arranged have highlighted the possibility that MN formation is not only a biomarker of induced DNA damage but also a mechanism that drives hypermutation. Furthermore, another line of recent research showed that DNA and chromatin leaking from disrupted MNi triggers the innate immune cGAS-STING mechanism that promotes inflammation which can cause a wide-range of age-related diseases if left unresolved. For these reasons, MN assays in humans have become an increasingly important biomarker of disease initiation and progression across all life-stages.

Møller P, Azqueta A, Boutet-Robinet E, Koppen G, Bonassi S, Milić M, Gajski G, Costa S, Teixeira JP, Costa Pereira C, Dusinska M, Godschalk R, Brunborg G, Gutzkow KB, Giovannelli L, Cooke MS, Richling E, Laffon B, Valdiglesias V, Basaran N, Del Bo' C, Zegura B, Novak M, Stopper H, Vodicka P, Vodenkova S, de Andrade VM, Sramkova M, Gabelova A, Collins A, Langie SAS.

Minimum Information for Reporting on the Comet Assay (MIRCA): recommendations for describing comet assay procedures and results.
Nat Protoc. 2020 Oct 26. Epub ahead of print.

The comet assay is a widely used test for the detection of DNA damage and repair activity. However, there are interlaboratory differences in reported levels of baseline and induced damage in the same experimental systems. These differences may be attributed to protocol differences, although it is difficult to identify the relevant conditions because detailed comet assay procedures are not always published. Here, we present a Consensus Statement for the Minimum Information for Reporting Comet Assay (MIRCA) providing recommendations for describing comet assay conditions and results. These recommendations differentiate between 'desirable' and 'essential' information: 'essential' information refers to the precise details that are necessary to assess the quality of the experimental work, whereas 'desirable' information relates to technical issues that might be encountered when repeating the

experiments. Adherence to MIRCA recommendations should ensure that comet assay results can be easily interpreted and independently verified by other researchers.

Geroin C, Artusi CA, Gandolfi M, Zanolin E, Ceravolo R, Capecci M, Andrenelli E, Ceravolo MG, Bonanni L, Onofrj M, Telese R, Bellavita G, Catalan M, Manganotti P, Mazzucchi S, Giannoni S, Vacca L, Stocchi F, Casali M, Falup-Pecurariu C, Zibetti M, Fasano A, Lopiano L, Tinazzi M.

Does the degree of trunk bending predict patient disability, motor impairment, falls, and back pain in Parkinson's Disease?

Front Neurol. 2020 Mar 31;11:207.

Postural abnormalities in Parkinson's disease (PD) form a spectrum of functional trunk misalignment, ranging from a "typical" parkinsonian stooped posture to progressively greater degrees of spine deviation. To analyze the association between degree of postural abnormalities and disability and to determine cut-off values of trunk bending associated with limitations in activities of daily living (ADLs), motor impairment, falls, and back pain. The study population was 283 PD patients with $\geq 5^\circ$ of forward trunk bending (FTB), lateral trunk bending (LTB) or forward neck bending (FNB). The degrees were calculated using a wall goniometer (WG) and software-based measurements (SBM). Logistic regression models were used to identify the degree of bending associated with moderate/severe limitation in ADLs (Movement Disorders Society Unified PD Rating Scale [MDS-UPDRS] part II ≥ 17), moderate/severe motor impairment (MDS-UPDRS part III ≥ 33), history of falls (≥ 1), and moderate/severe back pain intensity (numeric rating scale ≥ 4). The optimal cut-off was identified using receiver operating characteristic (ROC) curves. We found significant associations between modified Hoehn & Yahr stage, disease duration, sex, and limitation in ADLs, motor impairment, back pain intensity, and history of falls. Degree of trunk bending was associated only with motor impairment in LTB (odds ratio [OR] 1.12; 95% confidence interval [CI], 1.03-1.22). ROC curves showed that patients with LTB of 10.5° (SBM, AUC 0.626) may have moderate/severe motor impairment. The severity of trunk misalignment does not fully explain limitation in ADLs, motor impairment, falls, and back pain. Multiple factors possibly related to an aggressive PD phenotype may account for disability in PD patients with FTB, LTB, and FNB.

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

Abnormal cortical neural synchronization mechanisms in quiet wakefulness are related to motor deficits, cognitive symptoms, and visual hallucinations in Parkinson's disease patients: an electroencephalographic study.

Neurobiol Aging. 2020 Jul;91:88-111. Epub 2020 Mar 12.

Compared with Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD) shows peculiar clinical manifestations related to vigilance (i.e., executive cognitive deficits and visual hallucinations) that may be reflected in resting-state electroencephalographic rhythms. To test this hypothesis, clinical and resting-state electroencephalographic rhythms in age-, sex-, and education-matched PD patients (N = 136) and Alzheimer's disease patients (AD, N = 85), and healthy older participants (Nold, N = 65), were available from an international archive. Electroencephalographic sources were estimated by eLORETA software. The results are as follows: (1) compared to the Nold participants, the AD and PD patients showed higher widespread delta source activities (PD > AD) and lower posterior alpha source activities (AD > PD); (2) the PD patients with the most pronounced motor deficits exhibited very low alpha source activities in widespread cortical regions; (3) the PD patients with the strongest cognitive deficits showed higher alpha source activities in widespread cortical regions; and (4) compared to the PD patients without visual hallucinations, those with visual hallucinations were characterized by higher posterior alpha sources activities. These results suggest that in PD patients resting in quiet wakefulness, abnormalities in cortical neural synchronization at alpha frequencies are differently related to cognitive, motor, and visual

hallucinations. Interestingly, parallel PD neuropathological processes may have opposite effects on cortical neural synchronization mechanisms generating cortical alpha rhythms in quiet wakefulness.

Babiloni C, Lopez S, Del Percio C, Noce G, Pascarelli MT, Lizio R, Teipel SJ, González-Escamilla G, Bakardjian H, George N, Cavedo E, Lista S, Chiesa PA, Vergallo A, Lemercier P, Spinelli G, Grothe MJ, Potier MC, Stocchi F, Ferri R, Habert MO, Fraga FJ, Dubois B, Hampel H; INSIGHT-preAD Study Group.

Resting-state posterior alpha rhythms are abnormal in subjective memory complaint seniors with preclinical Alzheimer's neuropathology and high education level: the INSIGHT-preAD study. Neurobiol Aging. 2020 Jun;90:43-59. Epub 2020 Feb 1.

Cognitive reserve is present in Alzheimer's disease (AD) seniors with high education attainment making them clinically resilient to extended brain neuropathology and neurodegeneration. Here, we tested whether subjective memory complaint (SMC) seniors with AD neuropathology and high education attainment of the prospective INSIGHT-preAD cohort (Paris) may present abnormal eyes-closed resting state posterior electroencephalographic rhythms around individual alpha frequency peak, typically altered in AD patients. The SMC participants negative to amyloid PET AD markers (SMCneg) with high (over low-moderate) education level showed higher posterior alpha 2 power density (possibly "neuroprotective"). Furthermore, amyloid PET-positive SMC (SMCpos) participants with high (over low-moderate) education level showed higher temporal alpha 3 power density (possibly "neuroprotective") and lower posterior alpha 2 power density (possibly "compensatory"). This effect may reflect cognitive reserve as no differences in brain gray-white matter, and cognitive functions were observed between these SMCpos/SMCneg subgroups. Preclinical Alzheimer's neuropathology may interact with education attainment and neurophysiological mechanisms generating cortical alpha rhythms around individual alpha frequency peak (i.e., alpha 2 and 3) in quiet wakefulness.

Stocchi F, Vacca L, Grassini P, Tomino C, Caminiti G, Casali M, D'Antoni V, Volterrani M, Torti M.

Overnight switch from rasagiline to safinamide in parkinson's disease patients with motor fluctuations: A tolerability and safety study.

Eur J Neurol. 2020 Sep 22. Epub ahead of print.

When switching between monoamine oxidase type B (MAO-B) inhibitors, a 15-day suspension period is a precautionary measure to avoid a serotonin syndrome and hypertensive crisis. However, this indication results in a major inconvenience for parkinsonian patients because of the worsening of their clinical condition. In routine clinical practice, neurologists often perform a substitution of these two drugs without solution of continuity (i.e. overnight), to avoid worsening of fluctuations and prolonged OFF periods. Therefore, a safety open label study was performed to investigate the possible risks of switching overnight from rasagiline to safinamide.

The study population included 20 advanced patients with Parkinson's disease on stable treatment with rasagiline and levodopa (alone or in combination with other anti-parkinsonian medication). The possible occurrence of serotonin syndrome and hypertension was monitored through a strict clinical observation and a 24-h Holter recording (ABPM) performed twice, whilst subjects were on rasagiline and immediately after switching to safinamide.

No cases of serotonin syndrome or hypertensive crisis occurred during the study. Changes that were not significant occurred in the primary end-point: 24-h mean blood pressure (BP) had a mild +4.4% increase in the ABPM2 versus ABPM1 ($P = 0.17$), 24-h systolic and diastolic BP values were slightly higher at ABPM2 compared to ABPM1 (respectively +3.3%, $P = 0.13$; and 5.4%, $P = 0.08$) and 24-h systolic BP variability was unchanged between the two ABPM evaluations (from 8.6 ± 2.9 to 8.9 ± 1.8 ; $P = 0.27$).

The results of the present study confirm that the overnight switch from rasagiline to safinamide is safe and well tolerated by patients.

Del Percio C, Drinkenburg W, Lopez S, Pascarelli MT, Lizio R, Noce G, Ferri R, Bastlund JF, Laursen B, Christensen DZ, Pedersen JT, Forloni G, Frasca A, Noè FM, Fabene PF, Bertini G,

Colavito V, Bentivoglio M, Kelley J, Dix S, Infarinato F, Soricelli A, Stocchi F, Richardson JC, Babiloni C; PharmaCog Consortium.

Ongoing electroencephalographic rhythms related to exploratory movements in transgenic TASTPM mice.

J Alzheimers Dis. 2020 Sep 11. Epub ahead of print.

The European PharmaCog study (<http://www.pharmacog.org>) has reported a reduction in delta (1-6 Hz) electroencephalographic (EEG) power (density) during cage exploration (active condition) compared with quiet wakefulness (passive condition) in PDAPP mice (hAPP Indiana V717F mutation) modeling Alzheimer's disease (AD) amyloidosis and cognitive deficits.

Here, we tested the reproducibility of that evidence in TASTPM mice (double mutation in APP KM670/671NL and PSEN1 M146V), which develop brain amyloidosis and cognitive deficits over aging. The reliability of that evidence was examined in four research centers of the PharmaCog study.

Ongoing EEG rhythms were recorded from a frontoparietal bipolar channel in 29 TASTPM and 58 matched "wild type" C57 mice (range of age: 12-24 months). Normalized EEG power was calculated. Frequency and amplitude of individual delta and theta frequency (IDF and ITF) peaks were considered during the passive and active conditions.

Compared with the "wild type" group, the TASTPM group showed a significantly lower reduction in IDF power during the active over the passive condition ($p < 0.05$). This effect was observed in 3 out of 4 EEG recording units.

TASTPM mice were characterized by "poor reactivity" of delta EEG rhythms during the cage exploration in line with previous evidence in PDAPP mice. The reliability of that result across the centers was moderate, thus unveiling pros and cons of multicenter preclinical EEG trials in TASTPM mice useful for planning future studies.

Stocchi F, Fossati B, Torti M.

Safety considerations when using non-ergot dopamine agonists to treat Parkinson's disease.

Expert Opin Drug Saf. 2020 Sep 1. Epub ahead of print.

Nonergot dopamine agonists (NEDA) represent an excellent treatment option for Parkinson's disease (PD) patients, in both early and advanced stages of the disease. The post-marketing phase of NEDA has highlighted, though, the occurrence of important long-term adverse events.

This review reports recent updates on NEDA adverse events, analyzing neurobiological bases and risk factors of these complications. A literature search has been performed using Medline and reviewing the bibliographies of selected articles.

NEDA represents a very important option in the treatment of PD. Criticisms on their use can be overcome through a better knowledge of these molecules and of the risk factors for adverse events which allow specialists to prevent the occurrence of undesired complications and consent a tailor-based approach. Abbreviations: PD: Parkinson's disease, DA: dopamine agonists, NEDA: non-ergot dopamine agonists, ICD: impulse control disorders, DAWs: dopamine agonist withdrawal syndrome, CYP: Cytochrome P, PK: pharmacokinetic, AUC: area under the curve, HRT: hormone replacement therapy, AV: atrioventricular, HF: heart failure, OH: orthostatic hypotension, RBD: REM behavior disorders, PDP: Parkinson's disease psychosis, DRT: dopamine replacement therapy, DDS: dopamine dysregulation syndrome, MMSE: Mini-Mental state examination, EDS: excessive daytime somnolence.

Babiloni C, Ferri R, Noce G, Lizio R, Lopez S, Soricelli A, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Cipollini V, Marizzoni M, Güntekin B, Aktürk T, Hanoğlu L, Yener G, Emek-Savaş DD, Stocchi F, Vacca L, Frisoni GB, Del Percio C.

Resting-state electroencephalographic delta rhythms may reflect global cortical arousal in healthy old seniors and patients with Alzheimer's disease dementia.

Int J Psychophysiol. 2020 Oct 17:S0167-8760(20)30234-30238.

Extending Başar's theory of event-related EEG oscillations, here we hypothesize that even in quiet wakefulness, transient increases in delta rhythms may enhance global cortical arousal as revealed by the desynchronization of alpha rhythms in normal (Nold) seniors with some derangement in Alzheimer's

disease dementia (ADD). Clinical and EEG datasets in 100 ADD and 100 Nold individuals matched as demography, education, and gender were taken from an international archive. Standard delta (< 4 Hz) and alpha1 (8-10.5 Hz) bands were used for the main analysis, while alpha2 (10.5-13 Hz), theta (4-8 Hz), beta1 (13-20 Hz), beta2 (20-35 Hz), and gamma (35-40 Hz) served as controls. In the interpretation, the higher the alpha1 power (density), the lower that arousal. As expected, when compared to the Nold group, the ADD group showed higher global (scalp) power density at the delta-theta band and lower global power density at the alpha-beta bands. As novel findings, we observed that: (1) in the Nold group, the global delta and alpha1-2 power were negatively and linearly correlated; (2) in the ADD group, this correlation was just marginal; and (3) in both Nold and AD groups, the EEG epochs with the highest delta power (median value for stratification) were associated with the lowest global alpha1 power. This effect was related to eLORETA freeware solutions showing maximum alpha1 source activations in posterior cortical regions. These results suggest that even in quiet wakefulness, delta and alpha rhythms are related to each other, and ADD partially affects this cross-band neurophysiological mechanism.

Del Chierico F, Grassini P, Quagliariello A, Torti M, Russo A, Reddel S, Stocchi F.

The impact of intestinal microbiota on weight loss in Parkinson's disease patients: a pilot study. Future Microbiol. 2020 Sep;15:1393-1404.

There is increasing evidence of the association between microbiome dysfunction and Parkinson's disease (PD). Moreover, some PD patients suffer from unintentional weight loss (WL) which may precede the motor manifestations of the disease. Gut microbiota profiling by 16S rRNA gene sequencing was performed in PD patients with an unintended WL, in steady weight patients (non-WL [NWL]) and in matched normal subjects. KEGG functional predictions were carried out. Microbiota profiles revealed a dissimilarity between WL and NWL. Moreover, WL pathways were characterized by fatty acid biosynthesis, while NWL by inflammation pathways. The gut microbiota could participate in weight alteration observed in PD by the presence of bacteria involved in weight gain and inflammation, or conversely by bacteria implicated in energy expenditure.

Pascarelli MT, Del Percio C, De Pandis MF, Ferri R, Lizio R, Noce G, Lopez S, Rizzo M, Soricelli A, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Salvetti M, Cipollini V, Franciotti R, Onofri M, Fuhr P,

Gschwandtner U, Ransmayr G, Aarsland D, Parnetti L, Farotti L, Marizzoni M, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Yener G, Emek-Savaş DD, Ivano Triggiani A, Paul Taylor J, McKeith I, Stocchi F, Vacca L, Hampel H, Frisoni GB, Bonanni L, Babiloni C.

Abnormalities of resting-state EEG in patients with prodromal and overt dementia with Lewy bodies: relation to clinical symptoms.

Clin Neurophysiol. 2020 Nov;131(11):2716-2731.

Here we tested if cortical sources of resting state electroencephalographic (rsEEG) rhythms may differ in sub-groups of patients with prodromal and overt dementia with Lewy bodies (DLB) as a function of relevant clinical symptoms.

We extracted clinical, demographic and rsEEG datasets in matched DLB patients (N = 60) and control Alzheimer's disease (AD, N = 60) and healthy elderly (Nold, N = 60) seniors from our international database. The eLORETA freeware was used to estimate cortical rsEEG sources.

As compared to the Nold group, the DLB and AD groups generally exhibited greater spatially distributed delta source activities (DLB > AD) and lower alpha source activities posteriorly (AD > DLB). As compared to the DLB "controls", the DLB patients with (1) rapid eye movement (REM) sleep behavior disorders showed lower central alpha source activities ($p < 0.005$); (2) greater cognitive deficits exhibited higher parietal and central theta source activities as well as higher central, parietal, and occipital alpha source activities ($p < 0.01$); (3) visual hallucinations pointed to greater parietal delta source activities ($p < 0.005$).

Relevant clinical features were associated with abnormalities in spatial and frequency features of rsEEG source activities in DLB patients.

Those features may be used as neurophysiological surrogate endpoints of clinical symptoms in DLB patients in future cross-validation prospective studies.

Babiloni C, Noce G, Di Bonaventura C, Lizio R, Pascarelli MT, Tucci F, Soricelli A, Ferri R, Nobili F, Famà F, Palma E, Cifelli P, Marizzoni M, Stocchi F, Frisoni GB, Del Percio C.
Abnormalities of cortical sources of resting state delta electroencephalographic rhythms are related to epileptiform activity in patients with amnesic mild cognitive impairment not due to Alzheimer's disease.
Front Neurol. 2020 Oct 23;11:514136.

Warren Olanow C, Espay AJ, Stocchi F, Ellenbogen AL, Leinonen M, Adar L, Case RJ, Orenbach SF, Yardeni T, Oren S, Poewe W; 006 study group.
Continuous subcutaneous levodopa delivery for Parkinson's Disease: a randomized study.
J Parkinsons Dis. 2020 Nov 4. doi: 10.3233/JPD-202285. Epub ahead of print.

In the present exploratory and retrospective study, we hypothesized that cortical sources of resting state eyes-closed electroencephalographic (rsEEG) rhythms might be more abnormal in patients with epileptiform EEG activity (spike-sharp wave discharges, giant spikes) and amnesic mild cognitive impairment not due to Alzheimer's disease (noADMCI-EEA) than matched noADMCI patients without EEA (noADMCI-noEEA). Clinical, neuroimaging, neuropsychological, and rsEEG data in 32 noADMCI and 30 normal elderly (Nold) subjects were available in a national archive. Age, gender, and education were carefully matched among them. No subject had received a clinical diagnosis of epilepsy. Individual alpha frequency peak (IAF) was used to determine the delta, theta, and alpha frequency bands of rsEEG rhythms. Fixed beta and gamma bands were also considered. Regional rsEEG cortical sources were estimated by eLORETA freeware. Area under receiver operating characteristic (AUROC) curves indexed the accuracy of eLORETA solutions in the classification between noADMCI-EEA and noADMCI-noEEA individuals. As novel findings, EEA was observed in 41% of noADMCI patients. Furthermore, these noADMCI-EEA patients showed higher temporal delta source activities as compared to noADMCI-no EEA patients and Nold subjects. Those activities discriminated individuals of the two NoADMCI groups with an accuracy of about 70%. The significant percentage of noADMCI-EEA patients showing EEA and marked abnormalities in temporal rsEEG rhythms at delta frequencies suggest a substantial role of underlying neural hypersynchronization mechanisms in their brain dysfunctions.

Tinazzi M, Morgante F, Marcuzzo E, Erro R, Barone P, Ceravolo R, Mazzucchi S, Pilotto A, Padovani A, Romito LM, Eleopra R, Zappia M, Nicoletti A, Dallochio C, Arbasino C, Bono F, Pascarella A, Demartini B, Gambini O, Modugno N, Olivola E, Di Stefano V, Albanese A, Ferrazzano G, Tessitore A, Zibetti M, Calandra-Buonaura G, Petracca M, Esposito M, Pisani A, Manganotti P, Stocchi F, Coletti Moja M, Antonini A, Defazio G, Geroin C.
Clinical correlates of functional motor disorders: an Italian Multicenter Study.
Mov Disord Clin Pract. 2020 Sep 22;7(8):920-929.

Functional motor disorders (FMDs) are abnormal movements that are significantly altered by distractive maneuvers and are incongruent with movement disorders seen in typical neurological diseases. The objectives of this article are to (1) describe the clinical manifestations of FMDs, including nonmotor symptoms and occurrence of other functional neurological disorders (FND); and (2) to report the frequency of isolated and combined FMDs and their relationship with demographic and clinical variables. For this multicenter, observational study, we enrolled consecutive outpatients with a definite diagnosis of FMDs attending 25 tertiary movement disorders centers in Italy. Each patient underwent a detailed clinical evaluation with a definition of the phenotype and number of FMDs (isolated, combined) and an assessment of associated neurological and psychiatric symptoms. Of 410 FMDs (71% females; mean age, 47 ± 16.1 years) the most common phenotypes were weakness and tremor. People with FMDs had higher educational levels than the general population and frequent nonmotor symptoms, especially anxiety, fatigue, and pain. Almost half of the patients with FMDs had other FNDs, such as sensory symptoms, nonepileptic seizures, and visual symptoms. Patients with combined FMDs showed a higher burden of nonmotor symptoms and more frequent FNDs. Multivariate regression analysis showed that a diagnosis of combined FMDs was more likely to be delivered by a movement disorders neurologist. Also, FMD duration, pain, insomnia, diagnosis of somatoform disease, and treatment with antipsychotics were all significantly associated with combined FMDs.

Our findings highlight the need for multidimensional assessments in patients with FMDs given the high frequency of nonmotor symptoms and other FNDs, especially in patients with combined FMDs.

Babiloni C, Ferri R, Noce G, Lizio R, Lopez S, Lorenzo I, Panzavolta A, Soricelli A, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Orzi F, Buttinelli C, Giubilei F, Cipollini V, Marizzoni M, Güntekin B, Aktürk T, Hanoğlu L, Yener G, Özbek Y, Stocchi F, Vacca L, Frisoni GB, Del Percio C.

Abnormalities of cortical sources of resting state Alpha electroencephalographic rhythms are related to education attainment in cognitively unimpaired seniors and patients with Alzheimer's Disease and amnesic mild cognitive impairment.

Cereb Cortex. 2020 Nov 30:bhaa356. Epub ahead of print.

In normal old (Nold) and Alzheimer's disease (AD) persons, a high cognitive reserve (CR) makes them more resistant and resilient to brain neuropathology and neurodegeneration. Here, we tested whether these effects may affect neurophysiological oscillatory mechanisms generating dominant resting state electroencephalographic (rsEEG) alpha rhythms in Nold and patients with mild cognitive impairment (MCI) due to AD (ADMCI). Data in 60 Nold and 70 ADMCI participants, stratified in higher (Edu+) and lower (Edu-) educational attainment subgroups, were available in an Italian-Turkish archive. The subgroups were matched for age, gender, and education. RsEEG cortical sources were estimated by eLORETA freeware. As compared to the Nold-Edu- subgroup, the Nold-Edu+ subgroup showed greater alpha source activations topographically widespread. On the contrary, in relation to the ADMCI-Edu- subgroup, the ADMCI-Edu+ subgroup displayed lower alpha source activations topographically widespread. Furthermore, the 2 ADMCI subgroups had matched cerebrospinal AD diagnostic biomarkers, brain gray-white matter measures, and neuropsychological scores. The current findings suggest that a high CR may be related to changes in rsEEG alpha rhythms in Nold and ADMCI persons. These changes may underlie neuroprotective effects in Nold seniors and subtend functional compensatory mechanisms unrelated to brain structure alterations in ADMCI patients.

Lopez S, Del Percio C, Forloni G, Frasca A, Drinkenburg WH, Lizio R, Noce G, Ferri R, Soricelli A, Stocchi F, Vacca L, Bordet R, Richardson JC, Babiloni C.

Chronic BACE-1 inhibitor administration in TASTPM Mice (APP KM670/671NL and PSEN1 M146V Mutation): An EEG study.

Int J Mol Sci. 2020 Nov 28;21(23):E9072.

In this exploratory study, we tested whether electroencephalographic (EEG) rhythms may reflect the effects of a chronic administration (4 weeks) of an anti-amyloid β -site amyloid precursor protein (APP) cleaving enzyme 1 inhibitor (BACE-1; ER-901356; Eisai Co., Ltd., Tokyo, Japan) in TASTPM (double mutation in APP KM670/671NL and PSEN1 M146V) producing Alzheimer's disease (AD) amyloid neuropathology as compared to wild type (WT) mice.

Ongoing EEG rhythms were recorded from a bipolar frontoparietal and two monopolar frontomedial (prelimbic) and hippocampal channels in 11 WT Vehicle, 10 WT BACE-1, 10 TASTPM Vehicle, and 11 TASTPM BACE-1 mice (males; aged 8/9 months old at the beginning of treatment). Normalized EEG power (density) was compared between the first day (Day 0) and after 4 weeks (Week 4) of the BACE-1 inhibitor (10 mg/Kg) or vehicle administration in the 4 mouse groups. Frequency and magnitude of individual EEG delta and theta frequency peaks (IDF and ITF) were considered during animal conditions of behaviorally passive and active wakefulness. Cognitive status was not tested.

Compared with the WT group, the TASTPM group generally showed a significantly lower reactivity in frontoparietal ITF power during the active over the passive condition ($p < 0.05$). Notably, there was no other statistically significant effect (e.g., additional electrodes, recording time, and BACE-1 inhibitor).

The above EEG biomarkers reflected differences between the WT and TASTPM groups, but no BACE-1 inhibitor effect. The results suggest an enhanced experimental design with the use of younger mice, longer drug administrations, an effective control drug, and neuropathological amyloid markers.

Torti M, Fossati C, Casali M, De Pandis MF, Grassini P, Radicati FG, Stirpe P, Vacca L, Iavicoli I, Leso V, Ceppi M, Bruzzone M, Bonassi S, Stocchi F.

Effect of family history, occupation and diet on the risk of Parkinson disease: A case-control study. PLoS One. 2020 Dec 17;15(12):e0243612.

The aetiology of Parkinson's disease (PD) is still very controversial, with a peculiar lack of established risk factors or protective behavior.

We carried out a case-control study of 634 idiopathic PD patients admitted from 2011 to 2015 to two hospitals located in central Italy and 532 controls matched by hospital, gender and age (± 5 years). The study questionnaire included questions on host factors, family history, residence, occupation and lifestyle. Odds ratios (ORs) for PD and 95% confidence intervals (CIs) were estimated with logistic regression, adjusting for actual and potential confounders.

A lower OR was observed in females (0.74; 95%CI:0.58-0.96), while older age classes showed a constantly increased risk for PD ($p < 0.005$) starting from the class 65-69 years. Subjects who reported a first degree relative affected by PD showed a borderline increase which was more evident in those enrolled in the urban center of Rome (OR = 1.65; 95%CI: 1.09-2.50). Significant reduction of the risk was associated to current smoking (OR = 0.48; 95%CI: 0.24-0.54), and to vegetables consumption ($p < 0.03$), while borderline increases were associated to meat and cold cut consumption. Occupational activities classified according to ISCO-08 categories did not show increased risk, while higher ORs' were found for pilots and physicians.

The results from this study confirmed the higher risk of PD in males and in elderly, and the inverse association with smoking habit. The possible etiological role of familial clustering, dietary habit, and some job tasks is suggested.

Tinazzi M, Geroi C, Erro R, Marcuzzo E, Cuoco S, Ceravolo R, Mazzucchi S, Pilotto A, Padovani A, Michele Romito L, Eleopra R, Zappia M, Nicoletti A, Dallochio C, Arbasino C, Bono F, Pascarella A, Demartini B, Gambini O, Modugno N, Olivola E, Bonanni L, Antelmi E, Zanolin E, Albanese A, Ferrazzano G, de Micco R, Lopiano L, Calandra-Buonaura G, Petracca M, Esposito M, Pisani A, Manganotti P, Stocchi F, Coletti Moja M, Antonini A, Ercoli T, Morgante F.

Functional motor disorders associated with other neurological diseases: beyond the boundaries of "organic" neurology.

Eur J Neurol. 2020 Dec 9. Epub ahead of print.

The aims of this study were to describe the clinical manifestations of functional motor disorders (FMDs) coexisting with other neurological diseases ("comorbid FMDs"), and to compare comorbid FMDs with FMDs not overlapping with other neurological diseases ("pure FMDs").

For this multicenter observational study, we enrolled outpatients with a definite FMD diagnosis attending 25 tertiary movement disorder centers in Italy. Each patient with FMDs underwent a detailed clinical assessment including screening for other associated neurological conditions. Group comparisons (comorbid FMDs vs. pure FMDs) were performed in order to compare demographic and clinical variables. Logistic regression models were created to estimate the adjusted odds ratios (95% confidence intervals) of comorbid FMDs (dependent variable) in relation to sociodemographic and clinical characteristics (independent variables).

Out of 410 FMDs, 21.7% of patients ($n = 89$) had comorbid FMDs. The most frequent coexisting neurological diseases were migraine, cerebrovascular disease and parkinsonism. In the majority of cases (86.5%), FMDs appeared after the diagnosis of a neurological disease. Patients with comorbid FMDs were older, and more frequently had tremor, non-neurological comorbidities, paroxysmal non-epileptic seizures, major depressive disorders, and benzodiazepine intake. Multivariate regression analysis showed that diagnosis of comorbid FMDs was more likely associated with longer time lag until the final diagnosis of FMD, presence of tremor and non-neurological comorbidities.

Our findings highlight the need for prompt diagnosis of FMDs, given the relatively high frequency of associated neurological and non-neurological diseases.

Paolucci T, Bernetti A, Paoloni M, Capobianco SV, Bai AV, Lai C, Pierro L, Rotundi M, Damiani C, Santilli V, Agostini F, Mangone M.

Therapeutic alliance in a single versus group rehabilitative setting after breast cancer surgery: psychological profile and performance rehabilitation.

The survival rate of women after breast cancer has improved significantly worldwide. More attention should be paid to the rehabilitation intervention after surgery. Cancer rehabilitation helps breast cancer survivors maintain the highest possible physical, social, psychological, and vocational function in the limits that are imposed by the cancer and its treatments. The aim of our research was to determine the rehabilitative setting that promotes greater efficacy of the rehabilitation. A double-blind, randomized controlled trial with 45 patients enrolled was conducted. All participants were randomized into two groups: single rehabilitative training (N = 22) and group rehabilitative training (N = 23). Outcomes were assessed for each group before treatment (T0), after first 6 weeks of rehabilitative treatment (T1), and after 3 months (T2). All patients underwent the same rehabilitation treatment, but the setting differed between single and group rehabilitative training, which included four to five patients each and evaluated using Minnesota Multiphasic Personality Inventory (MMPI-2), Working Alliance Inventory Patient form (WAIP), Disabilities of Arm, Shoulder and Hand Questionnaire (DASH), and visual analog scale (VAS). Two patients dropped out in the single treatment group. In the within-group analysis at the three evaluation times, on the VAS, a significant reduction in pain was reported and maintained at the follow-up, as was observed for the DASH and WAIP scales. In the between-group analysis WAIP and Bond scale scores differed significantly in favor of the single treatment. In the group treatment, the Psychopathic Deviate, Masculine/Feminine, and Social Discomfort scales of the MMPI-2 correlated with WAIP Tot at T1. There was an association between the Correction, Hysteria, Paranoid, and Schizophrenia MMPI-2 scales and Δ VAS T0T1 in the total sample. Proposing the same rehabilitative intervention in both breast cancer groups, our results showed significant reduction in pain and good functional recovery of the upper limb, which did not depend on the setting (single or group). However, with single rehabilitation treatment, patients developed a better therapeutic alliance and experienced a more comfortable environment.

Pellicciari L, Agosti M, Goffredo M, Pournajaf S, Le Pera D, De Pisi F, Franceschini M, Damiani C.

Factors influencing the functional outcome at discharge: a retrospective study on a large sample of patients admitted to an intensive rehabilitation unit.

Am J Phys Med Rehabil. 2020 Aug 31. Epub ahead of print.

Functional outcome represents the most central objective of rehabilitation programs. Understanding which factors could affect functional status at discharge is crucial for the planning of appropriate treatments in both neurological and orthopedic patients. The aim of this study was to investigate which clinical and demographic variables, collected at the patient's admission, could influence the functional outcome, assessed by the modified Barthel Index (mBI), at discharge.

A retrospective study was conducted on a large cohort (n=3,548) of orthopedic and neurological patients. Functional, demographic and clinical records at patient admission and the mBI score at discharge were collected. General linear model analysis was performed to assess the influence of these variables on functional outcome at discharge.

The results reported a significant effect of mBI at admission (p-value<0.0001), age (p-value<0.0001) and time from the acute event (p-value<0.0001) on mBI at discharge. Moreover, the disease type (neurological or orthopedic) adjusted by gender (male or female) and presence of different impairments (cognitive and behavioral impairments) and complications (hypertension and cardiovascular diseases) significantly influenced the mBI at discharge (p-value<0.05) (R=0.497). No significant interactions between other factors were found (p-value>0.05).

Several prognostic factors should be considered when planning an appropriate tailored rehabilitation program.

Gimigliano F, Liguori S, Moretti A, Toro G, Rauch A, Negrini S; other members of the Technical Working Group, Curci C, Patrini M, Peschi L, Pournajaf S, Sgarbanti M, Iolascon G. *Systematic review of clinical practice guidelines for adults with fractures: identification of best evidence for rehabilitation to develop the WHO's Package of Interventions for Rehabilitation.*

J Orthop Traumatol. 2020 Nov 14;21(1):20.

The identification of existing rehabilitation interventions and related evidence represents a crucial step along the development of the World Health Organization's (WHO) Package of Interventions for Rehabilitation (PIR). The methods for such identification have been developed by the WHO Rehabilitation Programme and Cochrane Rehabilitation under the guidance of the WHO's Guideline Review Committee secretariat. The aim of this paper is to report on the results of the systematic search for clinical practice guidelines (CPGs) relevant to the rehabilitation of adults with fractures and to present the current state of evidence available from the identified CPGs.

This paper is part of the Best Evidence for Rehabilitation (be4rehab) series, developed according to the methodology presented in the World Health Organization's (WHO) Package of Interventions for Rehabilitation (PIR) introductory paper. It is a systematic review of existing CPGs on fractures in adult population published from 2009 to 2019.

We identified 23 relevant CPGs after title and abstract screening. According to inclusion/exclusion criteria, we selected 13 CPGs. After checking for quality, publication time, multiprofessionality, and comprehensiveness, we finally included five CPGs dealing with rehabilitative management of fractures in adult population, two CPGs addressing treatment of distal radius fracture and three the treatment of femoral/hip fracture.

The selected CPGs on management of distal radius and femoral/hip fracture include few recommendations regarding rehabilitation, with overall low to very low quality of evidence and weak/conditional strength of recommendation. Moreover, several gaps in specific rehabilitative topics occur. Further high-quality trials are required to upgrade the quality of the available evidence.

Lombardi M, D'Ascanio M, Scarpino S, Scozzi D, Giordano M, Costarelli L, Raj ER, Mancini R, Cardillo G, Cardaci V, Innammorato M, Vecchione A, Ricci A.

Full-Length TrkB variant in NSCLC is associated with brain metastasis.

Biomed Res Int. 2020 Nov 17;2020:4193541.

Despite remarkable therapeutic advances have been made in the last few decades, non-small cell lung cancer (NSCLC) is still one of the leading causes of death worldwide. Brain metastases are a common complication of a wide range of human malignancies and in particular NSCLC. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), binding its high-affinity tyrosine kinase B receptor, has been shown to promote cancer progression and metastasis. We hereby investigated the expression of the BDNF and its TrkB receptor in its full-length and truncated isoform T1, in samples from primary adenocarcinomas (ADKs) of the lung and in their metastasis to evaluate if their expression was related to preferential tumor entry into the central nervous system (CNS). By immunohistochemistry, 80% of the ADKs that metastasize to central nervous system expressed TrkB receptor compared to 33% expressing of ADKs without CNS metastasis. Moreover, ADKs with CNS metastasis showed an elevated expression of the full-length TrkB receptor. The TrkB receptor FL/T1 ratio was statistically higher in primary ADKs with brain metastasis compared to ADKs without brain metastasis. Our data indicate that TrkB full-length isoform expression in primary ADK cells may be associated with higher risk to develop brain metastasis. Therefore, TrkB receptor may possess prognostic and therapeutic implications in lung ADK.

Brindisino F, Pellicciari L, Lorusso M, Pennella D, Padua R, Di Bari M.

Cross-cultural adaptation, reliability, and validity of the Italian version of the Shoulder Disability Questionnaire.

Musculoskelet Sci Pract. 2020 Apr; 46:102123.

The Shoulder Disability Questionnaire (SDQ) demonstrated promising psychometric properties, but currently there is no evidence of an Italian version.

The aim of the study is to cross-culturally adapt the Italian version of the SDQ (SDQ-I) and to explore its psychometric properties in patients with non-specific shoulder pain (SP).

The SDQ-I was translated according to international guidelines and administered to 105 patients with SP. The SDQ-I scores were compared with Disabilities of the Arm, Shoulder, and Hand Questionnaire (DASH), Numerical Pain Rating Scale (NPRS), and 36-item Short Form Health Survey (SF-36). Structural validity (Exploratory Factor Analysis [EFA]), internal consistency (Cronbach's alpha), test-retest reliability (Intraclass Correlation Coefficient [ICC]), measurement error (Standard Error of the

Measurement [SEM], Minimal Detectable Change [MDC]), and construct validity (hypothesis testing with correlation of the DASH, NPRS, and SF-36) were explored.

The EFA identified two subscales (activity and participation-psychosocial factors). The internal consistency was supported for activity ($\alpha = 0.78$), but not for participation-psychosocial subscales ($\alpha = 0.45$). Both subscales demonstrated high test-retest reliability (ICC = 0.97 [95%CI = 0.96-0.98] and ICC = 0.95 [95%CI = 0.93-0.97]), a SEM of 5.8% and 7.0%, and a MDC of 15% and 19% for the first and second subscale, respectively. Construct validity was satisfactory, as >75% of the expected correlations were met for each subscale.

The SDQ-I was successfully cross-cultural adapted into Italian and proved to be valid for patients with non-specific SP, but its reliability should be further assessed, as internal consistency of the participation-psychosocial subscale showed some psychometric flaws. Further research is needed to refine the instrument.

Basagni B, Piscitelli D, De Tanti A, Pellicciari L, Algeri L, Caselli S, Formisano R, Conforti J, Estraneo A, Moretta P, Gambini MG, Inzaghi MG, Lamberti G, Mancuso M, Quinquino C, Sozzi M, Abbruzzese L, Zettin M, La Porta F.

The unidimensionality of the five Brain Injury Rehabilitation Trust Personality Questionnaires (BIRT-PQs) may be improved: preliminary evidence from classical psychometrics.

Brain Inj. 2020 Apr 15;34(5):673-684. Epub 2020 Mar 4.

To assess the internal construct validity (ICV) of the five Brain Injury Rehabilitation Trust Personality Questionnaires (BIRT-PQ) with Classical Test Theory methods. Methods: Multicenter cross-sectional study involving 11 Italian rehabilitation centers. BIRT-PQs were administered to patients with severe Acquired Brain Injury and their respective caregivers. ICV was assessed by the mean of an internal consistency analysis (ICA) and a Confirmatory Factor Analysis (CFA). Data from 154 patients and their respective caregivers were pooled, giving a total sample of 308 subjects. Despite good overall values (alphas ranging from 0.811 to 0.937), the ICA revealed that several items within each scale did not contribute as expected to the total score. This result was confirmed by the CFA, which showed the misfit of the data to a unidimensional model (RMSEA ranging from 0.077 to 0.097). However, after accounting for local dependency found within the data, fitness to a unidimensional model improved significantly (RMSEA ranging from 0.050 to 0.062). Despite some limitations, our analyses demonstrated the lack of ICV for the BIRT-PQ total scores. It is envisaged that a more comprehensive ICV analysis will be performed with Rasch analysis, aiming to improve both the measurement properties and the administrative burden of each BIRT-PQ.

Brindisino F, Ristori D, Lorusso M, Miele S, Pellicciari L, Rossettini G, Bonetti F, Heick JD, Testa M.

Subacromial impingement syndrome: a survey of Italian physiotherapists and orthopaedics on diagnostic strategies and management modalities.

Arch Physiother. 2020 Sep 2;10:16.

The subacromial impingement syndrome (SIS) represents a common cause of disability in approximately 74% of patients with Shoulder Pain (SP). Even if contemporary research suggests that this mechanism is not (always) the dominant driver in SP, SIS is still a source of debate among scholars and clinicians. From a clinical point of view, evidence has suggested that clinicians can use both medical and physiotherapy approaches as effective methods to treat SIS. This survey aims to investigate models of management of patients with SIS in a sample of Italian physiotherapist specialists (Orthopaedic Manipulative Physical Therapists, -OMPTs-) and orthopaedic surgeons.

An online survey with 29-item questionnaire was administered to assess the knowledge of OMPTs and orthopaedic surgeons about: a) strategies of clinical examination; b) the role of imaging in the diagnostic process; c) the physiotherapy management; and d) the pharmacological and surgical management in patients with SIS.

Six-hundred and twenty-nine respondents completed the survey (511 OMPTs (79.97%) and 128 orthopaedic surgeons (20.03%)). Ninety-two percent (n = 470) of the OMPTs and 80.5% (n = 103) of orthopaedic surgeons stated that in patients with SIS, a combination of diagnostic tests produced better accuracy ($p < 0.001$). Twenty point seven % of OMPTs (n = 106) and 4.7% of orthopaedic surgeon (n =

6) stated that the Lift off was the most specific test ($p = < 0.001$). Four-hundred-and-twenty-four OMPTs (83%) and 40 orthopaedic surgeons (31.3%) answered that the gold standard for diagnosis of a patient with SIS are history and clinical examination ($p < 0.001$).

OMPTs and orthopaedic surgeons approach patients with SIS differently during both the assessment and the treatment. OMPTs appear to be appropriate in planning and managing clinical examination and therapeutic strategies to use with patients with SIS.

Infarinato F, Jansen-Kosterink S, Romano P, van Velsen L, Op den Akker H, Rizza F, Ottaviani M, Kyriazakos S, Wais-Zechmann B, Garschall M, Bonassi S, Hermens HJ.

Acceptance and potential impact of the eWALL platform for health monitoring and promotion in persons with a chronic disease or age-related impairment.

Int J Environ Res Public Health. 2020 Oct 28;17(21):E7893.

Pervasive health technologies can increase the effectiveness of personal health monitoring and training, but more user studies are necessary to understand the interest for these technologies, and how they should be designed and implemented. In the present study, we evaluated eWALL, a user-centered pervasive health technology consisting of a platform that monitors users' physical and cognitive behavior, providing feedback and motivation via an easy-to-use, touch-based user interface. The eWALL was placed for one month in the home of 48 subjects with a chronic condition (chronic obstructive pulmonary disease-COPD or mild cognitive impairment-MCI) or with an age-related impairment. User acceptance, platform use, and potential clinical effects were evaluated using surveys, data logs, and clinical scales. Although some features of the platform need to be improved before reaching technical maturity and making a difference in patients' lives, the real-life evaluation of eWALL has shown how some features may influence patients' intention to use this promising technology. Furthermore, this study made it clear how the free use of different health apps is modulated by the real needs of the patient and by their usefulness in the context of the patient's clinical status.

Goffredo M, Infarinato F, Pournajaf S, Romano P, Ottaviani M, Pellicciari L, Galafate D, Gabbani D, Gison A, Franceschini M.

Barriers to sEMG assessment during overground robot-assisted gait training in subacute stroke patients.

Front Neurol. 2020 Oct 19;11:564067.

The limitation to the use of ElectroMyoGraphy (sEMG) in rehabilitation services is in contrast with its potential diagnostic capacity for rational planning and monitoring of the rehabilitation treatments, especially the overground Robot-Assisted Gait Training (o-RAGT). To assess the barriers to the implementation of a sEMG-based assessment protocol in a clinical context for evaluating the effects of o-RAGT in subacute stroke patients. An observational study was conducted in a rehabilitation hospital. The primary outcome was the success rate of the implementation of the sEMG-based assessment. The number of dropouts and the motivations have been registered. A detailed report on difficulties in implementing the sEMG protocol has been edited for each patient. The educational level and the working status of the staff have been registered. Each member of staff completed a brief survey indicating their level of knowledge of sEMG, using a five-point Likert scale. The sEMG protocol was carried out by a multidisciplinary team composed of Physical Therapists (PTs) and Biomedical Engineers (BEs). Indeed, the educational level and the expertise of the members of staff influenced the fulfillment of the implementation of the study. The PTs involved in the study did not receive any formal education on sEMG during their course of study. The low success rate (22.7%) of the protocol was caused by several factors which could be grouped in: patient-related barriers; cultural barriers; technical barriers; and administrative barriers. Since a series of barriers limited the use of sEMG in the clinical rehabilitative environment, concrete actions are needed for disseminating sEMG in rehabilitation services. The sEMG assessment should be included in health systems regulations and specific education should be part of the rehabilitation professionals' curriculum.

Seccia R, Boresta M, Fusco F, Tronci E, Di Gemma E, Palagi L, Mangone M, Agostini F, Bernetti A, Santilli V, Damiani C, Goffredo M, Franceschini M.

Data of patients undergoing rehabilitation programs.

In this data article, we present a dataset made up of personal, social and clinical records related to patients undergoing a rehabilitation program. Data refers to records registered in the "Acceptance/Discharge Report for the rehabilitation area" (ADR) which implements the Italian law (DGR 731/2005) and refer to hospitalization at the rehabilitation hospital of Rome "San Raffaele" in the years from 2015 to 2018 of patients suffering from orthopedic and neurological pathologies. For each ADR report, the clinical status of the patient at the date of acceptance and discharge is reported using, among other, the Barthel index as a measure of the Activities Daily Living of the patient. These data can be used to understand the influence of many different factors in the rehabilitation progress of clinical patients.

Franceschini M, Bonavita J, Cecconi L, Ferro S, Pagliacci MC; Italian SCI Study Group.
Traumatic spinal cord injury in Italy 20 years later: current epidemiological trend and early predictors of rehabilitation outcome.
Spinal Cord. 2020 Jan 29. [Epub ahead of print]

Multicenter prospective observational study of people with acute traumatic spinal cord injury (TSCI) admitted to rehabilitation.

To update epidemiological characteristics of a TSCI Italian population and verify the impact of patient characteristics at admission on two outcomes: functional gain (SCIM III) and discharge destination.

Thirty-one SCI centers for comprehensive rehabilitation in 13 Italian regions.

All consecutive individuals admitted with acute TSCI were enrolled from October 1, 2013 to September 30, 2014; data were recorded on rehabilitation admission and discharge. Functional gain and discharge destination were identified as outcome measures and statistically analyzed with patient characteristics at admission to identify early outcome predictors.

Five hundred and ten individuals with TSCI met inclusion criteria; falls represented the most frequent etiology (45%). On admission, AIS A-B-C tetraplegia was reported in 35% of cases; AIS A-B-C paraplegia in 40%; AIS D paraplegia/tetraplegia in 25%. The majority were discharged home (72%). The mean (SD) SCIM gain was 38 ± 26 points. A predictive model was found for discharge setting: individuals with fall-related injuries, severe SCI (AIS A-B-C tetraplegia), tracheal cannula or indwelling catheter on admission, were less likely to be discharged home (OR 95% CI 0.15 [0.06, 0.35]). A model with a lower predictive power was found for SCIM gain, with lower score expected for females, older age, higher severity of SCI, a longer onset of injury admission interval (OAI), and mechanical ventilation on admission.

Prognostic factors in early rehabilitation are still hard to identify, making it difficult to correctly approach customized rehabilitation.

Franceschini M, Mazzoleni S, Goffredo M, Pournajaf S, Galafate D, Criscuolo S, Agosti M, Posteraro F.

Upper limb robot-assisted rehabilitation versus physical therapy on subacute stroke patients: A follow-up study.

J Bodyw Mov Ther. 2020 Jan;24(1):194-198.

This study aims to analyse the long-term effects (6 months follow-up) of upper limb Robot-assisted Therapy (RT) compared to Traditional physical Therapy (TT), in subacute stroke patients. Although the literature on upper-limb rehabilitation with robots shows increasing evidence of its effectiveness in stroke survivors, the length of time for which the re-learned motor abilities could be maintained is still understudied. A randomized controlled follow-up study was conducted on 48 subacute stroke patients who performed the upper-limb therapy using a planar end-effector robotic system (Experimental Group-EG) or TT (Control Group-CG). The clinical assessments were collected at T0 (baseline), T1 (end of treatment) and T2 (6 months follow-up): Upper Limb part of Fugl-Meyer assessment (FM-UL), total passive Range Of Motion (pROM), Modified Ashworth Scale Shoulder (MAS-S) and Elbow (MAS-E). At T1, the intra-group analysis showed significant gain of FM-UL in both EG and CG, while significant improvement in MAS-S, MAS-E, and pROM were found in the EG only. At T2, significant increase in MAS-S were revealed only in the CG. In FM-UL, pROM and MAS-E the improvements obtained at the end of treatment seem to be maintained at 6 months follow-up in both groups. The inter-groups analysis

of FM-UL values at T1 and T2 demonstrated significant differences in favour of EG. In conclusion, upper limb Robot-assisted Therapy may lead a greater reduction of motor impairment in subacute stroke patients compared to Traditional Therapy. The gains observed at the end of treatment persisted over time. No serious adverse events related to the study occurred.

Galafate D, Pournajaf S, Condoluci C, Goffredo M, Di Girolamo G, Manzia CM, Pellicciari L, Franceschini M, Galli M.

Bilateral foot orthoses elicit changes in gait kinematics of adolescents with Down Syndrome with flatfoot.

Int J Environ Res Public Health. 2020 Jul 11;17(14):4994.

Subjects with Down Syndrome (DS) are characterized by specific physiological alterations, including musculoskeletal abnormalities. Flat Foot (FF), caused by hypotonia and ligament laxity, represents one of the most common disabling disorders in this population. Conservative treatments promote the use of orthopaedic insoles and plantar supports. The aim of this study was to evaluate the impact of Foot Orthoses (FOs) on the gait pattern of subjects with DS, assessing the biomechanical effects associated with their use. Methods: Twenty-nine subjects were screened under two conditions-walking barefoot (WB); with shoes and insoles (WSI), during three trials for each. Assessments were performed through the 3D gait analysis, using an optoelectronic system, force platforms, and video recording. Specifically, synthetic indices of gait kinematics, i.e., gait profile score (GPS) and gait variable score (GVS) were calculated and compared with Wilcoxon signed-rank test, to evaluate between-conditions. Significant variations were found in GVS foot progression index, representative of foot rotation during walking, in adolescents only. Bilateral FOs has a positive immediate impact on gait quality in adolescents with DS, as confirmed by quantitative analysis. FOs prescription is an evidence-based early approach to slow down biomechanical abnormalities and prevent relative symptoms.

LINEA 3

Innovazione in medicina e riabilitazione

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

La riabilitazione con Realtà Virtuale Khymeia in pazienti con sostituzione totale di ginocchio: valutazione clinica e strumentale

Il deficit propriocettivo potrebbe rappresentare un fattore peggiorativo per quanto concerne la deambulazione dei pazienti con gonartrosi, anche dopo sostituzione protesica totale. Recenti studi sull'utilizzo della Realtà Virtuale (RV) in riabilitazione, mostrano la sua efficacia nel recupero delle abilità propriocettive, del controllo posturale e del cammino. La letteratura è oggi carente di tali studi su pazienti con protesi totale di ginocchio (PTG).

La Realtà Virtuale potrebbe intensificare un training propriocettivo e dell'equilibrio nei pazienti con la PTG comportando un miglioramento di gestione del cammino.

Lo studio intende:

1. Osservare differenze nella ripartizione del carico bi-podalico nel gruppo che esegue una rieducazione con RV rispetto a chi esegue il trattamento tradizionale.
2. Osservare differenze nei tempi di recupero di una deambulazione corretta nel gruppo che esegue una rieducazione con RV rispetto a chi esegue un trattamento tradizionale.
3. Osservare differenze nei pattern neurofisiologici nei due gruppi.

Ci si aspetta che la riabilitazione attraverso il sistema di Realtà Virtuale possa velocizzare i tempi di recupero nei pazienti con PTG e quindi minimizzare i tempi di ospedalizzazione con gli stessi risultati che si possano ottenere da una riabilitazione di tipo tradizionale.

Il Virtual Reality Rehabilitation System (VRRS- Khymeia s.r.l. Italia) è un sistema di RV innovativo ed interattivo da poter utilizzare in diversi ambiti per la riabilitazione neuro-motoria sia in pediatria che nei pazienti adulti con la possibilità di avere dati oggettivi sull'andamento del recupero di equilibrio e della performance motoria. Questo sistema potrebbe essere utilizzato per la continuità assistenziale come uno strumento di teleriabilitazione.

E' stato condotto uno studio clinico randomizzato controllato su 56 soggetti con PTG unilaterale che sono stati assegnati in modo randomizzato al gruppo di realtà virtuale (VRG) o al gruppo di controllo (CG), eseguendo 15 sessioni (45 minuti; 5 volte a settimana) di riabilitazione basata su VRRS o di tipo convenzionale, rispettivamente. L'outcome primario è la mobilità funzionale, misurata dal test Timed Up and Go; outcome secondari erano la velocità di deambulazione, l'intensità del dolore, la forza muscolare degli arti inferiori, l'indipendenza nelle attività della vita quotidiana, la gait analysis e la posturografia. Tali outcome sono stati valutati alla baseline (T1) e alla fine del trattamento (T2).

Differenze significative tra T1 e T2 sono state trovate in tutti gli outcome clinici e in un sottoinsieme dei parametri di gait ($p < 0,0001$) e posturali ($p \leq 0,05$). L'analisi statistica ha rivelato che VRT e CG sono migliorati nella mobilità funzionale, misurata dalla TUG (VRT(T1)=25.54±9.37; VRT(T2)=12.85±3.87; CG(T1)=23.61±11.11; CG(T2)=13.76±5.75; $p < 0,0001$), ma non è stata trovata alcuna differenza tra i due gruppi ($p = 0,235$). I risultati sulla velocità massima di deambulazione (10MWT: VRT(T1)=17.07±6.08; VRT(T2)=10.03±3.09; CG(T1)=18.19±7.57; CG(T2)=10.63±3.80), dolore (VAS: VRT(T1)=5.26±2.13; VRT(T2)=2.69±1.84; CG(T1)=5.78±1.65; CG(T2)=3.80±2.10), forza muscolare degli arti inferiori (MRC) e disabilità (mBI: VRT(T1)=43.45±5.33; VRT(T2)=94.95±5.66; CG(T1)=43.73±4.91; CG(T2)=95.39±2.77) hanno mostrato differenze significative solo all'interno del gruppo ($p < 0,0001$). Nessuna differenza significativa tra i gruppi è stata registrata negli altri outcome. Nei parametri spazio-temporali del cammino, differenze significative all'interno del gruppo sono state registrate nei seguenti parametri: durata del ciclo del passo, % stance, % swing, % singolo appoggio, % doppio appoggio, velocità media e cadenza. I parametri posturografici hanno rivelato differenze significative all'interno del gruppo nel range longitudinale del CoP e nel Rmax in condizioni OE, e nel range trasversale del CoP in condizioni CE. La simmetria del carico degli arti (ΔF) ha rivelato una significativa differenza all'interno del gruppo nelle condizioni AO e OC. Nessuno dei parametri posturografici ha registrato alcuna

differenza significativa tra i gruppi ($p > 0,05$). In conclusione, la riabilitazione basata sulla VR migliora gli outcome clinici, il cammino e la postura in modo simile alla terapia convenzionale. I pazienti che hanno condotto la riabilitazione basata sulla RV avevano una fase di appoggio della gait più fisiologica alla fine del trattamento, rispetto a quelli di controllo. La riabilitazione basata sulla RV può essere aggiunta ai trattamenti convenzionali nelle persone con PTG per intensificare il programma di riabilitazione.

La RV riduce i tempi di recupero delle capacità motorie (cammino, controllo posturale e cambio di direzione) nei pazienti con PTG rispetto alla terapia tradizionale. I risultati ottenuti sono incoraggianti e suggeriscono ulteriori indagini strumentali sulle attività di sit-to-stand e balance. Il sistema di realtà virtuale è un sistema innovativo che può permettere ai pazienti con PTG una continuità assistenziale.

Riabilitazione robotica attivo-assistita degli arti superiori ed inferiori in pazienti in trattamento riabilitativo con esiti neuromotori

La capacità motoria è essenziale per eseguire le attività della vita quotidiana (ADL) nonché per la partecipazione alle attività sociali (attività del tempo libero e lavoro). I disturbi motori riducono significativamente la qualità della vita di un paziente comportando un importante impatto sulle ADL, sulle attività del tempo libero e sul lavoro. I deficit neuro-motori degli arti superiori e inferiori, a seguito delle patologie neurologiche o ortopediche d'interesse riabilitativo, limitano specificamente l'autonomia dei soggetti affetti, richiedendo quindi cure continuative da parte di famiglie o servizi sociali e comportando un elevato costo per il SSN.

Oramai, nuove conoscenze sui processi di riorganizzazione funzionale che si verificano dopo una lesione cerebrale, sono confermate dalla neuroscienza e la neuro-plasticità è un concetto consolidato. Infatti, è stato mostrato che il recupero funzionale previene ulteriori perdite delle abilità residue e preserva la capacità di apprendimento di un task motorio [Tomassini et al. 2011]. L'esercizio motorio sembra svolgere un ruolo fondamentale nei processi di riorganizzazione neurale e indurre neuroplasticità e recupero motorio. In questo contesto, il tipo della pratica motoria ha un ruolo ancora più determinante. La neuroplasticità è esperienza-dipendente e per attivarsi richiede un training specifico, sufficientemente ripetitivo e intensivo e con una durata effettiva [Kleim and Jones 2008].

Negli ultimi anni la tecnologia si è diffusa in maniera esponenziale nell'area riabilitativa, proponendo un gran numero di sistemi e soluzioni di trattamento. Un aspetto di rilevante importanza nell'ambito della riabilitazione è rappresentato dalla possibilità di somministrare sessioni di allenamento standardizzate, misurabili, continue e ripetibili. Questi aspetti, infatti, consentono un esatto intervento dal punto di vista dell'intensità dell'azione riabilitativa e della costanza delle caratteristiche fisiche e operative dell'esercizio motorio. Inoltre, l'utilizzo di soluzioni robotiche, integrate in ambienti virtuali e interfacce computerizzate, si è dimostrato efficace nel recupero delle funzionalità motorie degli arti superiori e inferiori dopo un ictus, accelerando i tempi di recupero rispetto alla terapia convenzionale.

Gli strumenti di riabilitazione robotica, inoltre, permettono la valutazione oggettiva degli outcome del programma terapeutico fornendo marcatori biomeccanici e misurazioni oggettive delle prestazioni per pazienti in trattamento riabilitativo con esiti neuromotori. Questo produrrà un avanzamento delle conoscenze traslazionali e di base garantendo un'ottimizzazione della personalizzazione del piano riabilitativo individuale.

Il progetto si inserisce nel contesto della personalizzazione del trattamento riabilitativo del paziente e ha come obiettivo l'utilizzo di nuove tecnologie e nuovi metodi per la riabilitazione dei deficit neuro-motori di diverse patologie disabilitanti, sia neurologiche che ortopediche, al fine di massimizzare gli outcome clinici e minimizzare i tempi di recupero, nonché ritardare più possibile le fasi di grave disabilità nei soggetti con patologie croniche degenerative (quali la malattia di Parkinson, Sclerosi Multipla,..). Tale studio permetterà di offrire un trattamento riabilitativo mirato e personalizzabile attraverso nuove tecnologie robotiche (esoscheletri, robot

end-effector) in base allo stato neuro-motorio del paziente per l'ottimizzazione del progetto riabilitativo.

Questo progetto si pone come obiettivo l'utilizzo dei sistemi robotici innovativi che permettono il recupero motorio degli arti superiori e inferiori attraverso esercizi funzionali in modalità attiva/attiva-assistita. L'attività di ricerca clinica e biomedica con tali sistemi permetterà di:

1. implementare un programma riabilitativo innovativo che faccia uso di robotica personalizzata che possa essere applicata ai principali distretti motori;
2. valutare l'efficacia della terapia robotica con gli esoscheletri e gli end-effector sia per la riabilitazione degli arti superiori che degli arti inferiori;
3. monitorare il recupero motorio durante la terapia con l'obiettivo di personalizzare il trattamento ed ottimizzare l'utilizzo delle varie apparecchiature;
4. comprendere gli effetti della terapia riabilitativa con diversi tipi di sistemi (esoscheletri e end-effector) in base alle caratteristiche dei pazienti;
5. confrontare gli effetti dei vari sistemi robotici per la riabilitazione in un gruppo di pazienti con specifici criteri di inclusione ed esclusione;
6. riassumere l'utilità e l'efficacia clinica della riabilitazione degli arti superiore ed inferiori attraverso i device tecnologici;
7. fornire un riferimento evidence-based sulle soluzioni nuove presenti per integrare e intensificare l'offerta riabilitativa.

Al termine del progetto ci si aspetta di ottenere un database di dati clinici e oggettivi estratti dalle valutazioni e dal sistema robotico utilizzato per la riabilitazione dei vari soggetti (sia degli arti superiori che inferiori) da parte dei soggetti con differenti patologie e caratteristiche, all'inizio (T0), qualora possibile durante (T1) e alla fine del trattamento (T2). Un follow-up a distanza di 3-6 mesi dalla fine del trattamento (T3) confermerebbe un eventuale mantenimento o perdita dell'effetto ottenuto; una caratterizzazione delle patologie in base al deficit neuro-motorio e il quadro clinico del paziente; la valutazione dell'efficacia di terapie riabilitative innovative; l'introduzione e l'utilizzo in pratica clinica di nuove indicazioni per l'utilizzo mirato dei sistemi robotici per ogni patologia studiata.

Diversi sono gli approcci adottati negli ultimi 20 anni per favorire il recupero motorio, e fra questi il trattamento robotico si è dimostrato efficace per il recupero della forza muscolare e del controllo motorio, e quindi nel migliorare le funzioni ADL [Louie DR et al., 2016; Mehrholz et al., 2015]. In particolare, per l'arto inferiore, uno studio [Mazzoleni S et al. 2017] eseguito su pazienti cronici post-ictus sottoposti a sessioni di sola riabilitazione robotica del cammino ha mostrato miglioramenti significativi nella performance motoria globale, nella resistenza durante il cammino, l'equilibrio e la coordinazione, nella forza muscolare e nella spasticità.

Esistono in commercio differenti tipologie di robot per la riabilitazione. Studi clinici hanno evidenziato come l'esecuzione di movimenti simili a quelli eseguiti nella vita quotidiana sia particolarmente importante per un recupero motorio orientato al re-inserimento del paziente nel proprio ambiente familiare [Johnson MJ, 2006]. Per questo motivo robot che consentono di eseguire movimenti 3D dell'arto superiore e di camminare overground sono considerati come sistemi riabilitativi innovativi in grado di offrire al paziente una maggiore stimolazione del controllo motorio e informazioni multisensoriali sensoriali (visive, propriocettive, tattili e vestibolari). Tali sistemi mantengono una partecipazione attiva del paziente, che è in grado di eseguire i task motori anche in caso di impairment motorio grave.

Pertanto, nell'ambito della riabilitazione della persona neurologica con esiti di disabilità, il recupero funzionale orientato a ADL sia dell'arto superiore che degli arti inferiori deve essere uno degli obiettivi principali dell'IRCCS. Tale argomento si inserisce in un contesto di più ampio respiro riguardo la sicurezza del paziente, il recupero dell'indipendenza e di un buon livello di qualità della vita, e l'active ageing.

STUDIO 1: Studio osservazionale pilota sulla fattibilità dell'utilizzo di un nuovo sistema robotico indossabile overground per la riabilitazione del cammino in persone con emisindrome piramidale.

Il recupero della capacità di deambulazione è uno degli obiettivi principali della riabilitazione post-ictus e l'allenamento del cammino ad alta intensità, ripetitivo e orientato al compito basato sui principi dell'apprendimento motorio e il fenomeno della neuroplasticità sembra essere efficace sulla coordinazione del movimento e, quindi, sul miglioramento della gait [Esquenazi A. et al. 2012]. Gli esoscheletri motorizzati indossabili consentono ai pazienti con disfunzioni del cammino di stare in piedi e camminare, avendo un'esperienza di gait overground quasi normale. Tuttavia, la riabilitazione del cammino supportato dall'esoscheletro è ampiamente studiata nelle persone con lesioni del midollo spinale.

Obiettivo primario di questo studio è quello di valutare la fattibilità, l'effetto e la compliance nell'utilizzo del sistema robotico indossabile overground (Indego, Parker, USA) per il trattamento riabilitativo del cammino nelle persone con emisindrome piramidale.

Obiettivi secondari dello studio sono: analisi cinematica del cammino (nei soggetti in grado di camminare) associata all'elettromiografia di superficie (sEMG) di 4 distretti muscolari degli arti inferiori al fine di valutare i cambiamenti dello schema del passo e dell'attività muscolare a seguito di una riabilitazione del cammino attraverso un sistema di esoscheletro indossabile overground; analisi elettroencefalografica al fine di individuare i fattori prognostici per il recupero del cammino e indagare l'effetto del trattamento sulla connettività funzionale. I trattamenti hanno durata di 15+2 sessioni dall'inizio del trattamento per massimo 6 settimane. All'inizio del trattamento (T0) e al termine del medesimo (T1) sono somministrate le seguenti scale funzionali: Ashworth Scale Modificata (MAS); Motricity Index (MI); Trunk Control Test (TCT); Functional Ambulation Classification (FAC); 10 mt walking test (10 meters WT); 6 Minutes Walking Test (6MWT – primary outcome); Time up and go test (TUG) ; Valutazione Terapia Robotica (VTR) per la sicurezza, la tollerabilità e per il dolore presentato dal paziente nell'uso del robot e per la soddisfazione nella gestione del cammino; Barthel Index; Walking Handicap Scale (WHS). In un sottogruppo dei soggetti (N=5) è eseguita un'analisi del cammino, associato all'EMG di superficie su 4 muscoli degli arti inferiori, e EEG.

Tutti i pazienti inclusi nello studio vengono seguiti globalmente dal punto di vista riabilitativo con Fisioterapia, Terapia Occupazionale, Logoterapia secondo il progetto personalizzato creato per loro da parte del Team Riabilitativo per un minimo di 120 minuti al giorno. Il trattamento con l'INDEGO dura 30 minuti, escludendo i tempi di preparazione (vestitura, misurazioni ed adattamento del tutore alle misure antropologiche dei vari pazienti). Il programma dell'Indego è impostato in base alle capacità deambulatorie del paziente, valutato con la Functional Ambulation Classification (FAC). In base all'organizzazione del centro e all'acuzia del paziente, si procede a effettuare un minimo di 3 sedute fino ad un massimo di 5 sedute settimanali con Indego.

STUDIO 2: Studio multicentrico randomizzato e controllato sull'efficacia della riabilitazione dell'arto superiore con esoscheletro in pazienti con ictus subacuto”.

Nei pazienti che abbiano subito uno stroke, il recupero neuromotorio e funzionale dell'arto inferiore generalmente risulta essere meno complesso rispetto a quello dell'Arto Superiore (AS). Fino all'85% dei soggetti con stroke presenta all'insorgenza clinica importanti deficit all'AS. Tali deficit anche dopo tre/sei mesi persistono in una percentuale di pazienti che varia dal 55% al 75%. Diversi sono gli approcci adottati negli ultimi 20 anni per favorire il recupero dell'arto superiore negli esiti di stroke cerebrale e fra questi il trattamento robotico si è dimostrato efficace per il recupero dell'articolarietà del braccio e della mano, della forza muscolare e nel migliorare le funzioni delle attività della vita quotidiana (ADL). Esiste in letteratura un numero limitato di studi che hanno dimostrato l'efficacia di un dispositivo robotico per il recupero motorio dell'arto superiore nonché il suo effetto neurofisiologico, ma su un campione di pazienti piuttosto esiguo. In particolare, nessun trial clinico randomizzato è stato eseguito sui soggetti post-stroke in fase subacuta.

Obiettivo primario dello studio è valutare l'efficacia di un sistema robotico di tipo esoscheletro per la riabilitazione dell'arto superiore rispetto ad un trattamento riabilitativo convenzionale senza dispositivo robotico. L'efficacia del trattamento sperimentale verrà valutata in termini di

miglioramento della performance motoria mediante il Fugl-Meyer Assessment Upper Limb (FM-UL) motoria.

Obiettivi secondari dello studio sono:

- valutare l'efficacia di un sistema robotico di tipo esoscheletro in termini di miglioramento dell'abilità e della partecipazione per la riabilitazione dell'arto superiore;
- identificare sottogruppi di pazienti che possano beneficiare di più della terapia robotica in termini di distanza dall'evento acuto (Onset-Admission Interval - OAI), età e compromissione dell'arto superiore;
- valutare l'efficacia del trattamento robotico in termini di modificazioni neurofisiologiche periferiche (elettromiografia di superficie - sEMG) e centrali (elettroencefalografia - EEG) rispetto al trattamento convenzionale per l'arto superiore.

Il disegno dello studio è multicentrico (in collaborazione con Azienda Ospedaliero Universitaria Ospedali Riuniti, Foggia; Azienda Ospedaliero-Universitaria di Ferrara; Fondazione "Gli Angeli di Padre Pio", San Giovanni Rotondo; HABILITA S.p.A, Bergamo; IRCCS Centro Neurolesi Bonino Pulejo, Messina; IRCCS Fondazione Santa Lucia, Roma; Presidio Ospedaliero Accreditato Villa Bellombra S.p.A, Bologna), parallelo, randomizzato, controllato (RCT), in singolo cieco (valutatore). I soggetti eleggibili per lo studio e arruolati vengono randomizzati in due gruppi: Gruppo Sperimentale (EG) e Gruppo di controllo (CG). Tutti i soggetti di entrambi i gruppi sono valutati, oltre che con un esame obiettivo clinico standard, con le scale di valutazione somministrate al baseline (T0) e alla fine del trattamento (T1): Fugl-Meyer Assessment Upper Limb (FM-UL, valutazione motoria: 0-66 – primary outcome); Modified Ashworth Scale (spalla, gomito e polso); Box & Block Test; Nine Hole Peg; Frenchay Arm Test; Barthel Index modificato; Modified Rankin scale; Valutazioni sul gradimento della tecnologia (per pazienti e fisioterapisti); Valutazioni strumentali con Arneo Power (a T0, T1 e a metà del trattamento: alla 12ma seduta). Sono previste anche delle valutazioni strumentali di segnali neurofisiologici su un sottogruppo di pazienti (sia EG che CG): Elettromiografia di superficie (sEMG) e cinematica (protocollo RAB con sistema stereofotogrammetrico o sensori inerziali); Elettroencefalografia (EEG).

Ciascun paziente eleggibile per lo studio in base ai criteri di inclusione ed esclusione, è assegnato in modo randomizzato a uno dei due gruppi di trattamento: Gruppo sperimentale (EG) o Gruppo di controllo (CG). Per l'ordine di arruolamento, sono create 4 liste di randomizzazione: 1) soggetti con distanza dall'evento acuto <30 e deficit severo ($FM-UL \leq 22$); 2) soggetti con distanza dall'evento acuto <30 e deficit moderato ($22 < FM-UL \leq 44$); 3) soggetti con distanza dall'evento acuto >30 e deficit severo ($FM-UL \leq 22$); 4) soggetti con distanza dall'evento acuto >30 e deficit moderato ($22 < FM-UL \leq 44$).

I pazienti di entrambi i gruppi effettuano il trattamento riabilitativo standard. Il gruppo sperimentale (EG), in aggiunta al trattamento standard, effettua una seduta al giorno con il sistema robotico Arneo Power per la riabilitazione dell'arto superiore per 40 minuti effettivi. Ciascun soggetto effettua un totale di 25 ± 3 sedute di trattamento con la frequenza di 5 volte a settimana per 5 settimane. Il gruppo di controllo (CG) aggiunge al trattamento previsto dalle normali attività della U.O. di Neuroriabilitazione 40 minuti di riabilitazione convenzionale dell'arto superiore di tipo individuale. Ciascun soggetto effettua un totale di $25 + 3$ sedute di trattamento convenzionale dell'arto superiore con la frequenza di 5 volte a settimana per 5 settimane.

Risultati:

STUDIO 1. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana nel mese di Luglio. Successivamente il protocollo di studio è stato registrato sul database internazionale di ClinicalTrials.gov (id: NCT04559724). Nel 2020 sono stati reclutati 2 pazienti con ictus in fase subacuta (1 ischemico; 1 emorragico). Dai risultati preliminari, Indego è un dispositivo complesso ma semplice da usare e la sua applicazione personalizzabile non richiede una lunga procedura di settaggio. I primi risultati sono incoraggianti in termini di miglioramento del pattern del cammino. Dalle analisi neurofisiologiche, durante tutti i task motori richiesti si

nota una maggiore desincronizzazione post-terapia (della corteccia motoria e premotoria) e questo potrebbe essere indice dell'efficacia immediata della terapia robotica. Questi esiti possono dare l'opportunità all'equipe riabilitativa multidisciplinare di pianificare una nuova strategia di riabilitazione della gait robotica su misura dopo l'ictus. Sono necessari studi su un campione più ampio e anche tramite EEG per confermare e rafforzare questi risultati. Principali risultati attesi sono: Fattibilità di un intervento con Indego in pazienti con emisindrome piramidale; Identificazione degli effetti del trattamento con Indego in termini funzionali; Identificazione degli effetti del trattamento con Indego in termini corticali.

STUDIO 2. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana nel mese di Marzo. Successivamente il protocollo di studio è stato registrato sul data-base internazionale di Clinical Trials.gov (id: NCT04697368). A causa Covid-19, nell'anno 2020 non è stato possibile il reclutamento dei casi clinici nel rispetto del protocollo di studio. Principali risultati attesi sono: identificare un protocollo riabilitativo personalizzabile per il recupero motorio dell'arto superiore in base alle caratteristiche cliniche di ogni singolo paziente; raggiungere un miglior recupero motorio sia in termini di range del movimento che il reclutamento muscolare associato a una stimolazione cognitiva a seguito della riabilitazione dell'arto superiore attraverso il sistema esoscheletro di Armeo Power; classificare caratteristiche cliniche e neurofisiologiche per la predizione delle performance della riabilitazione, predizioni del recupero motorio, migliori task, timing di intervento; raggiungere una maggiore stimolazione al livello corticale a seguito del trattamento sperimentale; raggiungere un migliore attivazione muscolare e quindi migliore performance motorio nel gruppo sperimentale; raggiungere una maggiore autonomia nell'eseguire le ADL e di conseguenza maggiore partecipazione.

Il progetto ha un forte impatto in ambito clinico-riabilitativo in quanto permette in modo preciso, quantitativo e oggettivo ai clinici di offrire un progetto riabilitativo individuale in base ai deficit e il quadro clinico del paziente. La rifinizione di un protocollo riabilitativo in maniera personalizzabile all'inizio e durante il trattamento ha un forte impatto sull'efficacia del piano riabilitativo, massimizzando gli outcome attesi alla fine di un percorso riabilitativo ottimizzato sia per il paziente (personalizzazione e miglioramento del trattamento, valutazione dell'efficacia) che per la struttura sanitaria e il SSN (pianificazione delle risorse).

AREA DI RICERCA PARKINSON E DISTURBI DEL MOVIMENTO

La "Parky Touch Rugby Therapy" nella riabilitazione dei pazienti affetti da malattia di Parkinson.

Gli approcci terapeutici più recenti nell'ambito del trattamento dei pazienti con Malattia di Parkinson (PD) hanno evidenziato l'importanza e l'utilità delle cosiddette "terapie complementari" (ad esempio tangoterapia, danza irlandese, Tai-chi, ecc) che, non solo determinano un miglioramento dal punto di vista del benessere fisico, ma anche di quello emotivo e relazionale dal momento che, essendo quasi sempre pratiche di gruppo, hanno il grande vantaggio di favorire la socializzazione. Questo è utile anche dal punto di vista psicologico perché spesso la persona con PD tende ad isolarsi, per nascondere la propria condizione di salute, quando, invece, incontrarsi con chi condivide la medesima situazione può aiutare ad affrontare meglio la malattia.

Il Touch Rugby è uno sport di squadra, variante del rugby a 13 in cui il placcaggio è sostituito da un semplice tocco dell'avversario. Vietando lo scontro fisico, e limitando il contatto ad un lieve tocco di mano sull'avversario, il Touch è il gioco che avvicina uomini e donne o bambini, anche con poca atleticità o totale inesperienza nel rugby, allo spirito essenziale dello stesso, senza il timore di farsi male. Per fermare l'avversario portatore di palla si deve effettuare un tocco a una mano su qualsiasi parte del corpo o sulla palla. Non si calcia la palla; non è possibile passarla in avanti, non si placca non si fanno mischie o rimesse laterali, la palla non deve cadere. La realizzazione della meta vale un punto. Ovviamente vince chi fa più mete.

Coadiuvati e incoraggiati da medici e fisioterapisti, quattro giovani con PD hanno sviluppato l'idea di affiancare la riabilitazione neuromotoria "tradizionale" con la "Parky Touch Rugby Therapy". Questa idea è divenuta realtà, radunando pazienti con PD, loro caregivers e semplici simpatizzanti che, oltre a divertirsi in amicizia e all'aria aperta, toccano con mano i benefici psicofisici di questa pratica. Il "Parky Touch Rugby" comporta socializzazione, movimento, miglioramento o recupero delle abilità compromesse dal Parkinson (equilibrio, manualità fine - quella richiesta dalla palla ovale - automatismi in genere e pianificazione nello spazio).

Gli approcci terapeutici "complementari" sono costituiti sia da metodiche create espressamente in considerazione dei bisogni dei pazienti parkinsoniani, sia dall'uso a fini riabilitativi di pratiche che, nate senza alcuna intenzionalità terapeutica specifica (danza, teatro, sport. ecc), si sono dimostrate in seguito dei validi aiuti per chi soffre di Parkinson. Le terapie complementari essendo quasi sempre pratiche di gruppo hanno anche il grande vantaggio di favorire la socializzazione. Esse si basano spesso nell'utilizzare tecniche di stimolazione sensoriale, mediante strategie che privilegiano il controllo attenzionale in modo da rendere volontari i programmi motori: nel Touch Rugby lo stimolo è tattile, acustico e visivo.

Lo scopo dello studio è quello di verificare se la partecipazione al torneo di Touch Rugby è correlata ad un miglioramento della qualità della vita di pazienti e caregivers.

I ricercatori seguono la squadra di "Parky Touch Rugby" composta da pazienti affetti da PD; valuteremo i pazienti prima dell'inizio degli allenamenti (T0), (T1): fine trattamento 6 mesi, (T2): follow up a 1 mese dopo la fine del trattamento, con scale di valutazione volte a misurare la qualità della vita e il benessere psico-fisico (EQ-5D, PDQ-8). Le scale di valutazione motoria necessarie alla caratterizzazione della malattia di Parkinson (MDS-UPDRS, Hoehn & Hahr, MoCA) verranno effettuate solo prima dell'inizio del torneo e alla sua conclusione.

Sono stati reclutati 18 soggetti (8 donne e 10 uomini) affetti da PD idiopatica da almeno 3 anni. Il campione di pazienti di età compresa tra i 45 e i 68 anni ha svolto un periodo di allenamento di "Parky Touch Rugby".

La media della parte III dell'UPDRS Motorio dei pazienti presi in esame è di 25 in fase ON. La stadiazione della malattia secondo la scala di Hoehn e Yahr è di 2,5 in fase ON.

Tutti i pazienti hanno continuato la terapia farmacologica in atto senza apportare modifiche durante il periodo di allenamento e non hanno svolto nessun altro tipo di riabilitazione o sport, nel periodo dello studio.

Ai pazienti è stata proposta una sessione di allenamento settimanale della durata di 2 ore per 6 mesi.

Durante ciascun allenamento i soggetti sono stati seguiti costantemente dall'allenatore che ha strutturato la lezione includendo ogni volta le seguenti quattro fasi di training:

1. riscaldamento generale - esercizi di mobilità articolare statici e dinamici, esercizi di deambulazione, esercizi di corsa con diverse andature a differenti velocità.
2. fase centrale - esercizi di potenziamento muscolare (addominali, dorsali, ecc..).
3. esercizi coordinativi - con utilizzo della tecnica rugbistica o partite.
4. fase di defaticamento - ripristino dei valori normali della frequenza respiratoria e cardiaca, della temperatura corporea e del metabolismo.

Una lezione tipo è costituita da:

- Preparazione al ball-handling (manipolazione della palla).
- Esercizi di mobilità articolare anche con movimenti mutuati del tai chi.
- Rinforzo muscolare: addominali, plank, etc.
- Skill principali: passaggi da fermi (velocità, tecnica, salto dell'uomo, etc) in cerchio e su file; passaggio della palla in movimento.
 - percorsi con i coni
 - schemi d'attacco - loop o incrocio
 - dinamiche di touch, roll-ball e passaggio improntate alla velocità ed alla disposizione del campo ma anche finalizzate al "problem solving", drammatica per i parkinsoniani che debbono scegliere/decidere un'opzione di gioco nel più breve tempo possibile.

Dei 18 soggetti reclutati, 16 hanno completato lo studio. Dei 16 pazienti, 9 sono di sesso maschile e 7 di sesso femminile. L'età anagrafica varia dai 45 ai 68 anni con un'età media di 63,42 ($\pm 6,58$) anni. Inoltre, il tempo che intercorre dalla diagnosi di MP alla partecipazione al progetto, varia dai 3 ai 14 anni con una media di circa 12,06 ($\pm 4,22$) anni. I 16 pazienti seguono un regolare trattamento farmacologico con un dosaggio equivalente di Levodopa (LED) dai 450 mg ai 1150 mg con una media di 650,44 ($\pm 302,57$) mg e la loro stadiazione clinica oscilla dallo stadio 2 allo stadio 3, con una media di stadio 2,5 della scala di Hoehn & Yahr.

I risultati ottenuti nella Parte I della MDS-UPDRS che riguarda le esperienze non motorie della vita quotidiana, mostrano dei miglioramenti complessivi e generalmente mantenuti, con trend positivi osservabili sia al T1 rispetto al T0, sia al T2 rispetto al T0, rispettivamente del 20% e 18%.

I risultati ottenuti dalle valutazioni della Parte II della MDS-UPDRS che valuta le esperienze motorie della vita quotidiana (eloquio, salivazione, masticazione e deglutizione; attività correlate al mangiare, al vestirsi, all'igiene personale; scrittura, passatempi e altre attività; tremore, capacità di alzarsi e di scendere dal letto, di uscire dall'auto, di alzarsi dalla poltrona, di camminare; equilibrio, blocco motorio), mostrano un trend positivo dell'12 % sia al T1 rispetto al T0 che al T2 rispetto al T0, quindi possiamo osservare dei lievi miglioramenti.

Nella parte III della MDS-UPDRS quindi la valutazione motoria eseguita dal neurologo osserviamo un miglioramento dell'3% al T1 rispetto al T0 e del 2% al T2 rispetto al T0. I risultati ottenuti nella Non Motor Symptoms Scale (NMSS), rivelano nella sfera psicologica, motivazionale, tali miglioramenti tendono a mantenersi durante il mese successivo alla conclusione degli allenamenti Touch Rugby.

AREA EPIDEMIOLOGIA CLINICA E MOLECOLARE

Studio della broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) attraverso il danno ossidativo al DNA (Comet Assay)

La BPCO è una malattia progressiva e complessa caratterizzata da un'ostruzione persistente delle vie aeree, non completamente reversibile dopo broncodilatatori e/o cortisonici. La letteratura suggerisce che pazienti con livelli severi di BPCO mostrano un incremento del danno ossidativo al DNA e dell'instabilità genomica, indice di una possibile predisposizione al cancro al polmone. Tali studi sono stati condotti con la metodica del Comet assay, tecnica elettroforetica atta alla misura ed alla visualizzazione dell'integrità del DNA a livello di cellule individuali.

Uno studio proof of principle suggerisce che programmi di riabilitazione polmonare (PR) riducono i livelli di stress ossidativo, misurato come riduzione della lunghezza della coda della cometa. In questo contesto risulta pertanto necessario attuare programmi di PR integrata consistenti in un intervento globale e multidisciplinare basato sull'evidenza dei benefici sui pazienti in base a parametri di efficacia ed efficienza, oggettivi e quantificabili. La valutazione integrata dell'efficacia della PR è complessa e richiede un notevole approfondimento iniziale ed una attenta valutazione degli "outcomes" di risposta. Le classiche caratteristiche al baseline non possono predire l'intensità della risposta.

Lo studio intende:

1. Testare in un gruppo pilota la possibile efficacia di un intervento globale in confronto all'approccio tradizionale;
2. Studiare e validare i predittori di risposta (inclusi OMICS);
3. Creare un algoritmo complesso in grado di predire, all'avvio del trattamento, la risposta del paziente.

La disponibilità di tale algoritmo è lo strumento iniziale per l'avvio di terapie personalizzate, tarate sui principali predittori di risposta al trattamento integrato.

Sebbene gli scopi del progetto siano molti ed applicabili a vari campi, la capacità di predire la risposta è quella con maggiori implicazioni cliniche e sicuramente prioritaria.

Il test della cometa è una tecnica in grado di valutare il danno al DNA in cellule singole sia in fase riproduttiva che in quiescenza. Richiede piccoli campioni di sospensione cellulare ed i risultati si possono ottenere in pochi giorni. Tale tecnica utilizza una microelettroforesi per visualizzare il danno al DNA in singole cellule. Dai campioni di sangue, sono estratti i linfociti. Sui linfociti conservati in azoto liquido, è stato eseguito uno studio riguardante lo stress ossidativo in termini di danno al DNA, eseguito mediante Comet Test Alcalino (pH 13). Le cellule, imprigionate in uno strato di agarosio e lisate, sono sottoposte ad elettroforesi. Durante l'elettroforesi gli eventuali frammenti di DNA migrano dal nucleo verso l'anodo della camera elettroforetica fornendo al microscopio a fluorescenza, l'immagine di una cometa, da qui poi il nome "Comet Test". Poiché le rotture su singolo filamento e su siti alcali labili, indotte da agenti genotossici, sono più frequenti di quelle evidenziabili su doppio filamento, questa versione ha offerto un grande incremento della sensibilità del metodo.

Per valutare la migrazione del DNA, sono state valutate 100 cellule per ciascuna slide, preparando 2 slides per ogni paziente; quindi sono state valutate 200 cellule per paziente. I dati raccolti sono stati suddivisi in cinque categorie in accordo con l'Olive tail moment score descritto da Collins (2008). Il numero totale di cellule appartenente ad ogni categoria viene conteggiato e moltiplicato per un valore assegnato da 0 a 4 in base alla classe di danno. La somma di tutte le categorie è stata calcolata e considerata come l'indice di danno.

Le informazioni raccolte nell'ambito del progetto sono così riassunte: valutazione respiratoria (emogasanalisi/ Medical Research Council/dyspnea scale/St. George's Respiratory Questionnaire/Maugeri Respiratory Failure/ Borg-Barthel scales/Functional exercise capacity (6-Minute Walking Test); esami strumentali (ECG/ spirometria/pressione arteriosa); visita medica/esame obiettivo; esami ematochimici/emocromo/urine; stili di vita/esposizione

ambientale/eventi stressanti/relazioni sociali; anamnesi di comorbidità medica/Charlson comorbidity index; rating scales di QoL/abilità della vita quotidiana/stato cognitivo/psicologico (MINI Mental State Examination, il Montreal Cognitive Assessment, la scala di autovalutazione della depressione CES-D, la scala per la valutazione dei livelli di ansia Zung, il test di Beck per la misura della depressione); analisi degli SNPs dei geni coinvolti nella sensibilità/resistenza ai glucocorticoidi. La disponibilità di campioni raccolti e aliquotati, prima/dopo 3 settimane di PR, è in grado di completare il set di informazioni necessarie alla valutazione personalizzata delle performance di ogni singolo paziente.

Seguendo un approccio di Systems Medicine, sono stati raccolti ed analizzati differenti tipi di informazioni in 89 pazienti con BPCO, afferenti all'Unità di Riabilitazione Polmonare.

Sono stati raccolti i campioni IN/OUT di sangue (siero/plasma); sono stati effettuati gli esami ematochimici e di valutazione della funzionalità polmonare, prima e dopo PR. Sono stati inoltre valutati i parametri psico-cognitivi e di qualità di vita per completare il profilo clinico.

La BPCO mostra diversi segni distintivi dell'invecchiamento e un alto livello di stress ossidativo. Il danno al DNA ha mostrato un aumento molto significativo dopo tre settimane di Riabilitazione Respiratoria.

Danni più elevati al DNA sono stati osservati nei non responder e nei pazienti sottoposti a terapia con ossigeno

La risposta alla riabilitazione differisce tra i pazienti che chiedono un trattamento personalizzato.

Il danno al DNA nei pazienti con BPCO può rappresentare un marcatore biologico significativo di risposta

In accordo con i risultati riportati dalla ricerca, la misura della frequenza del danno al DNA in pazienti con BPCO sottoposti a riabilitazione polmonare può essere un marker biologico significativo di risposta e dovrebbe essere considerato come un criterio diagnostico e prognostico aggiuntivo da prendere in considerazione per programmi di riabilitazione personalizzati.

La gestione della BPCO risulta complessa: in Italia è una malattia respiratoria molto diffusa con alti costi e sostenibilità per il SSN. Nondimeno, il numero di reparti ospedalieri di riabilitazione respiratoria e di posti letto continua a diminuire senza alternative organizzative coerenti. Gli strumenti riportati dalle linee guida della Regione Lazio per la riabilitazione respiratoria comprendono 6MWT, Borg, MRC, MRF26 e BMI. La nostra sfida è fornire agli specialisti nuovi strumenti in grado di valutare ampiamente lo stato globale e il profilo specifico dei pazienti, supportando scelte cliniche e decisioni riabilitative con strategie predittive. L'effettiva possibilità di ridurre le esacerbazioni e le riospedalizzazioni è di fondamentale importanza per la sostenibilità del sistema sanitario, alla luce dei costi sempre maggiori in una popolazione che invecchia sempre più.

Studio di prevenzione primaria delle cadute domiciliari in pazienti anziani a rischio

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

Fattori di rischio riconosciuti, secondo le Linee Guida "Prevenzione delle cadute da incidente domestico negli anziani" del Piano Nazionale Linee Guida (PNLG, Maggio 2007), sono: storie di precedenti cadute; paura di cadere; polifarmacoterapia e assunzione di farmaci particolari; alterazione della mobilità; alterazione della vista; rischi domestici; isolamento sociale; condizioni molto precarie di salute; malattie del sistema cardiovascolare; depressione; demenza;

epilessia; difficoltà nell'estensione delle ginocchia; confusione; clearance della creatinina < 65 ml/min; utilizzo di lenti multifocali; artrite e/o artrosi; inoltre come già sottolineato dalle Linee Guida NICE anche l'appartenenza al sesso femminile e il crescere dell'età sono fattori di rischio rilevanti.

Il Medico di Medicina Generale (MMG), per il suo ruolo sul territorio ed il rapporto di fiducia con l'assistito è l'interlocutore privilegiato per l'implementazione di programmi di prevenzione delle cadute.

Lo scopo del presente studio è quello di valutare se l'azione preventiva del Medico di Famiglia basata sui programmi proposti, riduca il numero delle cadute tra gli anziani (soggetti > 65 anni) ad elevato rischio di caduta.

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

Endpoint Primario riguarda la comparazione fra i soggetti dei due gruppi per il numero di cadute riportate al Medico di Medicina Generale durante il periodo dello studio (1 anno).

Gli endpoints secondari riguardano:

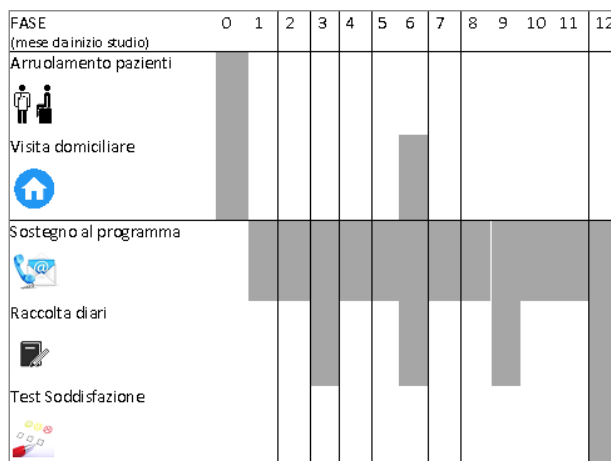
- Valutazione comparativa, a 1 anno dall'inizio dello studio, del numero di ammissioni al Pronto Soccorso inerenti all'evento "caduta" riportate dal paziente al medico nei due gruppi di studio.
- Valutazione comparativa, a 1 anno dall'inizio dello studio, del tipo e numero di accessi a visita specialistica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

Si tratta di uno studio multicentrico interventistico educativo non farmacologico.

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

Per ogni medico di Medicina Generale vengono reclutati i primi 20 pazienti che arrivano ad osservazione (visita in studio, visita domiciliare, visita domiciliare programmata). Di questi 20 pazienti sono randomizzati per ricevere una lista di istruzioni e suggerimenti per evitare le cadute in ambito domestico, unitamente a specifiche raccomandazioni in merito ad una corretta nutrizione. L'intervento è focalizzato sul counselling medico e comportamentale, sulla valutazione dei fattori di rischio domestici (con visita a domicilio del paziente) e su di un programma di attività fisica. Gli altri 10 soggetti sono seguiti secondo "normal practice" misurando e riportando gli endpoints dello studio con la stessa tempistica utilizzata per il gruppo di trattamento. Per garantire un analogo senso di coinvolgimento nello studio e per evitare discriminazioni di rilevanza etica, a questi pazienti vengono proposte le stesse raccomandazioni in merito a corretta nutrizione offerte al gruppo di intervento.

Una volta al mese il medico contatta i soggetti al fine di reiterare i contenuti della lista di istruzioni e suggerimenti inseriti nel programma previsto. Inoltre, il medico in occasione del mese 3, 6, 9 ed alla conclusione del trattamento (mese 12) raccoglie il diario individuale su cui i pazienti riportano eventuali cadute (tutti i 20 pazienti) e per il gruppo di intervento (10 pazienti) l'adesione al programma di attività fisica. All'inizio dello studio, Fase 0 (F0) ed a metà del trattamento, Fase 6 (F6) il medico, o un operatore sanitario esperto di prevenzione cadute, esegue una visita domiciliare al paziente per valutare la presenza di rischi nell'ambiente domestico e lasciare le indicazioni su come evitarli. Il disegno dello studio è sintetizzato nel prospetto seguente:



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

Gli effetti della caduta hanno un impatto emotivo ed economico negativo non solo sul SSN ma anche su tutto il sistema familiare. Gli anziani che hanno più probabilità di cadere, oltre a quelli già caduti in passato, sono quelli che soffrono di patologie croniche, come le patologie cardiovascolari, diabete, demenze o artrosi.

Ad esempio una riduzione del 20% delle cadute consentirebbe circa 27.000 ricoveri in meno ogni anno, con una conseguente riduzione di costi e disagi sia per le famiglie che per il SSN ed una migliore qualità di vita per il paziente.

Terapia riabilitativa personalizzata: Approcci di sistema in “Real Life Medicine”

La ricerca, interdisciplinare e "proof of concept", ha l'obiettivo di fornire una conoscenza completa dello stato dell'arte della riabilitazione delle malattie non comunicabili [“Non-Communicable Diseases”: NCDs (malattie croniche cardiopolmonari e neurodegenerative)]. Il progetto sposta l'attenzione clinica e di ricerca verso la medicina personalizzata paziente-diretta, adottando i fenotipi correlati alla malattia a un quadro di ri-classificazione generale delle stesse. Il progetto offre la possibilità di adattare gli strumenti di Systems Medicine alla real life, convalidando l'insieme delle variabili da raccogliere, misurandone l'impatto e quindi modificando le terapie in base ai fattori individuali.

Il progetto affronta alcune delle criticità nella gestione di pazienti affetti da NCDs. La realizzazione di programmi di riabilitazione integrata è particolarmente importante.

I pazienti sono parte di uno studio di fattibilità di un approccio di Systems Medicine in real life medicine. Gli studi di real life sono un passaggio fondamentale per validare i dati ottenuti dai trial clinici randomizzati che richiedono criteri stringenti di inclusione/esclusione e sono condotti in centri di eccellenza nazionali/internazionali. Generalmente è coinvolto l'1% della popolazione con una data malattia, ma i risultati ottenuti sono applicati al 100% dei pazienti. Come esempio di real life medicine il Salford Lung Study è stato designato per una vasta real-world population di pazienti con BPCO in condizioni di “normal care” [Vestbo et al. N Engl J Med. 2016; 375:1253-60]. La Real Life o Real World Medicine è raccomandata dalla European Medicines Agency (EMA) [http://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/committee/stamp/2016-03_stamp4/4_real_world_evidence_ema_presentation.pdf] e rappresenta uno strumento indispensabile dell'eccellenza nella pratica clinica e conseguentemente determina una migliore qualità delle cure erogate.

Il progetto si prefigge di:

1. Sperimentare e convalidare l'utilizzo di approcci di sistema nella pratica clinica quotidiana all'interno del SSN.

2. Definire “outcome” associati al profilo dei “responders” quali: cambiamenti funzionali di organo, valori di laboratorio, scale psicologiche/comportamentali, attività quotidiane, parametri omici validati e selezionati quali SNPs correlati alla risposta alla terapia con glucocorticoidi e profilo metabolomico.

3. Valutare il ruolo delle comorbidità

4. Costruire un algoritmo preventivo per l’identificazione dei “responders”.

Expected Outcome:

- Quantificare le risorse necessarie alla implementazione della piattaforma;
- Valutarne la fattibilità;
- Testare in un gruppo pilota la possibile efficacia di un intervento globale in confronto all’approccio tradizionale;
- Studiare e validare i predittori di risposta inclusi OMICS;
- Creare un algoritmo complesso in grado di predire, all’avvio del trattamento, la risposta del paziente, così come gli eventi avversi. La disponibilità di tale algoritmo è lo strumento iniziale per l’avvio di terapie personalizzate, tarate sui principali predittori di risposta al trattamento integrato. Sebbene gli scopi del progetto siano molti e applicabili a vari campi, la capacità di predire la risposta è quella con maggiori implicazioni cliniche e sicuramente prioritaria.

Negli ultimi anni molte energie sono state investite nella ricerca di sistemi eHealth per una gestione personalizzata del paziente. La maggior parte dei sistemi esistenti si focalizza su uno specifico dominio medico, pertanto l’ipotesi di aggiornare queste piattaforme con l’approccio Rehabilomics contribuirà a creare nuove linee guida. Si intende sviluppare una nuova architettura progettata per consentire la valutazione multidisciplinare completa del profilo dei pazienti in grado di aggiornare in maniera flessibile i cambiamenti di dominio. Il design specifico della piattaforma è orientato al paziente; pone il paziente al centro e non la malattia, in una visione osleriana. Ad oggi, secondo le nostre conoscenze, non sembrerebbe che in Italia esista un tentativo di costruire una piattaforma così integrata. Gli sviluppi recenti hanno preso in considerazione, ad esempio, solo misure strumentali per prevedere le riacutizzazioni della BPCO ottenendo risultati predittivi. La piattaforma rappresenterà un approccio rivoluzionario alla profilazione multimodale di pazienti con malattie croniche non trasmissibili in grado di modificare la visione globale della gestione delle stesse.

Le informazioni raccolte nell’ambito del progetto possono essere riassunte secondo l’area cui si riferiscono:

- Stili di vita ed esposizione ambientale (fumo, dieta, attività lavorativa e ludica);
- Eventi stressanti e relazioni sociali;
- Anamnesi di comorbidità clinica [Charlson comorbidity index (J Chronic Diseases 1987; 40 : 373–83)];
- Valutazione tramite “rating scales” di qualità di vita, abilità della vita quotidiana, stato cognitivo e psicologico, sintomatologia [Quality of life (QoL) attraverso Activities of Daily Living (ADL); Instrumental Activities of Daily Living (IADL); 36-Item Short Form Health Survey (SF-36) General Health and SF-36 Mental Health. Stato cognitivo e psicologico utilizzando: Mini-Mental State Examination (MMSE); Montreal Cognitive Assessment (MoCa); Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D); Zung Self-Rating Anxiety Scale (SAS). Coping strategies utilizzando Brief COPE];
- Valutazione respiratoria (emogasanalisi, spirometria, Medical Research Council (MRC) dyspnea scale, St. George's Respiratory Questionnaire (SGRQ), Mageri Respiratory Failure (MRF26), Borg and Barthel scales. Functional exercise capacity was measured at baseline and after PR using Six-Minute Walking Test (6MWT);
- Esami strumentali (ECG, pressione arteriosa);
- Visita medica con esame obiettivo;
- Esami ematochimici ed emocromo

- La disponibilità di campioni raccolti e aliquotati, prima e dopo tre settimane di riabilitazione, per analisi di tipo OMICS è in grado di completare il set di informazioni necessarie per una valutazione personalizzata delle performance di ogni singolo paziente.
- Valutazione degli SNPs mediante real time PCR.
- Il programma di riabilitazione consiste in un periodo di ricovero di tre settimane ed include l'exercise training, il nutritional support, l'exacerbation management, la dyspnoea management e lo psychological support se appropriato. Nel corso della riabilitazione è associata una terapia farmacologica in accordo alle linee guida vigenti
- Le associazioni relative dei singoli items e le risposte multivariabili sono analizzate in dettaglio utilizzando la "multinomial logistic regression". Quest'ultima è un metodo di classificazione che permette di utilizzare la regressione logistica ai problemi con più di due variabili. Questo modello è utilizzato per predire le probabilità di differenti outcome di una variabile dipendente distribuita in modo categoriale, dato un set di variabili indipendenti. Per le analisi statistiche è utilizzato il software STATA12, and GraphPad Prism 5 (GraphPad Software). La significatività statistica è valutata mediante: α di Cronbach, per la consistenza interna di specifici test, correlazione di Spearman, test di Student's e Mann-Whitney U. Le differenze nella distribuzione degli studi che analizzano il genotipo sono analizzate mediante Kruskal-Wallis test e Jonckheere-Terpstra trend test.

Fumo di tabacco, nicotina e malattie respiratorie indotte da SARS-CoV-2

La nicotina è considerata tra i fattori responsabili nell'infezione da SARS-CoV-2. Negli studi condotti i fumatori assumono nicotina, l'agente psicotropo presente nel fumo di tabacco che è in grado di indurre l'espressione del enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2), l'enzima responsabile di indurre la conversione di Angiotensina (Ang), Ang I e Ang- con successiva formazione di Ang-. ACE2 è l'unico recettore di SARS-CoV-2 confermato sperimentalmente. Il dibattito sul ruolo del fumo di tabacco nella COVID-19 trae le sue origini dopo la pubblicazione di un articolo in pre stampa di ricercatori francesi, che ipotizzava un effetto protettivo della Nicotina contro l'infezione da SARS-CoV-2, sulla base di uno studio inedito condotto dall'ospedale Pitié-Salpêtrière a Parigi, affermando "all'attuale stato il fumo sembra essere un fattore di protezione contro l'infezione da SARS-CoV-2"; inoltre i ricercatori hanno scritto "la Nicotina può essere indicata come un potenziale agente protettivo contro l'infezione da COVID-19" [Miyara *et al.* Low rate of daily smokers in patients with symptomatic COVID-19. medRxiv 2020.].

La nicotina è implicata nell'infezione da SARS-COV-2 attraverso l'attivazione dell' $\alpha 7$ -nAChR e la sovraespressione di ACE2. Il nostro obiettivo era chiarire il ruolo della nicotina nell'infezione da SARS-CoV-2 esplorando la sua attività molecolare e cellulare.

HBEpC o si-mRNA- $\alpha 7$ -HBEpC sono stati trattati per 1 ora, 48 ho continuamente con nicotina 10^{-7} M, una concentrazione che imita l'esposizione umana a una sigaretta. La vitalità e la proliferazione cellulare sono state valutate mediante esclusione del colorante blu trypan e conteggio delle cellule, migrazione mediante saggio di migrazione cellulare, senescenza mediante attività SA- β -Gal e crescita indipendente dall'ancoraggio mediante clonazione in agar molle. L'espressione di Ki67, p53 / fosfo-p53, VEGF, EGFR / pEGFR, fosfo-p38, Ca²⁺ + intracellulare, ATP ed EMT sono state valutate mediante ELISA e / o Western blotting.

La nicotina indotta attraverso $\alpha 7$ -nAChR (i) aumento della vitalità cellulare, (ii) proliferazione cellulare, (iii) sovraespressione di Ki67, (iv) up-regolazione di fosfo-p38, (v) EGFR / pEGFR - espressione, (vi) aumento della concentrazione basale di Ca²⁺, (vii) riduzione della produzione di ATP, (viii) diminuzione del livello di p53 / fosfo-p53, (ix) senescenza ritardata, (x) aumento del VEGF, (xi) EMT e conseguente (xii) migrazione migliorata e (xiii) capacità di crescere indipendentemente dal substrato.

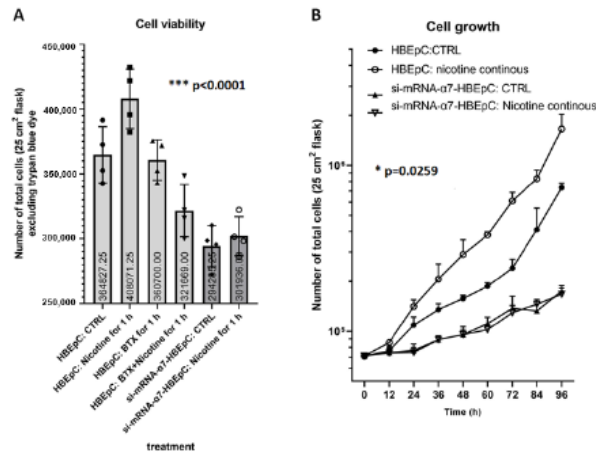


Figure 1. Cell viability (A) and cell proliferation (B) induced by nicotine in HBEpC and/or si-mRNA- α 7-HBEpC viability. (A): For cell viability, 7500 cells/cm² are plated in T25 flask (total cell number 187,000) and treated with nicotine 1×10^{-7} M, after 1 h cells are washed three times in PBS Ca²⁺ and Mg²⁺ free and then incubated in drug-free medium for additionally 48 h. Then, cells (detached or floating) are counted after staining with trypan blue dye. (B): For cell proliferation 7500 cells/cm² are plated in T25 flask and treated with nicotine every 48 h. Cells are detached and viable cells are counted every 12 h. Experiments are performed at least two times in triplicate. Statistical significance is analyzed with one-way ANOVA with multiple-comparison and post hoc test with Bonferroni correction.

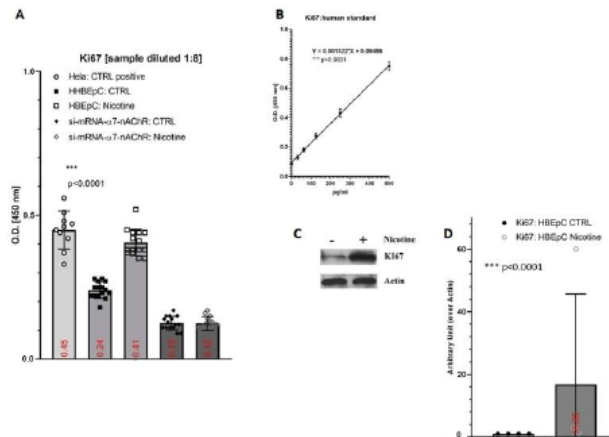


Figure 2. Expression of Ki67 induced by nicotine in HBEpC and/or si-mRNA- α 7-HBEpC. (A): ELISA experiments; (B): regression equation linearity, performed with Prism; (C): Western blotting; (D): densitometric analysis. Statistical significance is analyzed with one-way ANOVA with multiple-comparison and post hoc test with Bonferroni correction. Experiments are performed at least two times in triplicate. In the Supplementary Materials, raw data of Western blotting are reported.

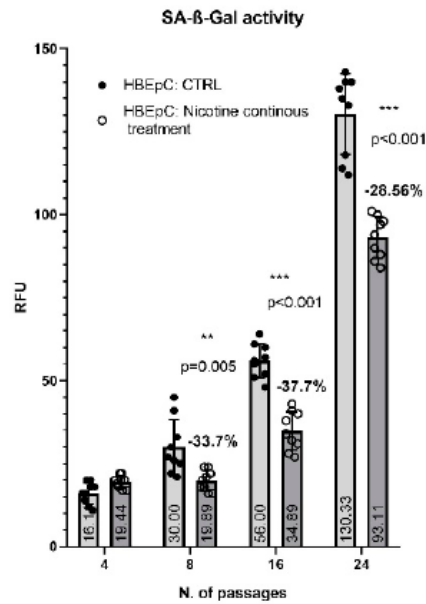


Figure 3. SA-β-Gal in HBEpC exposed continuously to nicotine. Experiments are performed at least two times in triplicate.

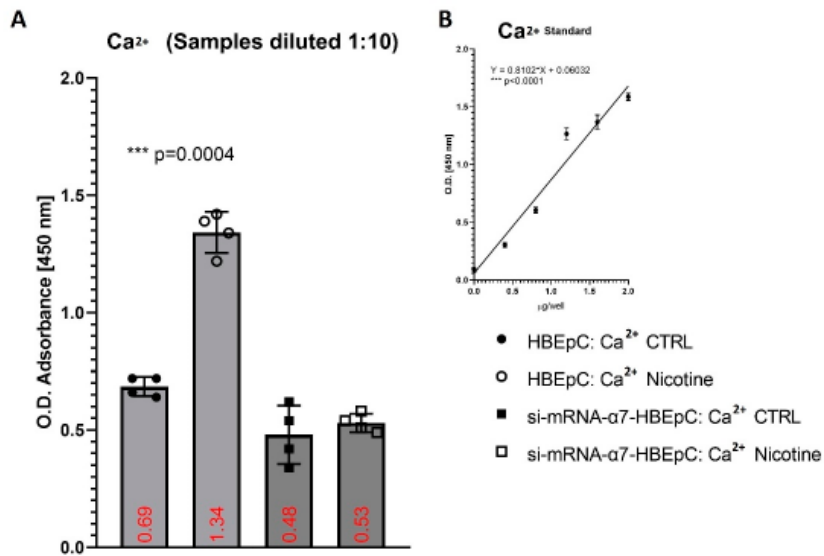


Figure 4. Evaluation of intracellular Ca²⁺ after exposure to nicotine for 48 h in HBEpC and/or si-mRNA-α7-HBEpC. (A): ELISA experiments; (B): regression equation linearity, performed with Prism. Statistical significance is analyzed with one-way ANOVA with multiple-comparison and post hoc test with Bonferroni correction. Experiments are performed at least two times in triplicate.

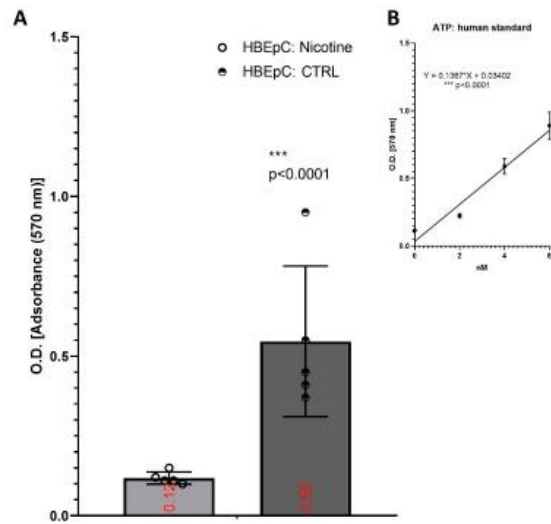


Figure 5. Evaluation of intracellular ATP after exposure to nicotine for 48 h in HBEpC. (A): ELISA experiments; (B): regression equation linearity, performed with Prism. Experiments are performed at least two times in triplicate.

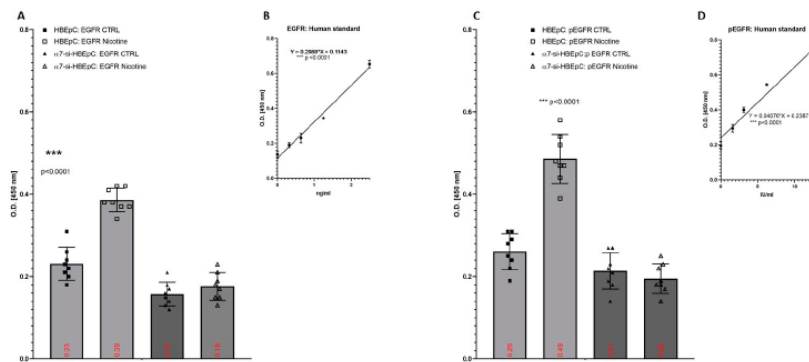


Figure 6. Expression of EGF and p-EGFR after exposure to nicotine for 48 h in HBEpC. (A): ELISA experiments for EGF; (B): regression equation linearity for EGF, performed with Prism; (C): ELISA experiments for p-EGFR; (D): regression equation linearity for p-EGFR, performed with Prism. Statistical significance is analyzed with one-way ANOVA with multiple-comparison and post hoc test with Bonferroni correction. Experiments are performed at least two times in triplicate.

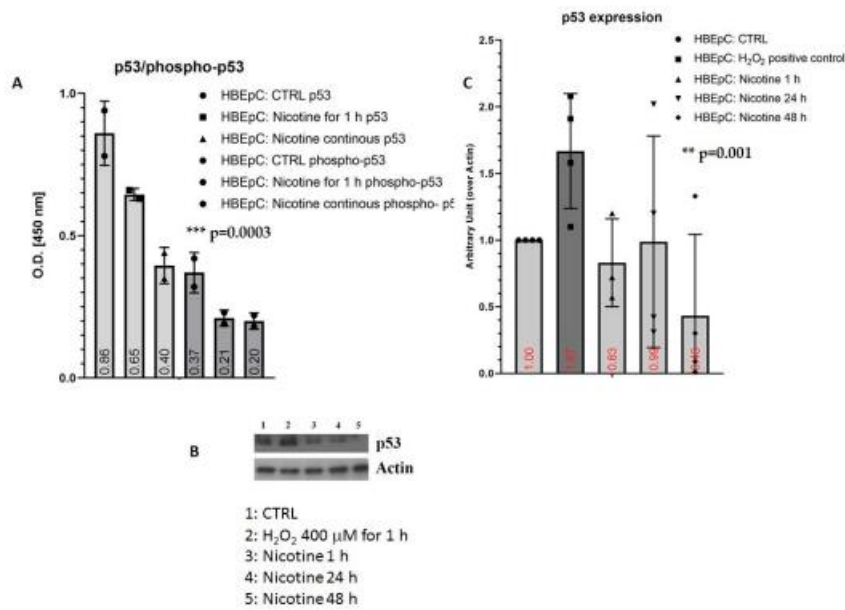


Figure 7. Induction of p53 and phospho-p53 induced by nicotine in HBEpC. (A): ELISA assay. (B): Western blotting experiments, (C): densitometric analysis. Experiments are performed at least two times in triplicate. Statistical significance is analyzed with one-way ANOVA with multiple-comparison and post hoc test with Bonferroni correction. In the Supplementary Materials, raw data of Western blotting are reported.

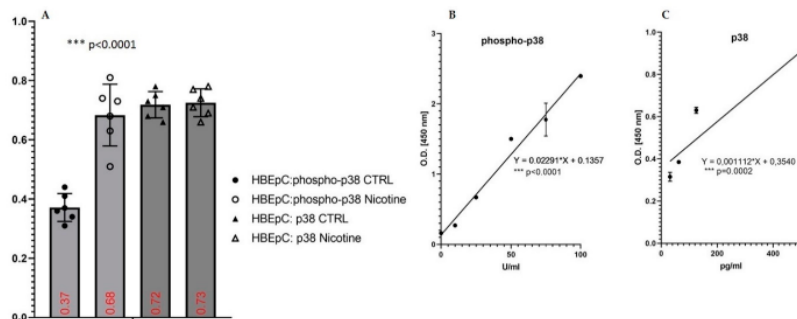


Figure 8. Induction of phospho-p38 and p38 by nicotine in HBEpC. (A): ELISA experiments; (B): regression equation linearity for phospho-p38; (C): regression equation linearity for p38 performed with Prism. Statistical significance is analyzed with one-way ANOVA with multiple-comparison and post hoc test with Bonferroni correction. Experiments are performed at least two times in triplicate.

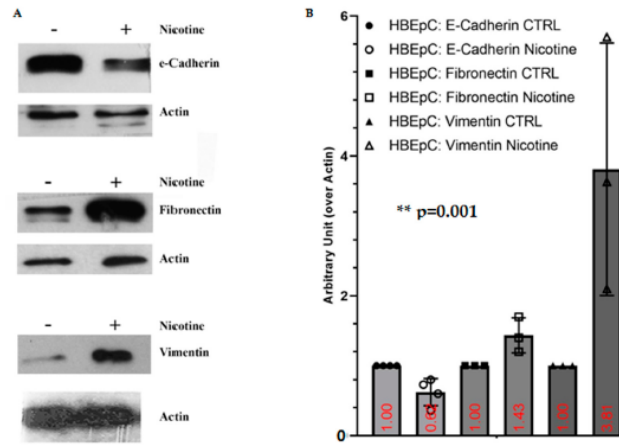


Figure 9. EMT induced by nicotine in HBEpC. (A): Western blotting; (B): densitometric analysis. Statistical significance is analyzed with one-way ANOVA with multiple-comparison and post hoc test with Bonferroni correction. Experiments are performed at least two times in triplicate. In the Supplementary Materials, raw data of Western blotting are reported.

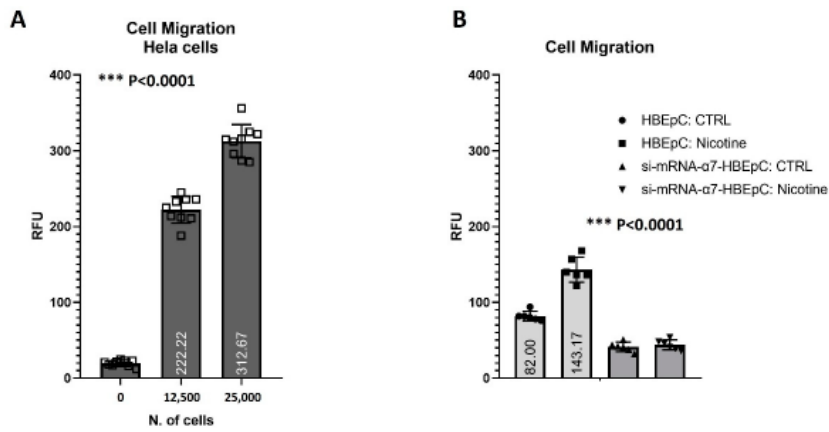


Figure 10. Cell migration to nicotine for 48 h in HBEpC and/or si-mRNA- α 7-HBEpC. HeLa cells are positive control. (A) HeLa positive control. (B): Cell migration h in HBEpC and/or si-mRNA- α 7-HBEpC. Statistical significance is analyzed with one-way ANOVA with multiple-comparison and post hoc test with Bonferroni correction. Experiments are performed at least two times in triplicate.

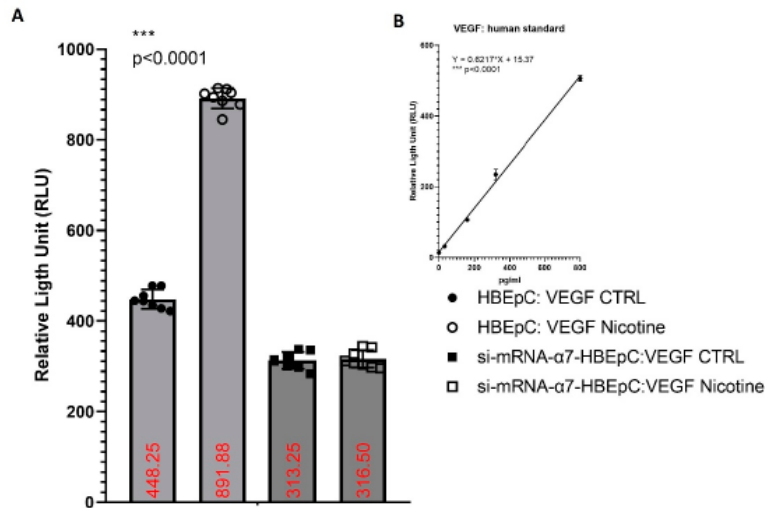


Figure 11. Induction of VEGF by nicotine in HBEpC and/or si-mRNA- α 7-HBEpC. (A): ELISA experiments; (B) regression equation linearity for VEGFR. Statistical significance is analyzed with one-way ANOVA with multiple-comparison and post hoc test with Bonferroni correction. Experiments are performed at least two times in triplicate.

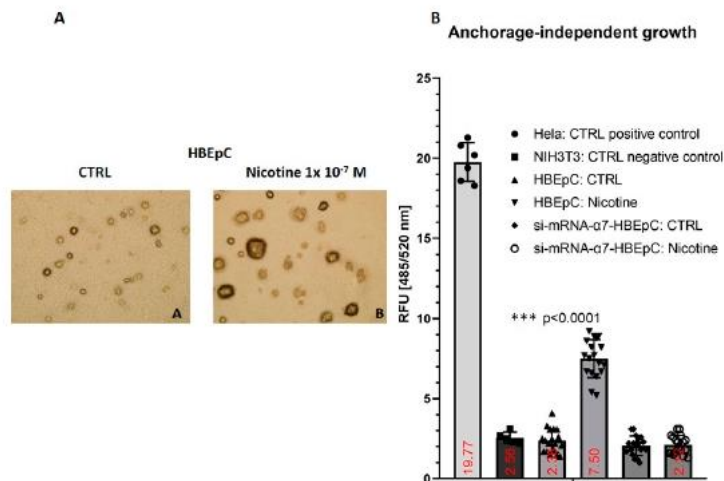


Figure 12. Anchorage-independent growth induced by nicotine in HBEpC. HeLa cells are positive control and NIH3T3 the negative. (A): Representative picture of HBEpC cloned on soft agar. (B): Cloned cells. Statistical significance is analyzed with one-way ANOVA with multiple-comparison and post hoc test with Bonferroni correction. Experiments are performed at least two times in triplicate.

Sulla base dei risultati e delle prove che dimostrano che la nicotina potenzia l'infezione virale, è probabile che la nicotina sia coinvolta nell'infezione e nella gravità della SARS-CoV-2.

La gestione della BPCO risulta complessa: in Italia è una malattia respiratoria molto diffusa con alti costi e sostenibilità per il SSN. Nondimeno, il numero di reparti ospedalieri di riabilitazione respiratoria e di posti letto continua a diminuire senza alternative organizzative coerenti. Gli strumenti riportati dalle linee guida della Regione Lazio per la riabilitazione respiratoria comprendono 6MWT, Borg, MRC, MRF26 e BMI. La sfida consiste nel fornire agli specialisti nuovi strumenti in grado di valutare ampiamente lo stato globale e il profilo specifico dei pazienti, supportando scelte cliniche e decisioni riabilitative con strategie predittive. L'effettiva possibilità di ridurre le esacerbazioni e le riospedalizzazioni è di fondamentale importanza per la sostenibilità del sistema sanitario, alla luce dei costi sempre maggiori in una popolazione che invecchia sempre più.

Identificazione precoce del rischio di decadimento cognitivo (CI) in pazienti con Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) in un contesto multidisciplinare di riabilitazione polmonare

La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) causa limitazione cronica del flusso aereo, dispnea, intolleranza all'esercizio, tosse, difficoltà con le attività quotidiane, infezioni e (ri)ospedalizzazione [Global Strategy For The Diagnosis, Management, And Prevention Of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2019]. La BPCO è una malattia multisistemica, con effetti non limitati solo al polmone e presenza di comorbidità. L'incidenza della BPCO nella popolazione generale è costantemente in aumento e con una popolazione che invecchia sempre più, si prevede che questo numero sia destinato ad aumentare. La BPCO è maggiormente diffusa nei soggetti di età superiore ai 65 anni. L'insorgenza della malattia è complessa; molteplici cause, oltre il fumo, contribuiscono al suo sviluppo, quali ad esempio esposizioni ambientali, cambiamenti degenerativi legati all'età e fattori genetici. Nei soggetti con età > ai 65 anni la BPCO è il risultato di diverse interazioni geniche (GxG) e/o gene-ambiente (GxE) che si sono verificati nel corso della loro vita. Oltre alle comorbidità, problemi psicologici e neuropsicologici, frequenti nella BPCO, possono influenzare l'esito della riabilitazione polmonare. Uno studio prospettico fondamentale, pubblicato nel 2014, in individui con età ≥ 70 anni ha associato la BPCO ad un aumentato rischio di MCI (mild cognitive impairment) sia amnesico (a-MCI) che non amnesico (NA-MCI). Lo studio ha evidenziato un rischio maggiore di a-MCI/NA-MCI in individui con durata della BPCO superiore a 5 anni. Questi dati mettono in luce l'importanza della BPCO come fattore di rischio per a-MCI o NA-MCI evidenziando la necessità di un intervento precoce per prevenire o ritardare l'insorgenza e/o la progressione dell'MCI. Numerosi studi hanno confermato l'associazione tra MCI e BPCO.

Ricerche precedenti suggeriscono che la presenza di un'alterata funzione polmonare può essere collegata ad una compromissione cognitiva (Cognitive Impairment, CI). Uno studio recente ha dimostrato in una popolazione di 14.184 individui, seguiti per oltre 23 anni, che le malattie polmonari, e in particolare l'insufficienza respiratoria e la Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), sono associate ad un maggiore rischio di CI. Inoltre, lo studio ha mostrato che bassi valori di FEV1 (Volume Espiratorio forzato in 1 secondo) sono associati ad un aumentato rischio di demenza e di decadimento cognitivo lieve (Mild Cognitive Impairment, MCI) indipendentemente dall'abitudine al fumo.

La BPCO è una malattia dell'apparato respiratorio caratterizzata da ostruzione al flusso aereo, cui contribuiscono in varia misura alterazioni bronchiali (bronchite cronica) e del parenchima polmonare (enfisema). La BPCO è associata con l'inalazione di sostanze nocive, soprattutto fumo di tabacco, e si manifesta con tosse e catarro cronici e/o dispnea, inizialmente da sforzo e successivamente anche a riposo. Può indurre importanti effetti sistemici ed essere associata a differenti comorbidità legate alla cronicità ed all'invecchiamento.

La BPCO è una malattia multisistemica che causa una limitazione cronica del flusso d'aria ed effetti sistemici.

La diagnosi di BPCO si basa sulla presenza di sintomi respiratori e/o esposizione a fattori di rischio e sulla dimostrazione dell'ostruzione mediante test di funzione respiratoria. La presenza di un rapporto fra volume espiratorio massimo per secondo e capacità vitale (FEV1/VC) che rimane inferiore ai limiti di norma anche dopo somministrazione di un broncodilatatore è criterio sufficiente per confermare il sospetto clinico di malattia. Il rapporto FEV1/FVC <70%, frequentemente utilizzato come limite inferiore di normalità genera una sottovalutazione della malattia (falsi negativi) nei soggetti di età <50 anni e una sopravvalutazione (falsi positivi) nei soggetti di età >50 anni.

Le cause principali della BPCO sono il fumo e l'inquinamento ambientale, che agiscono attraverso l'interazione con il patrimonio genetico. Il CI è associato ad uno stadio di BPCO grave e ne aumenta la mortalità. Finora non sono state proposte spiegazioni adeguate per l'associazione osservata tra la BPCO e il CI. La BPCO è associata ad un invecchiamento prematuro

caratterizzato da un processo cronico infiammatorio, una condizione che può avere un ruolo nell'insorgenza del CI. Infatti la BPCO mostra diverse caratteristiche di invecchiamento condivise con il CI, compreso il danno ossidativo al DNA. Tuttavia, non è chiaro se la BPCO e il CI sono causalmente correlati o se questo collegamento è il risultato di fattori di rischio condivisi, come l'invecchiamento, il fumo e/o l'inattività fisica. L'associazione tra BPCO e CI è significativa anche dopo la correzione per comorbidità (per esempio cardiovascolare) e altre covariate (ipossiemia e ipercapnia).

La riabilitazione respiratoria (RR) ha dimostrato di essere la più efficace strategia terapeutica per migliorare la dispnea, lo stato di salute e la tolleranza allo sforzo. È il trattamento più appropriato per la maggior parte dei pazienti con BPCO. Per tutti i gradi di gravità della malattia sono stati osservati miglioramenti nella capacità funzionale da sforzo e nella qualità di vita legata alla salute. La RR inoltre aumenta la partecipazione ad attività fisiche e sociali, sebbene le evidenze siano solide soprattutto per i pazienti con malattia da moderata a grave. I benefici della RR sono presenti anche in pazienti con insufficienza respiratoria cronica ipercapnica.

Integrata nel trattamento individuale del paziente, la RR ha lo scopo di ridurre i sintomi, ottimizzare lo stato funzionale, aumentare la partecipazione sociale e ridurre il consumo di risorse sanitarie attraverso la stabilizzazione o il miglioramento della malattia.

In letteratura sono stati condotti 5 studi su pazienti con BPCO sottoposti a RR, ma tra questi solo uno studio ha dimostrato che il CI diminuisce l'aderenza alle terapie farmacologiche e non farmacologiche [Pierobon et al., 2017]. Mentre è ben noto che un punteggio di MMSE $\leq 23/24$ è predittivo di una minore aderenza alla terapia inalante, non è stato studiato l'impatto del CI sugli out come della RR.

Dati suggeriscono che pazienti BPCO con MMSE $\leq 23/24$, quando sottoposti al test del Cammino (6MWT) percorrono meno metri rispetto a coloro che hanno un punteggio MMSE >24 [Ozyemisci-Taskiran et al., 2015; Yazar et al., 2018]. Diversamente Cleutjens *et al.* (2018) non hanno riportato differenze.

Tuttavia altri lavori hanno dimostrato che i partecipanti ai programmi di RR mostrano un miglioramento nei test cognitivi. Nelle nostre conoscenze, non esiste una letteratura scientifica che descriva contemporaneamente le associazioni tra CI e la risposta alla RR in pazienti con la BPCO e/o insufficienza respiratoria cronica.

I pazienti con insufficienza respiratoria cronica e/o BPCO, e con decadimento cognitivo (CI), rispondono meno alla riabilitazione respiratoria (RR) in termini di outcome rispetto a coloro che non mostrano decadimento cognitivo.

I risultati sono importanti alla luce di un approccio personalizzato in accordo alla cosiddetta "P4 medicine" (predittiva, preventiva, personalizzata e partecipatoria) per la quale si sta proponendo la trasformazione in P5 con l'introduzione degli aspetti psico-cognitivi, con il proposito di promuovere l'empowerment del paziente, la sua qualità di vita e renderlo più responsabile del proprio processo di cura.

L'obiettivo primario dello studio risiede nello studiare se e in che misura il CI in pazienti con insufficienza respiratoria cronica e/o BPCO influisca sugli outcome della riabilitazione polmonare, analizzando i parametri funzionali e respiratori estratti dalle cartelle cliniche riabilitative di tali pazienti.

Obiettivi secondari:

- . Indagare le caratteristiche cliniche, demografiche e di qualità di vita dei pazienti con insufficienza respiratoria cronica e/o BPCO con compromissione cognitiva.
- . Validazione dei parametri psico-cognitivi (P5) come marker di risposta alla RR.

Tutti i pazienti ammessi consecutivamente presso l'Unità di Riabilitazione Respiratoria del IRCCS San Raffaele Pisana dal gennaio 2012 al dicembre 2019.

Sono stati inclusi nello studio pazienti con diagnosi di BPCO e/o Insufficienza respiratoria cronica e pazienti ai quali sia stato somministrato il Mini Mental State Examination (MMSE)

Negli ultimi anni sta assumendo sempre più importanza la Real Life, ossia l'osservazione dei dati provenienti dalle cartelle cliniche dei pazienti, alla base della Real Word Evidence (RWE),

una medicina basata sull'evidenza. La raccolta dei real word data (RWD) non coinvolge, non influisce e non modifica la normale assistenza clinica al paziente, inclusa la scelta del trattamento.

La RWE può contribuire alla comprensione dei benefici e dei rischi per i pazienti durante l'utilizzo di farmaci specifici senza le rigide regole degli studi clinici controllati.

In questo studio sono raccolti i dati provenienti dalle cartelle cliniche riabilitative dei pazienti con insufficienza respiratoria cronica e/o BPCO, afferenti all' Unità di Riabilitazione Respiratoria, dell'IRCCS San Raffaele Pisana, negli anni 2012-2019.

La banca dati a disposizione è analizzata ed organizzata in base a:

a) Diagnosi del paziente

b) Caratteristiche demografiche del paziente: età, sesso, scolarità, stato civile, presenza di un caregiver

c) Presenza di comorbidità

d) Livello cognitivo (punteggio MMSE)

c) Parametri funzionali e respiratori: test del cammino (6MWT); scala Borg e Medical Research Council (MRC) per la valutazione della dispnea; scala Barthel per la valutazione del livello di indipendenza nelle attività della vita quotidiana.

d) Qualità di vita: St. George's Respiratory Questionnaire (SGRQ) e Mageri Respiratory Failure-26 (MRF-26), per la valutazione della qualità di vita legata allo stato di salute.

Ci si aspetta di individuare in maniera precoce MCI e personalizzare la terapia riabilitativa.

Endpoint primario: esito del trattamento riabilitativo effettuato: l'efficacia della riabilitazione sarà valutata osservando il miglioramento in termini di metri guadagnati nel 6MWT (Delta). I pazienti rispondenti alla riabilitazione devono mostrare un incremento di almeno 30 metri nel 6MWT, rispetto ai valori basali in entrata in reparto [28]. Confronto dei Delta 6MWT dei pazienti con CI (MMSE score<23.86) con i valori dei pazienti senza CI.

Endpoint secondari:

- . Punteggi ottenuti nelle scale Borg e Medical Research Council (MRC) per la valutazione della dispnea, in pazienti con CI (MMSE score<23.86) e loro confronto con i valori dei pazienti senza CI.
- . Punteggi ottenuti nella scala Barthel per la valutazione del livello di indipendenza nelle attività della vita quotidiana, in pazienti con CI (MMSE score<23.86) e loro confronto con i valori dei pazienti senza CI.
- . Punteggi ottenuti nei questionari St. George's Respiratory Questionnaire (SGRQ) e Mageri Respiratory Failure-26 (MRF-26), per la valutazione della qualità di vita legata allo stato di salute, in pazienti con CI (MMSE score<23.86) e loro confronto con i valori dei pazienti senza CI.

Una individuazione precoce di CI in pazienti con BPCO anche se documentata in letteratura non è ancora nella prassi clinica. Una identificazione precoce potrebbe permettere il suo rallentamento verso forme più gravi di deterioramento cognitivo e permetterebbe un approccio personalizzato a questi pazienti.

La gestione della BPCO risulta complessa: in Italia è una malattia respiratoria molto diffusa con alti costi e sostenibilità per il SSN. La BPCO negli anziani è spesso associata con diverse comorbidità. La compromissione cognitiva è una delle caratteristiche più comuni nei pazienti con BPCO, ed è associata alla gravità della BPCO e alla comorbidità. La compromissione cognitiva associata alla BPCO aumenta i requisiti di assistenza nei diversi aspetti della vita quotidiana, nell'aderenza al trattamento, ed nella autogestione una diagnosi precoce di CI potrebbe orientare il trattamento di questi pazienti con benefici verso il paziente stesso e minor impatto economico per il SSN.

Laboratorio di Bioingegneria della Riabilitazione

Implementazione di modelli di Health Technology Assessment (HTA): valutare l'impatto degli strumenti e gli approcci per la gestione della tecnologia

Nell'ambito delle nuove acquisizioni delle apparecchiature, già da vari anni si sono sviluppate metodologie che permettono di valutare la necessità, economicità, miglioramento dell'inserimento di nuove tecnologie emergenti o sviluppi di tecnologie già assodate.

Tali metodi vanno sotto il nome di *Health Technology Assessment* (HTA) e permettono una valutazione multidisciplinare coinvolgendo i diversi professionisti e stakeholder del processo sanitario, valutando l'impatto di queste innovazioni in ambito sia ospedaliero che a livello locale e territoriale.

Tali analisi permettono anche di capire come meglio acquisire una carta tecnologia, scegliendo fra le possibilità permesse a livello legislativo.

A seguito della risoluzione WHA67.23 del 24/5/2014 l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha invitato gli Stati Membri a provvedere alla pianificazione dell'istituzione di sistemi nazionali di valutazione indipendente degli interventi sanitari e delle tecnologie, per favorire l'utilizzo sistematico di tali valutazioni a supporto della copertura sanitaria universale e per informare le decisioni politiche.

A livello nazionale, le misure promosse colmano la necessità di individuare le priorità, la selezione, la gestione del sistema di approvvigionamento e l'uso di interventi sanitari e/o tecnologie, nonché la formulazione di sistemi di finanziamento sostenibili per gli interventi previdenziali, la farmaceutica, linee guida per la pratica clinica e protocolli per programmi di salute pubblica.

A livello locale, anche le singole strutture sanitarie hanno colto la necessità di modulare le proprie procedure decisionali di gestione alla luce delle linee guida multidisciplinari indicate dagli organismi nazionali e transnazionali. In questo ambito, l'IRCCS San Raffaele Roma ha preposto a tal fine il Nucleo di Health Technology Assessment (HTA) che, nominato nel 2015, si occupa della valutazione della tecnologia medica, analizza, mediante un approccio multidimensionale e multidisciplinare, una tecnologia/dispositivo per quanto concerne tutti gli aspetti tecnici, medico-clinici, sociali, epidemiologici, organizzativi, legali ed etici per poterne comprendere e disporre l'acquisizione, la gestione, il governo, l'utilità reale e potenziale.

L'insieme strutturato di strategie e metodi per l'HTA permette di ottimizzare: la pianificazione degli acquisti, la formazione di personale sanitario, il supporto alla pianificazione degli investimenti tecnologici.

La natura variabile e complessa delle tecnologie sanitarie, combinata con i budget nazionali limitati, ha dato luogo al contrasto fra l'esigenza di erogare cure costo-efficaci e il potenziamento della ricerca e dell'innovazione all'interno delle strutture ospedaliere. È diventato sempre più importante cercare un equilibrio fra cure eque e sostenibili da un lato e l'uso di tecnologie sanitarie innovative dall'altro. L'Health Technology Assessment (HTA) rappresenta un potente strumento di collegamento tra l'ambito tecnico-scientifico e quello decisionale, permette infatti di determinare, in maniera oggettiva, quali tecnologie sono inefficienti, quando invece il loro uso è appropriato e quali danno "value for money".

Implementazione e valutazione di una piattaforma informatica per la gestione delle molteplici richieste di acquisto e valutazioni relative in modo condiviso, garantendo un'analisi dei costi comune e un vantaggio sulle decisioni di investimento sia da un punto di vista economico che di efficacia.

In questo progetto è stata proposta un'operazione di implementazione delle procedure di valutazione già indicate dai manuali operativi stilati in struttura dal nucleo di HTA, dagli ingegneri clinici del gruppo e dalle Direzioni Sanitarie. La possibilità di implementare in via

informatica questa procedura è di fondamentale importanza, in quanto, l'Istituto San Raffaele, può gestire le molteplici richieste di acquisto e valutazioni relative in modo condiviso, garantendo un'analisi dei costi comune e un vantaggio sulle decisioni di investimento sia da un punto di vista economico che di efficacia. Nel 2020 l'implementazione di HTA ha permesso l'introduzione di nuove tecnologie per prestazioni di stimolazione percutanea del nervo tibiale (PTNS).

Il protocollo di cura e il processo assistenziale è stato e sarà ottimizzato facendo seguito alle evidenze espresse nei report HTA.

L'implementazione del processo di HTA e la sua standardizzazione in una piattaforma fa sì che le informazioni incluse nei rapporti siano analizzate e valutate per quanto riguarda l'obiettività, le possibili distorsioni, la trasparenza, ed eventuali conflitti di interesse. Nello scenario italiano, in cui i tagli lineari sembrano essere in antitesi con l'HTA, questo strumento è nato allo scopo di generare qualità razionalizzando le risorse, il che non sempre si traduce in una riduzione dei costi, ma se usato nel modo appropriato può essere un valido strumento per ridurre le inefficienze, disinvestire in tecnologie obsolete e, quindi, operare un'ottimizzazione del sistema sanitario, rappresentando un'alternativa ai "tagli lineari".

È necessario stabilire una matrice di criteri che consenta di definire il peso di ogni aspetto del processo valutativo: l'importanza da attribuire ad ognuno di essi dipende dagli obiettivi dell'organo/agenzia che si occupa di HTA, dal livello a cui essa opera e da chi è coinvolto nella valutazione.

Sviluppo e validazione di tecnologie per la teleriabilitazione e il tele monitoraggio

Gli studi demografici mostrano una popolazione europea in continuo aumento e in progressivo invecchiamento: il numero di persone con età maggiore ai 50 anni ha superato i 150 milioni. Le proiezioni sugli anni a venire confermano che l'aumento dell'età media della popolazione sarà accompagnato da una domanda di servizi sanitari in continuo aumento e come questo comporti una seria difficoltà da parte delle esistenti strutture ed operatori sanitari a soddisfare le esigenze di tutti i pazienti, a meno di un sensibile incremento delle risorse economiche allocate. L'attuale situazione economica rende questa strada difficilmente praticabile, se non impossibile, con gli attuali strumenti e soluzioni in campo.

Le tecnologie per l'informazione e telecomunicazione (ICT) possono essere una soluzione efficace a questi problemi, contribuendo a colmare il divario tra domanda e offerta, aiutando a migliorare la qualità dei servizi e a facilitarne l'accesso da parte dei cittadini e dei pazienti.

Le iniziative eHealth tendono a dimostrare come sia possibile migliorare l'accesso alle cure, ponendo il cittadino al centro dei sistemi sanitari. Questo all'interno di un obiettivo generale più ampio che è quello di contribuire ad accrescere l'efficienza generale e la sostenibilità del settore sanitario, aumentando la qualità delle cure e abbattendone l'impatto economico. L'Italia non fa eccezione e le iniziative eHealth nazionali e locali si inseriscono nel quadro generale di modernizzazione dei servizi sanitari, pubblici, privati e convenzionati, previsto dall'Agenda Digitale Italiana.

In questo ambito, il presente progetto ha proposto la validazione della fattibilità, dell'efficacia e dell'accettazione di strumentazioni multipurpose che realizzino piattaforme applicative di Teleriabilitazione e telemonitoraggio.

Negli ultimi 15 anni c'è stata una riduzione delle ospedalizzazioni nei pazienti con ictus, i pazienti sono costretti a tornare nelle loro case anche senza aver completato il loro percorso di riabilitazione, in contrasto con ciò che affermano le moderne teorie di riabilitazione motoria e cognitiva dopo una lesione cerebrale, che confermano l'importanza del continuo monitoraggio delle prestazioni e del feedback da somministrare con continuità al paziente. Ovviamente questa situazione può avere un impatto negativo sul recupero delle capacità funzionali, in particolare su quelle degli arti superiori e sulle abilità cognitive. In questo scenario, l'applicazione di

“Information and Communication Technology” (ICT) può essere lo strumento giusto per coprire la domanda riguardante il processo di riabilitazione, anche con il paziente dimesso dall'ospedale. Al giorno d'oggi sono stati fatti molti progressi ma non sono molte le piattaforme in grado di coprire la domanda per il perseguimento della riabilitazione una volta che il paziente è stato dimesso dall'ospedale. L'ICT può quindi:

- consentire di avere un'interazione tra paziente e personale medico
- azzerare la necessità (o il bisogno) di trasporto
- garantire con continuità le cure tra l'ospedale e il paziente
- tutelare l'equità tra l'accesso ai vari servizi sanitari locali

È fondamentale quindi un processo di implementazione, validazione, valutazione della fattibilità e dell'efficacia clinica della teleriabilitazione e del telemonitoraggio

Lo studio si prefigge di:

- implementare e sviluppare esercizi riabilitativi (motori, logopedici, cognitivi) che possano essere integrati in una piattaforma domiciliare
- valutare l'efficacia clinica
- valutare l'accettazione della tecnologia da parte di pazienti neurologici
- valutare i volumi di uso delle piattaforme ICT durante il programma riabilitativo domiciliare.

Questionario sulla base dell'accettazione della tecnologia (TAM+) utilizzato per valutare e spiegare l'accettazione delle nuove tecnologie. Le scale di valutazione di questo test sono state validate in molti contesti.

I pazienti, per ogni dominio devono rispondere a diverse domande, indicando il loro grado di disaccordo/accordo con un voto da 1 a 7. Il voto 4 significava un atteggiamento neutrale rispetto all'affermazione riportata dall'intervistatore.

La valutazione dello stato fisico e cognitivo avviene per mezzo di scale cliniche quali:

- Fugl-Meyer Test
- Frenchay Arm Test
- Box and Block Test
- Modified Ashworth Scale
- Modified Bartel Index
- Chedoke-McMaster Stroke Assessment
- MMSE.

Utilizzando diversi modelli e strumenti, sarà studiata l'accettazione della tecnologia, l'esperienza dei partecipanti, le modalità e l'intensità dell'uso e gli effetti potenziali sulla qualità della vita e sullo stato clinico.

La teleriabilitazione e il telecontrollo sono tecnologie irrinunciabili per il futuro della gestione clinica dei pazienti cronici.

Lo studio di metodi per la somministrazione di riabilitazione, l'implementazione di esercizi motori, logopedici e cognitivi che possono essere svolti grazie agli ausili dell'ICT in modo automatico o non controllato in modo sincrono, la validazione clinica e lo studio di impatto potenziale sulle attività della vita quotidiana, sono tutte tappe fondamentali della ricerca nel campo dell'innovazione in riabilitazione.

Sono inclusi nello studio:

- pazienti di entrambi i sessi con ictus in fase cronica
- età maggiore di 18 anni
- primo ictus unilaterale ischemico con deficit dell'arto superiore/della mano clinicamente evidente
- distanza dall'evento acuto maggiore di 6 mesi
- diagnosi verificata mediante imaging cerebrale (MRI)
- funzione cognitiva sufficiente per comprendere le istruzioni sperimentali
- valutazione dell'ictus con punteggio scala Chedoke-McMaster superiore a 1

Criteri di esclusione:

- disfunzione bilaterale

- deficit sensoriali gravi dell'arto superiore paretico
- deterioramento cognitivo o disfunzione comportamentale
- rifiuto o incapacità di firmare il consenso informato
- altri gravi problemi medici presenti

I soggetti arruolati vengono inseriti in modo casuale nel Gruppo Sperimentale domiciliare (GS) e nel Gruppo di Controllo (GC). Il GS accede al trattamento domiciliare grazie all'uso di un monitor o tablet e di un sistema hardware accessibile a basso costo basato su tecnologia di consumo per facilitare la tele-riabilitazione. In particolare, viene proposta un'applicazione web-based o stand-alone utilizzata per allenare i pazienti e per ricevere un feedback sui loro progressi (numero di sessioni svolte, durata delle sessioni, obiettivi raggiunti,...). In tutti i gruppi di partecipanti l'intervento prevede un numero di sedute pre-stabilito su indicazione del personale clinico.

È in corso l'implementazione di un'applicazione web-based su tablet per il trattamento domiciliare con la somministrazione di Terapia dell'Osservazione dell'Azione (AOT) che consente di osservare video di azioni della vita quotidiana e di rieseguire i movimenti mostrati. Il sistema portatile e accessibile consente al paziente di essere monitorato off-line dal fisioterapista di riferimento, di svolgere la terapia riabilitativa direttamente a domicilio e di contattare la clinica nel caso di necessità o per richiedere un supporto tecnico.

Lo studio di nuove piattaforme per la teleriabilitazione e il telemonitoraggio e la loro validazione ha permesso di creare una piattaforma di conoscenze riutilizzabili per definire nuove strategie e nuovi approcci riabilitativi sia a livello locale che a livello nazionale.

La comprensione dei meccanismi di efficacia dei servizi teleriabilitativi sarà di grande aiuto per la pianificazione di linee guida in sanità.

Lo studio ha promosso strategie per l'utilizzo delle nuove tecnologie di telemedicina anche a livello legislativo e normativo.

LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA DELLE PATOLOGIE CRONICO-DEGENERATIVE

Studio osservazionale di sorveglianza epidemiologica SARS-Cov2 su operatori sanitari e pazienti: The IRIS-Cov2 Study

Alla luce delle numerose evidenze che hanno dimostrato il ruolo primario della trasmissione intraospedaliera di SARS-CoV2 nella diffusione dell'infezione e di conseguenza nell'aumento dei casi nosocomiali di COVID-19, l'IRCCS San Raffaele Pisana, nella sua qualità di Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico, ha ritenuto opportuno effettuare, nell'ambito della Ricerca Corrente, uno studio osservazionale volto a determinare la diffusione di SARS-CoV-2 su personale sanitario e pazienti della struttura, confrontandolo con quella riscontrata in un campione di individui adulti sani. Infatti, come ricordato anche nel documento pubblicato dall'ISS "Indicazioni ad interim per la prevenzione e il controllo dell'infezione da SARS-CoV-2 in strutture residenziali sociosanitarie" sia gli anziani che le persone affette da gravi patologie neurologiche, croniche ecc. sono popolazioni fragili e a maggior rischio di evoluzione grave se colpite da COVID-19. Inoltre, è importante sottolineare che le strutture ospedaliere, soprattutto quelle dedicate a pazienti cronici, così come altre comunità semichiuse, sono anche a maggior rischio di microfocolai epidemici che colpiscono anche il personale sanitario. Quindi, è molto importante effettuare controlli periodici su tutto il personale sanitario che opera nelle strutture ospedaliere sia per garantirne lo stato di salute evitando il rischio di una eventuale contaminazione, sia per prevenire la possibile trasmissione dell'infezione dalla comunità all'ospedale.

Un altro aspetto critico per prevenire l'infezione in tali strutture è il controllo della colonizzazione nei pazienti in ammissione. La negatività per SARS-CoV-2 dovrebbe essere infatti monitorata in modo rigoroso in questi pazienti prima del loro collocamento nei vari reparti. Sulla base di tali premesse, lo studio si è proposto di determinare la presenza di SARS-

CoV-2 attraverso il monitoraggio mediante tamponi nasofaringei effettuati su personale sanitario afferente alla struttura e su pazienti ammessi de-novo. Al fine di escludere la possibilità di falsi negativi dovuti ad una bassa carica virale riscontrabile nelle prime fasi dell'infezione (periodo di incubazione) o di eventuali esposizioni che si fossero verificate nei giorni successivi all'esecuzione dell'esame, lo studio prevedeva la ripetizione del tampone ad intervalli settimanali per tre settimane.

L'iniziale mancanza di dati certi relativi ai meccanismi di trasmissione nosocomiale in confronto a quanto avveniva in comunità, ha reso ragionevole la proposta di condurre uno studio con molteplici obiettivi:

- permettere l'attuazione di un programma di sorveglianza mirato da una parte a garantire la sicurezza per i dipendenti della struttura, dall'altra la sicurezza dei pazienti in via di ammissione o già ricoverati;
- stimare la prevalenza puntuale delle infezioni da SARS-CoV-2 in operatori asintomatici e in un campione di pazienti nei reparti di riabilitazione;
- descrivere le caratteristiche epidemiologiche dell'infezione con particolare attenzione ai meccanismi di trasmissione tra personale-paziente o viceversa, per tipologia di pazienti e specialità;
- utilizzare i risultati ottenuti al fine di formare e rafforzare le competenze di sorveglianza e pianificare studi per applicare e validare strategie preventive;
- confrontare le prevalenze osservate e le caratteristiche dell'infezione con un campione di individui adulti sani (Real-life) proveniente da ambiti non sanitari, anche analizzando la risposta anticorpale per mezzo di test sierologici rapidi.

Lo studio è stato condotto in modalità "monocentrica" presso la struttura IRCCS San Raffaele Pisana, la quale, sulla base delle sue caratteristiche e prestazioni, si dimostrava in grado di garantire la numerosità necessaria ed il giusto case-mix e che ha permesso di valutare eventuali interazioni fra infezione e patologia preesistente. Lo studio è stato effettuato sugli operatori sanitari in attività presso la struttura che hanno avuto un rapporto diretto con i pazienti ricoverati previa firma del consenso informato. Lo studio, quindi, ha coinvolto medici, infermieri e terapisti. La sorveglianza sui nuovi ammessi è stata effettuata sui nuovi ricoveri a partire dal 4 maggio.

In base al dimensionamento campionario predisposto dall'Unità di Epidemiologia e Biostatistica dell'Istituto, sono stati arruolati 375 soggetti, suddivisi nelle categorie previste dallo studio nel seguente modo: 218 operatori sanitari, 56 pazienti ricoverati presso IRCCS San Raffaele Pisana e 101 gruppo Real life.

Lo studio ha previsto l'esecuzione dei tamponi nasofaringei, processati con metodica Real Time PCR (AllplexTM 2019-nCoV Assay), ripetuti al tempo 0 (I prelievo), tempo 1 (7 giorni) e tempo 2 (14 giorni). AllplexTM 2019-nCoV Assay è una multiplex Real-time PCR che rileva e identifica il nuovo coronavirus utilizzando tre geni target (N-gene, E-gene, RdRP-gene) ed è conforme ai protocolli internazionali per la rilevazione del virus. Per determinare la risposta anticorpale al T2 è stato eseguito il pick test, tale analisi sierologica è stata eseguita utilizzando il test rapido a cassetta IgG/IgM per COVID-19 saggio immunocromatografico rapido a flusso laterale.

Nella fase preliminare dello studio, presso il laboratorio di microbiologia delle patologie cronico neurodegenerative è stato messo a punto un protocollo di disattivazione del virus, preservando il genoma virale, così da garantire la sicurezza dell'operatore e l'efficienza del test. Gli studi preliminari sono stati eseguiti utilizzando il virus dell'influenza di tipo A (PR8 H1N1). Il virus è stato incubato con il tampone disattivante (preparato in laboratorio) a diversi tempi e successivamente il genoma virale è stato estratto con diversi kit di estrazione commerciali e con una metodica home made e analizzato in rt-PCR.

Per ciascun soggetto dopo aver firmato il consenso informato è stato eseguito il tampone, per un totale di tre campionamenti (T0, T1, T2).

Il tampone nasofaringeo è stato effettuato da uno degli sperimentatori coinvolti nello studio, formato per eseguire il tampone. I campioni sono stati etichettati con un codice alfanumerico che identifica la struttura, le iniziali del medico prelevatore, il codice numerico che identifica la persona seguito da I,II o III se si tratta del I, II o III campione, la data del campione. Infine, sono stati inviati al Laboratorio SARS-CoV2 del S. Raffaele di via di Val Cannuta e processati come indicato in precedenza.

In caso di positività del campione, il risultato è stato immediatamente comunicato dal responsabile scientifico dello studio al Direttore Scientifico del San Raffaele Pisana che ha informato il Direttore Sanitario della struttura che a sua volta ha comunicato l'esito all'ASL.

In caso di negatività il Direttore Scientifico ha comunicato l'esito al diretto interessato.

Per il gruppo Real Life e operatori sanitari il primo tampone è stato eseguito il 26 marzo 2020 e ripetuto ad intervalli di due settimane come prima descritto. Il numero totale di soggetti esaminati per il gruppo Real life era di 101 e tutti sono risultati negativi. A questo gruppo, in corrispondenza del tampone eseguito al T2, è stato contestualmente eseguito il test sierologico che ha dato esito negativo in tutti i soggetti.

L'analisi dei tamponi eseguiti sugli operatori sanitari della struttura San Raffaele Pisana è iniziata il giorno 10/4/20. In totale, sono stati analizzati con tamponi consecutivi 218 operatori sanitari. Un solo operatore che, in quanto contatto, avrebbe dovuto rientrare al lavoro al termine del periodo di quarantena disposto dalla ASL di competenza, è stato analizzato prima di essere riammesso al lavoro. Essendo risultato positivo, il risultato è stato immediatamente comunicato alla ASL e di conseguenza, il dipendente non è stato riammesso al lavoro.

Dall'analisi sierologica, 11 operatori sanitari (5%) sono risultati positivi alle immunoglobuline IgG. Essendo risultati negativi tutti i tamponi eseguiti nel periodo di studio, non è stata predisposta alcuna misura di allontanamento.

I primi pazienti ricoverati presso IRCCS San Raffaele Pisana sono stati arruolati nello studio il 4 maggio (Reparto Riabilitazione respiratoria). Lo studio è stato interrotto il 3 giugno a causa delle positività riscontrate. In totale sono stati analizzati 56 pazienti che, a causa della interruzione dello studio, hanno potuto eseguire solo il primo tampone. Il 2 giugno, tre pazienti sono risultati francamente positivi per la presenza dei 3 geni (5%), mentre l'analisi di altri 3 pazienti mostrava una positività da controllare in quanto le curve relative ai tre geni si positivizzavano a numero alto di cicli (32-39). Dei pazienti esaminati, nessuno è risultato positivo agli anticorpi IgM o IgG. La positività è stata immediatamente comunicata agli organi di competenza che sono prontamente intervenuti per attuare tutte le misure per il contenimento del focolaio ed il contact tracing.

Lo studio è stato di conseguenza interrotto.

Lo studio, nel suo insieme, ha messo in luce l'importanza della sorveglianza e del contact tracing nel contenimento dell'infezione da SARS-CoV2. Infatti, la precoce rilevazione di positività in pazienti e operatori sanitari e la conseguente tempestiva comunicazione alla ASL di competenza ha permesso di adottare tempestivamente le misure necessarie e bloccare sul nascere un focolaio di infezione che avrebbe potuto avere conseguenze devastanti.

Nel corso del progetto, sono state inoltre, valutate varie metodiche per l'estrazione di RNA virale dai tamponi nasofaringei. Quest'ultimo studio, che ha dato luogo ad una pubblicazione scientifica, ha consentito di mettere a punto anche metodiche *homemade* che non prevedano l'utilizzo di Kit commerciali, obiettivo importante alla luce della carenza di materiali nel corso della pandemia.

Ruolo dei virus nell'insorgenza, nella progressione e nelle complicanze di patologie cronico-degenerative

È ormai ampiamente dimostrato che i microrganismi, in particolare i virus, sono coinvolti nell'innesco, nella progressione e nelle complicanze di patologie croniche non trasmissibili. Per la loro capacità di infettare, persistere e riattivarsi nell'ospite, alcuni virus sono stati riconosciuti

come fattori implicati in varie patologie cronico-degenerative del sistema nervoso centrale (SNC). I virus neurotropi infatti, pur iniziando il processo infettivo in un sito distante (come mucose, pelle, intestino) sono in grado di raggiungere il SNC superando la barriera ematoencefalica attraverso i nervi periferici, oppure attraverso le cellule del sistema immunitario, come è stato dimostrato ad esempio per alcuni virus respiratori.

Recentemente, anche il SARS-CoV-2, responsabile della pandemia ancora in corso, è stato ritrovato nei neuroni e nelle cellule endoteliali del lobo frontale di un paziente *post-mortem*. Per alcune patologie, è stato dimostrato un ruolo causale, come per la panencefalite sclerosante subacuta, una forma rara e progressiva di malattia infiammatoria del cervello causata dal virus del morbillo; recentemente, un importante fattore di rischio per l'Alzheimer è stato riscontrato nelle riattivazioni ricorrenti di HSV1.

Per altre patologie neurodegenerative, quali Parkinson e sindrome di Guillain-Barré, il ruolo delle infezioni virali è meno chiaro. Un'ipotesi è che i virus mantengano uno stato neuroinfiammatorio, sia direttamente, che indirettamente, attraverso l'attivazione della risposta immunitaria antivirale; è noto che i virus inoltre inducono un forte sbilanciamento dello stato redox intracellulare verso condizioni pro-ossidanti, con rilascio di allarmine redox-sensibili che potrebbero contribuire al danno. Tuttavia, i meccanismi eziopatogenetici, probabilmente condivisi da più microrganismi, e risultanti da una complessa interazione microrganismo-ospite, non sono ancora chiari.

Nel caso della Sclerosi Multipla, un'altra patologia neurodegenerativa che colpisce il SNC, è ormai risaputo che l'uso di farmaci modificanti il decorso della malattia (DMTs), è spesso correlato ad un aumento di infezioni opportunistiche, come quella sostenuta dal polyomavirus umano JC (JCPyV), agente eziologico di una malattia demielinizzante e spesso fatale, la Leucoencefalopatia Multifocale Progressiva (PML). I primi casi di PML si sono verificati nel 2005, in seguito al trattamento di pazienti affetti da SM con il Natalizumab (NTZ), un anticorpo monoclonale che esplica il suo meccanismo d'azione legandosi alla subunità alfa4 espressa sulla superficie dei leucociti. Tale legame previene l'adesione dell'integrina al suo recettore il che impedisce la migrazione dei leucociti attraverso la BEE e sopprime la risposta immunitaria mediata dai linfociti T. Se da una parte il meccanismo d'azione del NTZ mitiga la cascata infiammatoria nei pazienti affetti da SM, la diminuzione dell'immunosorveglianza può favorire la riattivazione di JCPyV dalla latenza/persistenza. Ad oggi, sono stati confermati più di 800 casi in pazienti trattati con questo farmaco, con un tasso di mortalità superiore al 20% e sostanziale morbilità nei sopravvissuti. L'armamentario terapeutico per il trattamento della SM si è recentemente arricchito di due nuovi farmaci, la Cladribina (Clad) e l'Ocrelizumab (Ocre), i quali, pur esercitando una profonda azione soppressiva più o meno prolungata sul sistema immunitario, sembrano essere correlati con un rischio minore alla PML. Tuttavia, non è chiaro, se il rischio minore sia dovuto al meccanismo d'azione con cui questi farmaci agiscono sul sistema immunitario, o se si tratti, invece, di una sottostima del fenomeno dovuta al basso potere diagnostico dei biomarcatori in uso. Il rischio di PML nei pazienti trattati con NTZ è determinato mediante l'utilizzo di una scala specifica, STRATIFY INDEX, che tiene conto del livello plasmatico di anticorpi anti-JCV, del numero totale di infusioni di NTZ e della precedente esposizione a terapie immunosoppressive.

L'insufficienza respiratoria derivante da infezioni e infiammazioni croniche delle vie aeree, inoltre, rappresenta ancora la principale causa di morte negli individui affetti da fibrosi cistica (FC), una malattia genetica multiorgano caratterizzata, tra le altre cose, da esacerbazione polmonare ricorrente [14, 15]. L'impatto delle infezioni nella FC, oltre a causare direttamente gravi sintomi respiratori può promuovere, indirettamente, la persistenza batterica e le infezioni batteri-virus, peggiorando così le esacerbazioni. Mentre i patogeni virali più comuni nella FC sono stati identificati, il coinvolgimento dei poliomavirus umani (HPyVs) rimane poco chiaro. In particolare, il ruolo del polyomavirus a cellule di Merkel (MCPyV) come patogeno respiratorio è controverso e il suo coinvolgimento nella FC è stato scarsamente studiato. Comprendere i meccanismi molecolari e cellulari alla base dei processi di esacerbazione che contribuiscono al

declino della funzionalità respiratoria e dello stato di salute generale del paziente, potrebbe contribuire non solo a predire riacutizzazioni, andamento clinico e prognosi delle patologie respiratorie ma potrebbe anche ridurre i costi sanitari principali associati a queste malattie.

Il progetto si fonda sull'ipotesi che diversi virus sono in grado di modulare l'insorgenza, l'evoluzione e le complicanze di patologie cronico-degenerative non trasmissibili a carico di diversi sistemi ed organi, come il SNC e il polmone. Lo studio potrà contribuire a mettere in luce nuovi meccanismi eziopatogenetici, la cui conoscenza potrà portare ad individuare nuovi bersagli molecolari per approcci terapeutici innovativi, utili a mettere a punto nuove strategie antivirali che, oltre ad intervenire su possibili complicanze infettive, potranno prevenire l'insorgenza o la progressione di patologie cronico-degenerative. Inoltre lo studio potrà portare ad individuare nuovi biomarcatori utili a monitorare la progressione delle patologie, nonché la risposta a trattamenti terapeutici e riabilitativi. Nel caso specifico dei pazienti SM trattati con farmaci come Clad e Ocre, per cui nessun parametro per predire il rischio di PML è ad oggi disponibile, i risultati di questo studio potranno contribuire all'identificazione di biomarcatori di riattivazione di JCPyV e quindi di rischio di insorgenza di PML. Tali biomarcatori potrebbero essere introdotti nella pratica clinica al fine di migliorare la stratificazione del rischio di PML, ottenere una diagnosi tempestiva, un'ottimizzazione dell'uso delle risorse sanitarie e una riduzione dei costi diretti e indiretti della malattia.

Nell'ambito delle infezioni del tratto respiratorio, dal momento che le infezioni sostenute da virus sono state associate ad una più severa progressione clinica nei pazienti affetti da patologie croniche respiratorie come la BPCO e la FC, risulta prioritario, definire il ruolo di patogeni virali come gli HPyVs.

Lo studio si propone i seguenti obiettivi specifici:

- identificazione e caratterizzazione di meccanismi indotti dai virus che contribuiscono alla patogenesi di malattie cronico-degenerative del SNC e del polmone, con particolare riguardo alle variazioni dello stato redox intra ed extracellulare come fattore di regolazione della replicazione virale e della risposta immunitaria e infiammatoria dell'ospite;
- valutazione dell'efficacia di diverse molecole naturali e di sintesi nell'inibire l'attivazione di vie di segnalazione coinvolte nei processi infettivi e infiammatori;
- ricerca di potenziali biomarcatori che possano avere un ruolo predittivo e prognostico nelle patologie cronico-degenerative;
- allestire modelli in vitro al fine di studiare in modo approfondito il ciclo biologico di MCPyV ed il ruolo di tale virus nelle infezioni respiratorie.

Sulla base della letteratura e di alcuni dati preliminari ottenuti nel laboratorio di Microbiologia delle patologie cronico-degenerative, ci si aspetta che questo studio possa contribuire alla identificazione di meccanismi redox-regolati indotti da diversi microrganismi che possono contribuire all'insorgenza e alla progressione di malattie cronico-degenerative. La conoscenza di tali meccanismi potrà portare alla individuazione di nuovi bersagli per la prevenzione e la terapia così come di nuove molecole antimicrobiche.

Inoltre, i risultati ottenuti, potranno contribuire all'individuazione di biomarcatori utili per una diagnosi precoce e per il monitoraggio della progressione delle patologie o della risposta a trattamenti terapeutici e riabilitativi.

L'allestimento di modelli cellulari potrà contribuire a colmare il deficit di conoscenze rispetto al coinvolgimento di MCPyV nelle infezioni respiratorie.

La comprensione dettagliata delle interazioni tra microrganismi, risposta infiammatoria e danno cronico, può consentire di far luce su meccanismi patogenetici comuni, aprendo la strada all'individuazione di nuovi bersagli terapeutici e di nuove molecole che potrebbero contribuire a migliorare l'efficacia della terapia farmacologica, del processo riabilitativo e complessivamente l'esito clinico, migliorando la qualità della vita di pazienti affetti da diverse patologie cronico-degenerative.

L'individuazione inoltre, di nuovi biomarcatori sarebbe utile a predire, monitorare la progressione delle patologie e a valutare la risposta a trattamenti terapeutici e riabilitativi.

Per l'identificazione di agenti virali o loro derivati nella patogenesi di malattie cronico-degenerative del SNC e del polmone, per l'analisi di marcatori di neurodegenerazione, così come per la valutazione dell'efficacia antivirale/antiossidante o antiinfiammatoria di nuove molecole naturali e di sintesi, verranno utilizzati:

- un modello sperimentale di infezione da virus influenzali/parainfluenzali in cellule epiteliali, macrofagiche e neuronali, in linea e primarie;
- un modello sperimentale di infezioni da coronavirus in cellule endoteliali;
- un modello sperimentale di infezione da HSV-1, basato su colture primarie di ratto singole o miste (neuronali e gliali, inclusi astrociti e microglia);
- un modello infiammatorio rappresentato da cellule macrofagiche stimulate con Lipopolisaccaride (LPS);
- un modello sperimentale di infezione da MCPyV in cellule respiratorie continue e primarie. La coltivazione delle cellule, la preparazione di virioni di MCPyV, l'infezione, le colorazioni immunofluorescenti (IF) e il metodo FISH saranno messi a punto al fine di rilevare l'infezione da MCPyV seguendo e adattando un protocollo messo a punto da Liu e *collaboratori*.

Per lo studio dello stato redox, i livelli di glutatione saranno dosati mediante HPLC come descritto in, mentre l'analisi delle allarmine glutationilate ed altre proteine redox-sensibili verrà effettuata come in.

In questo studio, inoltre, saranno arruolati circa 100 pazienti affetti da SM e trattati con NTZ, Ocre e Clad e circa 100 pazienti affetti da FC. Campioni di urina e di sangue saranno raccolti dai pazienti affetti da SM sia prima della somministrazione dei farmaci (t0) che durante il follow-up, ogni 4 mesi, per un totale di 36 mesi dall'inizio della terapia. PBMC e plasma saranno isolati dal sangue venoso di tali pazienti. Dai pazienti affetti da FC, un'aliquota di aspirato orofaringeo, di espettorato e di lavaggio bronco alveolare (BAL) sarà testata per la rilevazione degli HPyVs e per analisi microbiologiche di routine. L'estrazione del DNA, la quantificazione dei genomi virali mediante qPCR, l'amplificazione della regione non codificante (NCCR) degli HPyVs ed il sequenziamento della stessa regione, verranno eseguiti seguendo protocolli pubblicati [12,17]. La quantificazione di citochine/chemochine sarà eseguita su campioni di plasma di pazienti affetti da SM e trattati con NTZ, Ocre e Clad utilizzando pannelli di analisi di citochine Bio-Plex seguendo le istruzioni della casa produttrice.

Infine, saranno arruolati circa 100 pazienti dal reparto di Riabilitazione Polmonare del IRCCS San Raffaele Pisana, dai quali verranno prelevati campioni di sangue al momento del ricovero, dopo 10 giorni di degenza e alla fine della terapia riabilitativa di tre settimane. Entro due ore dalla raccolta, i campioni di sangue saranno centrifugati per ottenere il plasma e saranno utilizzati per le successive analisi. I pazienti saranno monitorati anche per la presenza dei virus respiratori più comuni (virus dell'influenza A e B, virus parainfluenzale, virus respiratorio sinciziale umano, coronavirus umani, rhinovirus, adenovirus). Oltre al plasma, saranno utilizzati espettorati e tamponi nasali per l'estrazione di DNA/RNA per la ricerca di virus respiratori. Il DNA e l'RNA totale saranno estratti da plasma e tampone nasale con il "DNA QIAamp / RNA mini kit", o da espettorato con "Ultrasenses Kit". Amplificazione PCR verrà eseguita utilizzando primer per regioni specifiche per ogni virus. Inoltre, per analizzare la composizione del microbiota, il DNA/RNA saranno estratti da campioni di espettorato tramite appositi Kit e identificati tramite tecniche di sequenziamento di nuova generazione. Per la valutazione della farmaco-resistenza, le specie batteriche verranno isolate dall'espettorato piastrandolo su specifici terreni e la crescita microbica quantificata tramite conta del numero di colonie.

Il coinvolgimento del personale del laboratorio in attività di ricerca e controllo inerenti la pandemia da SARS-CoV2 e la riorganizzazione delle strutture cliniche dell'IRCCS in COVID Hospital, hanno causato un rallentamento delle attività previste nel precedente paragrafo. Sono stati comunque ottenuti risultati interessanti così articolati:

Virus influenzale: meccanismi patogenetici legati a malattie cronico-degenerative

È stato dimostrato che l'infezione da virus influenzale di tipo A in cellule bersaglio, rappresentate dalle cellule epiteliali polmonari, induceva la formazione di disolfuri misti, in

particolare proteine glutationilate. Le stesse proteine del virus risultavano glutationilate e la modulazione del processo di glutationilazione sembrava interferire con il ciclo replicativo del virus.

Sono stati messi a punto modelli di infezione di linee cellulari macrofagiche RAW264.7, di neuroblastoma SH-SY5Y e PC12 differenziate in neuroni maturi da parte di diversi ceppi di virus influenzale di tipo A. Nonostante la titolazione dei virus abbia mostrato una bassa produzione virale da parte di queste cellule, rispetto alle cellule epiteliali, l'analisi delle proteine virali intracellulari tramite elettroforesi/western blot con anticorpi specifici ha rilevato la presenza delle proteine virali e quindi la capacità infettante, in particolare del ceppo NWS, in tali modelli. L'analisi dello stato redox ha mostrato uno sbilanciamento in senso pro-ossidante, valutato come diminuzione del glutatione ridotto e aumento di proteine glutationilate. Inoltre, nelle cellule di neuroblastoma (PC12) differenziate in neuroni maturi, colture ricche di neuroni dopaminergici, è stato analizzato un marker di danno neuronale, p- α - sinucleina, la cui espressione risultava aumentata nelle cellule infettate.

Virus JC: infezioni neurotrope in relazione a trattamenti con farmaci biologici

L'armamentario terapeutico per il trattamento della Sclerosi Multipla (SM) si è recentemente arricchito di farmaci, come l'Ocrelizumab, il quale, pur esercitando una profonda azione soppressiva più o meno prolungata sul sistema immunitario, sembrerebbe essere correlato con un rischio minore di Leucoencefalopatia Multifocale Progressiva (PML). Tuttavia, non è chiaro, se il rischio minore sia dovuto al meccanismo d'azione con cui questo farmaco agisce sul sistema immunitario o se si tratti, invece, di una sottostima del fenomeno dovuta al basso potere diagnostico dei biomarcatori in uso. Pertanto, al fine di individuare precocemente eventuali complicanze e garantire la sicurezza dei pazienti in trattamento con ocrelizumab, è stata arruolata una coorte di 35 pazienti sui quali è stato effettuato il dosaggio degli anticorpi anti-JCV (IgM e IgG), è stata valutata l'accuratezza e l'affidabilità dell'indice JCPyV (indicativo della presenza di anticorpi totali), è stata monitorata la carica virale nelle urine (viruria) e nel plasma (viremia) ed è stata valutata l'insorgenza di varianti neurotrope del virus. I livelli di IgM e IgG sono stati valutati sia prima di iniziare la somministrazione di ocrelizumab (T0) che durante la somministrazione del farmaco (T2, 6 mesi dall'inizio della terapia; T4, 12 mesi dall'inizio della terapia). È stato osservato che il titolo IgM diminuiva durante il trattamento con ocrelizumab in modo statisticamente significativo ($p < 0,05$) contrariamente ai livelli di IgG (pre-ocrelizumab, T0 e T4) i quali mantenevano un trend stazionario nel corso del follow up ($p > 0,05$).

Come previsto, la somministrazione di ocrelizumab determinava una diminuzione statisticamente significativa della conta assoluta delle cellule CD19 ($p < 0,05$), confermando che i pazienti rispondevano in modo appropriato al trattamento con farmaci che determinano una deplezione dei linfociti B.

Nonostante la rilevazione del DNA di JCPyV nelle urine, i pazienti con indice JCV $> 1,5$ diminuivano nel corso del follow up (T0-T4) ($p < 0,05$), al contrario dei pazienti con indice $< 1,5$. Questa discrepanza indica che l'indice JCV può sottostimare i pazienti che continuano ad essere positivi per il virus in vari distretti corporei. La mancata rilevazione del DNA di JCPyV nel plasma dei pazienti oggetto dello studio durante il primo anno di trattamento, non ha reso possibile verificare l'insorgenza di varianti neurotrope del virus.

Tali dati confermano che è necessario un monitoraggio combinato degli effetti di ocrelizumab sulla riattivazione di JCPyV e sull'immunità dell'ospite al fine di garantire una migliore previsione di rischio di PML in pazienti trattati con farmaci di nuova generazione.

PUBBLICAZIONI

Vecchio F, Miraglia F, Alù F, Menna M, Judica E, Cotelli M, Rossini PM.

Classification of Alzheimer's Disease with respect to physiological aging with innovative EEG biomarkers in a machine learning implementation.

J Alzheimers Dis. 2020 May 11. [Epub ahead of print]

Several studies investigated clinical and instrumental differences to make diagnosis of dementia in general and in Alzheimer's disease (AD) in particular with the aim to classify, at the individual level, AD patients and healthy controls cooperating with neuropsychological tests for an early diagnosis. Advanced network analysis of electroencephalographic (EEG) rhythms provides information on dynamic brain connectivity and could be used in classification processes. If successfully reached, this goal would add a low-cost, easily accessible, and non-invasive technique with neuropsychological tests.

To investigate the possibility to automatically classify physiological versus pathological aging from cortical sources' connectivity based on a support vector machine (SVM) applied to EEG small-world parameter.

A total of 295 subjects were recruited: 120 healthy volunteers and 175 AD. Graph theory functions were applied to undirected and weighted networks obtained by lagged linear coherence evaluated by eLORETA. A machine-learning classifier (SVM) was applied. EEG frequency bands were: delta (2-4 Hz), theta (4-8 Hz), alpha1 (8-10.5 Hz), alpha2 (10.5-13 Hz), beta1 (13-20 Hz), beta2 (20-30 Hz), and gamma (30-40 Hz).

The receiver operating characteristic curve showed AUC of 0.97 ± 0.03 (indicating very high classification accuracy). The classifier showed $95\% \pm 5\%$ sensitivity, $96\% \pm 3\%$ specificity, and $95\% \pm 3\%$ accuracy for the classification.

EEG connectivity analysis via a combination of source/connectivity biomarkers, highly correlating with neuropsychological AD diagnosis, could represent a promising tool in identification of AD patients. This approach represents a low-cost and non-invasive method, one that utilizes widely available techniques which, when combined, reach high sensitivity/specificity and optimal classification accuracy on an individual basis (0.97 of AUC).

Hallett M, de Haan W, Deco G, Dengler R, Di Iorio R, Gallea C, Gerloff C, Grefkes C, Helmich RC, Kringsbach ML, Miraglia F, Rektor I, Strýček O, Vecchio F, Volz LJ, Wu T, Rossini PM.

Human brain connectivity: clinical applications for clinical neurophysiology.

Clin Neurophysiol. 2020 Apr 21;131(7):1621-1651.

This manuscript is the second part of a two-part description of the current status of understanding of the network function of the brain in health and disease. We start with the concept that brain function can be understood only by understanding its networks, how and why information flows in the brain. The first manuscript dealt with methods for network analysis, and the current manuscript focuses on the use of these methods to understand a wide variety of neurological and psychiatric disorders. Disorders considered are neurodegenerative disorders, such as Alzheimer disease and amyotrophic lateral sclerosis, stroke, movement disorders, including essential tremor, Parkinson disease, dystonia and apraxia, epilepsy, psychiatric disorders such as schizophrenia, and phantom limb pain. This state-of-the-art review makes clear the value of networks and brain models for understanding symptoms and signs of disease and can serve as a foundation for further work.

Rossini PM, Miraglia F, Alù F, Cotelli M, Ferreri F, Iorio RD, Iodice F, Vecchio F.
Neurophysiological hallmarks of neurodegenerative cognitive decline: the study of brain connectivity as biomarker of early dementia.

J Pers Med. 2020 Apr 30;10(2). Review.

Neurodegenerative processes of various types of dementia start years before symptoms, but the presence of a "neural reserve", which continuously feeds and supports neuroplastic mechanisms, helps the aging brain to preserve most of its functions within the "normality" frame. Mild cognitive impairment (MCI) is

an intermediate stage between dementia and normal brain aging. About 50% of MCI subjects are already in a stage that is prodromal-to-dementia and during the following 3 to 5 years will develop clinically evident symptoms, while the other 50% remains at MCI or returns to normal. If the risk factors favoring degenerative mechanisms are modified during early stages (i.e., in the prodromal), the degenerative process and the loss of abilities in daily living activities will be delayed. It is therefore extremely important to have biomarkers able to identify-in association with neuropsychological tests-prodromal-to-dementia MCI subjects as early as possible. MCI is a large (i.e., several million in EU) and substantially healthy population; therefore, biomarkers should be financially affordable, largely available and non-invasive, but still accurate in their diagnostic prediction. Neurodegeneration initially affects synaptic transmission and brain connectivity; methods exploring them would represent a 1st line screening. Neurophysiological techniques able to evaluate mechanisms of synaptic function and brain connectivity are attracting general interest and are described here. Results are quite encouraging and suggest that by the application of artificial intelligence (i.e., learning-machine), neurophysiological techniques represent valid biomarkers for screening campaigns of the MCI population.

Valle G, D'Anna E, Strauss I, Clemente F, Granata G, Di Iorio R, Controzzi M, Stieglitz T, Rossini PM, Petrini FM, Micera S.

Hand control with Invasive feedback is not impaired by increased cognitive load.

Front Bioeng Biotechnol. 2020 Apr 3;8:287. eCollection 2020.

Recent experiments have shown that neural stimulation can successfully restore sensory feedback in upper-limb amputees improving their ability to control the prosthesis. However, the potential advantages of invasive sensory feedback with respect to non-invasive solutions have not been yet identified. Our hypothesis was that a difference would appear when the subject cannot focus all the attention to the use of the prosthesis, but some additional activities require his/her cognitive attention, which is a quite common situation in real-life conditions. To verify this hypothesis, we asked a trans-radial amputee, equipped with a bidirectional hand prosthesis, to perform motor tasks also in combination with a cognitive task. Sensory feedback was provided via intraneural (invasive) or electro-tactile (non-invasive) stimulation. We collected also data related to self-confidence. While both approaches were able to significantly improve the motor performance of the subject when no additional cognitive effort was asked, the manual accuracy was not affected by the cognitive task only when intraneural feedback was provided. The highest self-confidence was obtained when intraneural sensory feedback was provided. Our findings show that intraneural sensory feedback is more robust to dual tasks than non-invasive feedback. This is the first direct comparison between invasive and non-invasive approaches for restoring sensory feedback and it could suggest an advantage of using invasive solutions.

Rossini PM, Di Iorio R, Vecchio F, Anfossi M, Babiloni C, Bozzali M, Bruni AC, Cappa SF, Escudero J, Fraga FJ, Giannakopoulos P, Guntekin B, Logroscino G, Marra C, Miraglia F, Panza F, Tecchio F, Pascual-Leone A, Dubois B.

Early diagnosis of Alzheimer's disease: the role of biomarkers including advanced EEG signal analysis. Report from the IFCN-sponsored panel of experts.

Clin Neurophysiol. 2020 Jun;131(6):1287-1310.

Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disease among the elderly with a progressive decline in cognitive function significantly affecting quality of life. Both the prevalence and emotional and financial burdens of AD on patients, their families, and society are predicted to grow significantly in the near future, due to a prolongation of the lifespan. Several lines of evidence suggest that modifications of risk-enhancing life styles and initiation of pharmacological and non-pharmacological treatments in the early stage of disease, although not able to modify its course, helps to maintain personal autonomy in daily activities and significantly reduces the total costs of disease management. Moreover, many clinical trials with potentially disease-modifying drugs are devoted to prodromal stages of AD. Thus, the identification of markers of conversion from prodromal form to clinically AD may be crucial for developing strategies of early interventions. The current available markers, including volumetric magnetic resonance imaging (MRI), positron emission tomography (PET), and cerebral spinal fluid (CSF) analysis are expensive, poorly available in community health facilities, and relatively invasive. Taking into account its low cost, widespread availability and non-invasiveness,

electroencephalography (EEG) would represent a candidate for tracking the prodromal phases of cognitive decline in routine clinical settings eventually in combination with other markers. In this scenario, the present paper provides an overview of epidemiology, genetic risk factors, neuropsychological, fluid and neuroimaging biomarkers in AD and describes the potential role of EEG in AD investigation, trying in particular to point out whether advanced analysis of EEG rhythms exploring brain function has sufficient specificity/sensitivity/accuracy for the early diagnosis of AD.

Brunetti V, D'Atri A, Della Marca G, Vollono C, Marra C, Vita MG, Scarpelli S, De Gennaro L, Rossini PM.

Subclinical epileptiform activity during sleep in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment.

Clin Neurophysiol. 2020 May;131(5):1011-1018.

Recent findings suggested that subclinical epileptiform activity is prevalent during sleep in a significant proportion of Alzheimer's Disease (AD) patients.

The aims of our study were: (A) comparing the frequency of subclinical epileptiform activity during the sleep in a sample diagnosed with 'probable' AD and Mild Cognitive Impairment (MCI) due to AD, and in healthy subjects; (B) evaluating epileptiform EEG activity as a function of different sleep stages within a well-controlled polysomnographic setting.

We prospectively enrolled 50 'probable' AD patients (73 ± 7.0 years) and 50 subjects with MCI due to AD (72 ± 6.7 years) without history of seizures, comparing them with 50 controls (69 ± 6.7 years). Patients underwent to a full-night video-PSG.

Subclinical epileptiform activity was detected in 6.38% of 'probable' AD patients, 11.63% of MCI due to AD subjects and 4.54% of controls ($p = 0.43$). The comparisons between the three groups for the frequency of epileptiform activity did not reach statistically significant differences neither for total sleep nor for any sleep period considered.

Our study shows that, when controlling for sleep stages and the influence of psychoactive drugs, AD patients and MCI due to AD subjects do not exhibit a higher frequency of epileptiform discharges during sleep compared to healthy subjects.

Subclinical epileptiform activity during sleep does not discriminate 'probable' AD from MCI due to AD and healthy controls.

Vecchio F, Miraglia F, Judica E, Cotelli M, Alù F, Rossini PM.

Human brain networks: a graph theoretical analysis of cortical connectivity normative database from EEG data in healthy elderly subjects.

Geroscience. 2020 Apr;42(2):575-584. Epub 2020 Mar 13.

Moving from the hypothesis that aging processes modulate brain connectivity networks, 170 healthy elderly volunteers were submitted to EEG recordings in order to define age-related normative limits. Graph theory functions were applied to exact low-resolution electromagnetic tomography on cortical sources in order to evaluate the small-world parameter as a representative model of network architecture. The analyses were carried out in the whole brain-as well as for the left and the right hemispheres separately-and in three specific resting state subnetworks defined as follows: attentional network (AN), frontal network (FN), and default mode network (DMN) in the EEG frequency bands (delta, theta, alpha 1, alpha 2, beta 1, beta 2, gamma). To evaluate the stability of the investigated parameters, a subgroup of 32 subjects underwent three separate EEG recording sessions in identical environmental conditions after a few days interval. Results showed that the whole right/left hemispheric evaluation did not present side differences, but when individual subnetworks were considered, AN and DMN presented in general higher SW in low (delta and/or theta) and high (gamma) frequency bands in the left hemisphere, while for FN, the alpha 1 band was lower in the left with respect to the right hemisphere. It was also evident the test-retest reliability and reproducibility of the present methodology when carried out in clinically stable subjects. Evidences from the present study suggest that graph theory represents a reliable method to address brain connectivity patterns from EEG data and is particularly suitable to study the physiological impact of aging on brain functional connectivity networks.

Miraglia F, Vecchio F, Marra C, Quaranta D, Alù F, Peroni B, Granata G, Judica E, Cotelli M, Rossini PM.

Small world index in default mode network predicts progression from Mild Cognitive Impairment to Dementia.

Int J Neural Syst. 2020 Feb;30(2):2050004. doi: 10.1142/S0129065720500045. Epub 2020 Jan 20.

Aim of this study was to explore the EEG functional connectivity in amnesic mild cognitive impairments (MCI) subjects with multidomain impairment in order to characterize the Default Mode Network (DMN) in converted MCI (cMCI), which converted to Alzheimer's disease (AD), compared to stable MCI (sMCI) subjects. A total of 59 MCI subjects were recruited and divided -after appropriate follow-up- into cMCI or sMCI. They were further divided in MCI with linguistic domain (LD) impairment and in MCI with executive domain (ED) impairment. Small World (SW) index was measured as index of balance between integration and segregation brain processes. SW, computed restricting to nodes of DMN regions for all frequency bands, evaluated how they differ between MCI subgroups assessed through clinical and neuropsychological four-years follow-up. In addition, SW evaluated how this pattern differs between MCI with LD and MCI with ED. Results showed that SW index significantly decreased in gamma band in cMCI compared to sMCI. In cMCI with LD impairment, the SW index significantly decreased in delta band, while in cMCI with ED impairment the SW index decreased in delta and gamma bands and increased in alpha1 band. We propose that the DMN functional alterations in cognitive impairment could reflect an abnormal flow of brain information processing during resting state possibly associated to a status of pre-dementia.

Mazzoni A, Oddo CM, Valle G, Camboni D, Strauss I, Barbaro M, Barabino G, Puddu R, Carboni C, Bisoni L, Carpaneto J, Vecchio F, Petrini FM, Romeni S, Czimmermann T, Massari L, di Iorio R, Miraglia F, Granata G, Pani D, Stieglitz T, Raffo L, Rossini PM, Micera S.

Morphological neural computation restores discrimination of naturalistic textures in trans-radial amputees.

Sci Rep. 2020 Jan 16;10(1):527.

Humans rely on their sense of touch to interact with the environment. Thus, restoring lost tactile sensory capabilities in amputees would advance their quality of life. In particular, texture discrimination is an important component for the interaction with the environment, but its restoration in amputees has been so far limited to simplified gratings. Here we show that naturalistic textures can be discriminated by trans-radial amputees using intraneural peripheral stimulation and tactile sensors located close to the outer layer of the artificial skin. These sensors exploit the morphological neural computation (MNC) approach, i.e., the embodiment of neural computational functions into the physical structure of the device, encoding normal and shear stress to guarantee a faithful neural temporal representation of stimulus spatial structure. Two trans-radial amputees successfully discriminated naturalistic textures via the MNC-based tactile feedback. The results also allowed to shed light on the relevance of spike temporal encoding in the mechanisms used to discriminate naturalistic textures. Our findings pave the way to the development of more natural bionic limbs.

Quattrini G, Pievani M, Jovicich J, Aiello M, Bargalló N, Barkhof F, Bartres-Faz D, Beltramello A, Pizzini FB, Blin O, Bordet R, Caulo M, Constantinides M, Didic M, Drevelegas A, Ferretti A, Fiedler U, Floridi P, Gros-Dagnac H, Hensch T, Hoffmann KT, Kuijjer JP, Lopes R, Marra C, Müller BW, Nobili F, Parnetti L, Payoux P, Picco A, Ranjeva JP, Roccatagliata L, Rossini PM, Salvatore M, Schonknecht P, Schott BH, Sein J, Soricelli A, Tarducci R, Tsolaki M, Visser PJ, Wiltfang J, Richardson JC, Frisoni GB, Marizzoni M; PharmaCog Consortium.

Amygdalar nuclei and hippocampal subfields on MRI: test-retest reliability of automated volumetry across different MRI sites and vendors.

Neuroimage. 2020 Sep;218:116932. doi: 10.1016/j.neuroimage.2020.116932. Epub 2020 May 13.

The amygdala and the hippocampus are two limbic structures that play a critical role in cognition and behavior, however their manual segmentation and that of their smaller nuclei/subfields in multicenter datasets is time consuming and difficult due to the low contrast of standard MRI. Here, we assessed the reliability of the automated segmentation of amygdalar nuclei and hippocampal subfields across sites and vendors using FreeSurfer in two independent cohorts of older and younger healthy adults.

Sixty-five healthy older (cohort 1) and 68 younger subjects (cohort 2), from the PharmaCog and CoRR consortia, underwent repeated 3D-T1 MRI (interval 1-90 days). Segmentation was performed using FreeSurfer v6.0. Reliability was assessed using volume reproducibility error (ϵ) and spatial overlapping coefficient (DICE) between test and retest session.

Significant MRI site and vendor effects ($p < .05$) were found in a few subfields/nuclei for the ϵ , while extensive effects were found for the DICE score of most subfields/nuclei. Reliability was strongly influenced by volume, as ϵ correlated negatively and DICE correlated positively with volume size of structures (absolute value of Spearman's r correlations >0.43 , $p < 1.39E-36$). In particular, volumes larger than 200 mm³ (for amygdalar nuclei) and 300 mm³ (for hippocampal subfields, except for molecular layer) had the best test-retest reproducibility ($\epsilon < 5\%$ and DICE > 0.80).

Our results support the use of volumetric measures of larger amygdalar nuclei and hippocampal subfields in multisite MRI studies. These measures could be useful for disease tracking and assessment of efficacy in drug trials.

Vecchio F, Miraglia F, Rodella C, Alù F, Miniussi C, Rossini PM, Pellicciari MC.
tDCS effects on brain network properties during physiological aging.
Pflugers Arch. 2020 Jul 4. Epub ahead of print.

Brain neural networks undergo relevant changes during physiological aging, which affect cognitive and behavioral functions. Currently, non-invasive brain stimulation techniques, such as transcranial direct current stimulation (tDCS), are proposed as tools able to modulate cognitive functions in brain aging, acting on networks properties and connectivity. Segregation and integration measures are used and evaluated by means of local clustering (segregation) and path length (integration). Moreover, to assess the balancing between them, the Small World (SW) parameter is employed, evaluating functional coupling in normal brain aging and in pathological conditions including neurodegeneration. The aim of this study was to systematically investigate the tDCS-induced effects on brain network proprieties in physiological aging. In order to reach this aim, cortical activity was acquired from healthy young and elderly subjects by means of EEG recorded before, during, and after anodal, cathodal, and sham tDCS sessions. Specifically, the aim to exploring tDCS polarity-dependent changes in the age-dependent network dynamics was based on a network graph theory application on two groups divided in young and elderly subjects. Eighteen healthy young (9 females; mean age = 24.7, SD = 3.2) and fifteen elderly subjects (9 females; mean = 70.1, SD = 5.1) were enrolled. Each participant received anodal, cathodal, or sham tDCS over the left prefrontal cortex (PFC) in three separate experimental sessions performed 1 week apart. SW was computed to evaluate brain network organization. The present study demonstrates that tDCS delivered in PFC can change brain network dynamics, and tDCS-EEG coregistration data can be analyzed using graph theory to understand the induced effects of different tDCS polarities in physiological and pathological brain aging.

Valle G, Strauss I, D'Anna E, Granata G, Di Iorio R, Stieglitz T, Rossini PM, Raspopovic S, Petrini FM, Micera S.
Sensitivity to temporal parameters of intraneural tactile sensory feedback.
J Neuroeng Rehabil. 2020 Aug 15;17(1):110.

Recent studies have shown that neural stimulation can be used to provide artificial sensory feedback to amputees eliciting sensations referred on the amputated hand. The temporal properties of the neural stimulation modulate aspects of evoked sensations that can be exploited in a bidirectional hand prosthesis. We previously collected evidence that the derivative of the amplitude of the stimulation (intra-digit temporal dynamics) allows subjects to recognize object compliance and that the time delay among stimuli injected through electrodes implanted in different nerves (inter-digit temporal distance) allows to recognize object shapes. Nevertheless, a detailed characterization of the subjects' sensitivity to variations of intra-digit temporal dynamic and inter-digit temporal distance of the intraneural tactile feedback has

not been executed. An exhaustive understanding of the overall potentials and limits of intraneural stimulation to deliver sensory feedback is of paramount importance to bring this approach closer and closer to the natural situation. To this aim, here we asked two trans-radial amputees to identify stimuli with different temporal characteristics delivered to the same active site (intra-digit temporal Dynamic Recognition (DR)) or between two active sites (inter-digit Temporal distance Recognition (TR)). Finally, we compared the results achieved for (simulated) TR with conceptually similar experiments with real objects with one subject.

We found that the subjects were able to identify stimuli with temporal differences (perceptual thresholds) larger than 0.25 s for DR and larger than 0.125 s for TR, respectively. Moreover, we also found no statistically significant differences when the subjects were asked to identify three objects during simulated 'open-loop' TR experiments or real 'closed-loop' tests while controlling robotic hand.

This study is a new step towards a more detailed analysis of the overall potentials and limits of intraneural sensory feedback. A full characterization is necessary to develop more advanced prostheses capable of restoring all lost functions and of being perceived more as a natural limb by users.

Granata G, Iodice F, Falsini B, Rossini PM.

The role of primary visual cortex after transorbital alternating current stimulation in low vision patients.

Clin Neurophysiol. 2020 Sep;131(9):2327-2328.

Granata G, Valle G, Di Iorio R, Iodice F, Petrini FM, Strauss I, D'anna E, Iberite F, Lauretti L, Fernandez E, Romanello R, Stieglitz T, Raspopovic S, Calabresi P, Micera S, Rossini PM.

Cortical plasticity after hand prostheses use: Is the hypothesis of deafferented cortex "invasion" always true?

Clin Neurophysiol. 2020 Oct;131(10):2341-2348.

The aim is to study motor cortex plasticity after a period of training with a new prototype of bidirectional hand prosthesis in three left trans-radial amputees, correlating these changes with the modification of Phantom Limb Pain (PLP) in the same period.

Each subject underwent a brain motor mapping with Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) and PLP evaluation with questionnaires during a six-month training with a prototype of bidirectional hand prosthesis.

The baseline motor maps showed in all three amputees a smaller area of muscles representation of the amputated side compared to the intact limb. After training, there was a partial reversal of the baseline asymmetry. The two subjects affected by PLP experienced a statistically significant reduction of pain.

Two apparently opposite findings, the invasion of the "deafferented" cortex by neighbouring areas and the "persistence" of neural structures after amputation, could vary according to different target used for measurement. Our results do not support a correlation between PLP and motor cortical changes.

The selection of the target and of the task is essential for studies investigating motor brain plasticity. This study boosts against a direct and unique role of motor cortical changes on PLP genesis.

Granata G, Di Iorio R, Miraglia F, Caulo M, Iodice F, Vecchio F, Valle G, Strauss I, D'anna E, Iberite F, Lauretti L, Fernandez E, Romanello R, Petrini FM, Raspopovic S, Micera S, Rossini PM. *Brain reactions to the use of sensorized hand prosthesis in amputees.*

Brain Behav. 2020 Sep 19:e01734. Epub ahead of print.

We investigated for the first time the presence of chronic changes in the functional organization of sensorimotor brain areas induced by prolonged training with a bidirectional hand prosthesis.

A multimodal neurophysiological and neuroimaging evaluation of brain functional changes occurring during training in five consecutive amputees participating to experimental trials with robotic hands over a period of 10 years was carried out. In particular, modifications to the functional anatomy of sensorimotor brain areas under resting conditions were explored in order to check for eventual changes with respect to baseline.

Results: Full evidence is provided to demonstrate brain functional changes, and some of them in both the hemispheres and others restricted to the hemisphere contralateral to the amputation/prosthetic hand.

The study describes a unique experimental experience showing that brain reactions to the prolonged use of an artificial hand can be tracked for a tailored approach to a fully embedded artificial upper limb for future chronic uses in daily activities.

Buonsenso D, Cinicola B, Kallon MN, Iodice F.

Child healthcare and immunizations in Sub-Saharan Africa during the COVID-19 pandemic.

Front Pediatr. 2020 Aug 6;8:517. doi: 10.3389/fped.2020.00517.

Since COVID-19 in the pediatric population is infrequently severe, the indirect costs of the pandemic, related to the measures implemented to deal with the spread of the virus, can be worse than the infection itself. To assess this issue, we evaluated the number of children vaccinated or evaluated for the most common diseases in a poor village in Sierra Leone, showing a worrisome drop in vaccinations performed and children evaluated for acute diseases. Our preliminary findings highlight that support is needed to guarantee basic services to children during the COVID-19 pandemic, particularly in poor settings where preventive measures can be lifesaving in the long term.

Alù F, Miraglia F, Orticoni A, Judica E, Cotelli M, Rossini PM, Vecchio F.

Approximate entropy of brain network in the study of hemispheric differences.

Entropy (Basel). 2020 Oct 27;22(11):E1220.

Human brain, a dynamic complex system, can be studied with different approaches, including linear and nonlinear ones. One of the nonlinear approaches widely used in electroencephalographic (EEG) analyses is the entropy, the measurement of disorder in a system. The present study investigates brain networks applying approximate entropy (ApEn) measure for assessing the hemispheric EEG differences; reproducibility and stability of ApEn data across separate recording sessions were evaluated. Twenty healthy adult volunteers were submitted to eyes-closed resting EEG recordings, for 80 recordings. Significant differences in the occipital region, with higher values of entropy in the left hemisphere than in the right one, show that the hemispheres become active with different intensities according to the performed function. Besides, the present methodology proved to be reproducible and stable, when carried out on relatively brief EEG epochs but also at a 1-week distance in a group of 36 subjects. Nonlinear approaches represent an interesting probe to study the dynamics of brain networks. ApEn technique might provide more insight into the pathophysiological processes underlying age-related brain disconnection as well as for monitoring the impact of pharmacological and rehabilitation treatments.

Miraglia F, Tomino C, Vecchio F, Alù F, Orticoni A, Judica E, Cotelli M, Rossini PM.

Assessing the dependence of the number of EEG channels in the brain networks' modulations.

Brain Res Bull. 2020 Nov 23:S0361-9230(20)30700-0. Epub ahead of print.

Aim of the study was to evaluate the influence of the EEG channels number on the brain networks' analysis, to establish whether and how much higher density EEG actually contributes to add supplementary information to brain networks analyses. 59 electrodes EEGs were recorded in 20 healthy subjects in eyes open and closed condition. For each condition, we analyzed the recording dataset of 59 channels, and three sub-datasets obtained by the selection of 44, 30, 19 channels from the 59 ones. Then we computed the EEG sources of current density and evaluated the SW index in the four EEGs data montages. Results showed that in the eyes open condition the number of recording channels influences more the SW index modulation respect that in the eyes closed condition. Conversely, in the eyes closed condition the brain activity is less affected by specific brain regions' activations and the signal's generators produced not significant variations on EEG data and consequently the small world network measure is not affected by the recording channels number. We can conclude that in the eyes closed condition, the 19 EEG channels is an acceptable montage to study brain networks' modulations, to both detect the higher and the lower brain waves' frequencies.

Rossi S, Antal A, Bestmann S, Bikson M, Brewer C, Brockmüller J, Carpenter LL, Cincotta M, Chen R, Daskalakis JD, Di Lazzaro V, Fox MD, George MS, Gilbert D, Kimiskidis VK, Koch G, Ilmoniemi RJ, Pascal Lefaucheur J, Leocani L, Lisanby SH, Miniussi C, Padberg F, Pascual-

Leone A, Paulus W, Peterchev AV, Quartarone A, Rotenberg A, Rothwell J, Rossini PM, Santarnecchi E, Shafi MM, Siebner HR, Ugawa Y, Wassermann EM, Zangen A, Ziemann U, Hallett M; basis of this article began with a Consensus Statement from the IFCN Workshop on “Present, Future of TMS: Safety, Ethical Guidelines”, Siena, October 17-20, 2018, updating through April 2020.

Safety and recommendations for TMS use in healthy subjects and patient populations, with updates on training, ethical and regulatory issues: Expert Guidelines.

Clin Neurophysiol. 2020 Oct 24;S1388-2457(20)30514-30519. Epub ahead of print.

This article is based on a consensus conference, promoted and supported by the International Federation of Clinical Neurophysiology (IFCN), which took place in Siena (Italy) in October 2018. The meeting intended to update the ten-year-old safety guidelines for the application of transcranial magnetic stimulation (TMS) in research and clinical settings (Rossi et al., 2009). Therefore, only emerging and new issues are covered in detail, leaving still valid the 2009 recommendations regarding the description of conventional or patterned TMS protocols, the screening of subjects/patients, the need of neurophysiological monitoring for new protocols, the utilization of reference thresholds of stimulation, the managing of seizures and the list of minor side effects. New issues discussed in detail from the meeting up to April 2020 are safety issues of recently developed stimulation devices and pulse configurations; duties and responsibility of device makers; novel scenarios of TMS applications such as in the neuroimaging context or imaging-guided and robot-guided TMS; TMS interleaved with transcranial electrical stimulation; safety during paired associative stimulation interventions; and risks of using TMS to induce therapeutic seizures (magnetic seizure therapy). An update on the possible induction of seizures, theoretically the most serious risk of TMS, is provided. It has become apparent that such a risk is low, even in patients taking drugs acting on the central nervous system, at least with the use of traditional stimulation parameters and focal coils for which large data sets are available. Finally, new operational guidelines are provided for safety in planning future trials based on traditional and patterned TMS protocols, as well as a summary of the minimal training requirements for operators, and a note on ethics of neuroenhancement.

Miraglia F, Tomino C, Vecchio F, Gorgoni M, De Gennaro L, Rossini PM.

The brain network organization during sleep onset after deprivation.

Clin Neurophysiol. 2020 Nov 10;132(1):36-44.

Aim of the present study is to investigate the alterations of brain networks derived from EEG analysis in pre- and post-sleep onset conditions after 40 h of sleep deprivation (SD) compared to sleep onset after normal sleep in 39 healthy subjects.

Functional connectivity analysis was made on electroencephalographic (EEG) cortical sources of current density and small world (SW) index was evaluated in the EEG frequency bands (delta, theta, alpha, sigma and beta).

Comparing pre- vs. post-sleep onset conditions after a night of SD a significant decrease of SW in delta and theta bands in post-sleep onset condition was found together with an increase of SW in sigma band. Comparing pre-sleep onset after sleep SD versus pre-sleep onset after a night of normal sleep a decreased of SW index in beta band in pre-sleep onset in SD compared to pre-sleep onset in normal sleep was evidenced.

Brain functional network architecture is influenced by the SD in different ways. Brain networks topology during wake resting state needs to be further explored to reveal SD-related changes in order to prevent possible negative effects of SD on behaviour and brain function during wakefulness.

The SW modulations as revealed by the current study could be used as an index of an altered balance between brain integration and segregation processes after SD.

Ilari S, Giancotti LA, Lauro F, Dagostino C, Gliozzi M, Malafoglia V, Sansone L, Palma E, Tafani M, Russo MA, Tomino C, Fini M, Salvemini D, Mollace V, Muscoli C.

Antioxidant modulation of sirtuin 3 during acute inflammatory pain: the ROS control.

Pharmacol Res. 2020 Jul;157:104851. Epub 2020 May 11.

Oxidative stress induced post-translational protein modifications are associated with the development of inflammatory hypersensitivities. At least 90% of cellular reactive oxygen species (ROS) are produced in the mitochondria, where the mitochondrial antioxidant, manganese superoxide dismutase (MnSOD), is located. MnSOD's ability to reduce ROS is enhanced by the mitochondrial NAD⁺-dependent deacetylase sirtuin (SIRT3). SIRT3 can reduce ROS levels by deacetylating MnSOD and enhancing its ability to neutralize ROS or by enhancing the transcription of MnSOD and other oxidative stress-responsive genes. SIRT3 can be post-translationally modified through carbonylation which results in loss of activity. The contribution of post-translational SIRT3 modifications in central sensitization is largely unexplored. Our results reveal that SIRT3 carbonylation contributes to spinal MnSOD inactivation during carrageenan-induced thermal hyperalgesia in rats. Moreover, inhibiting ROS with natural and synthetic antioxidants, prevented SIRT3 carbonylation, restored the enzymatic activity of MnSOD, and blocked the development of thermal hyperalgesia. These results suggest that therapeutic strategies aimed at inhibiting post-translational modifications of SIRT3 may provide beneficial outcomes in pain states where ROS have been documented to play an important role in the development of central sensitization.

LINEA 4

Progetti in rete

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale in pazienti neurologici: studio pilota multicentrico. Sottoprogetto La riabilitazione domiciliare con controllo e remoto: sistemi innovativi per la somministrazione, la valutazione e la misura dell'esercizio riabilitativo.

L'incremento della popolazione anziana fragile, l'aumentata incidenza di condizioni cliniche croniche e le crescenti richieste di cure personalizzate, richiedono nuovi approcci nell'erogazione dell'assistenza sanitaria. E' inoltre necessaria una limitazione delle degenze ospedaliere per motivi clinici ed economici. Pertanto, i servizi sanitari territoriali hanno un ruolo sempre più preponderante nella gestione del paziente cronico. Tuttavia, tanti pazienti ancora non usufruiscono di un adeguato trattamento riabilitativo territoriale a causa degli eccessivi costi del trattamento domiciliare e delle difficoltà logistiche per raggiungere le sedi dei servizi ambulatoriali.

Questo progetto degli IRCCS della Rete di Neuroscienze è la realizzazione di una rete integrata italiana per l'erogazione a distanza, su tutto il territorio nazionale, di trattamenti specifici di neuro riabilitazione motoria, cognitiva e logopedia per continuità assistenziale del paziente neurologico.

Il progetto intende valutare la fattibilità e l'efficacia di un sistema di teleriabilitazione domiciliare in differenti contesti territoriali.

Ci sia aspetta una:

- Raccolta di dati sui bisogni degli utenti (pazienti e caregivers)
- Raccolta di dati sui trattamenti e le valutazioni cliniche e strumentali derivanti dalla reportistica implementata nel sistema
- Raccolta dei dati clinici per le analisi di costo-efficacia, ad oggi inesistenti

La Teleriabilitazione potrebbe aiutare a superare molte difficoltà, tramite l'erogazione di trattamenti riabilitativi domiciliari (senza lo spostamento di operatori o di pazienti) e potrebbe divenire la chiave operativa per garantire la continuità assistenziale ospedale-territorio con un equo accesso ai servizi di sanità territoriale.

Il progetto si svolge in collaborazione con la Rete di Neuroscienze e vede il coinvolgimento dei seguenti IRCCS: 1) IRCCS Centro Neurolesi Bonino Pulejo (Capofila); 2) IRCCS S. Lucia; 3) IRCCS Fondazione Maugeri; 4) IRCCS Istituto Mondino; 5) IRCCS Istituto Auxologico Italiano; 6) IRCCS Policlinico Ca' Grande; 7) IRCCS Oasi; 8) IRCCS Ospedale S. Camillo; 9) IRCCS Centro San Giovanni di Dio Fatebenefratelli; 10) IRCCS Don Gnocchi; 11) IRCCS Fondazione Stella Maris; 12) IRCCS SDN; 13) IRCCS Eugenio MEDEA; 14) IRCCS Istituto S. Raffaele, Milano; 15) IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù; 16) IRCCS San Matteo; 17) IRCCS Neuromed; 18) IRCCS San Raffaele Pisana. 19) - Istituto Clinico Humanitas – IRCCS – Milano.

Lo studio è un trial clinico multicentrico randomizzato controllato in singolo cieco condotto secondo le regole standard per tali tipi di studio.

Sottostudio REPORT: Sono arruolati 110 pazienti (20 soggetti dall' IRCCS San Raffaele Pisana) affetti da malattia di Parkinson, secondo i criteri della UK Parkinson's Disease Society Brain Bank, di ambo i sessi e di età tra i 18 e gli 80 anni. I partecipanti, tutti in trattamento farmacologico stabilizzato con L-Dopa o dopaminoagonisti, dovranno mostrare un punteggio alla Hoehn & Yahr fra 1,5 e 3. I pazienti, sottoposti alla prova dei 6-min Walking Test, devono percorrere una distanza tra 200 e 500 metri. I pazienti non devono presentare al test di screening per decadimento cognitivo MoCA (Montreal Cognitive Assessment) un punteggio inferiore a 17,54. Non sono arruolabili inoltre pazienti con freezing aventi nel dominio relativo della sezione II (attività di vita quotidiana) della UPDRS un punteggio ≥ 3 (frequenti; occasionali cadute). Non sono arruolabili pazienti con discinesie aventi nel dominio relativo della sezione IV (complicanze dovute alla terapia) della UPDRS un punteggio ≥ 3 in almeno uno dei due item (durata e/o invalidità). Dopo l'arruolamento tutti i pazienti, vengono valutati da un team di

professionisti con la somministrazione delle seguenti scale: Scheda A-D/R (valutazione stati d'ansia e sintomi depressivi); Parkinson's Disease Questionnaire; PDQ-8 (Qualità di vita); UPDRS; Mini BesTest. I pazienti verranno quindi randomizzati ed assegnati ai 2 gruppi: gruppo sperimentale (utilizzo del VRRS Tablet, Khymeia sr.l.) e gruppo di controllo. E' previsto un ciclo riabilitativo motorio di 40 sedute (5 giorni/settimana per 8 settimane consecutive), ciascuna di 1h/die.

Sottostudio TELESMA: Saranno arruolati 96 pazienti (20 soggetti dal IRCCS San Raffaele Pisana) affetti da sclerosi multipla che soddisfano i seguenti criteri di inclusione: soggetti di ambo i sessi affetti da SM, forme RRMS-SPMS, secondo i criteri di MC Donald 2010 (Polman et al., 2011); età compresa tra 25 e 70 anni; in trattamento farmacologico stabile; all'inclusione passati almeno 3 mesi da ultima relapse trattata con cortisonici. Sono esclusi i soggetti che presentano: gravi deficit dell'acuità visiva e della percezione acustica, tali da interferire con la somministrazione delle attività proposte tramite VRRS; relapse in corso; Expanded Disability Status Scale EDSS (Kurtzke, 1983) ≥ 6.5 .

Outcome primari: valutazione della Qualità di Vita attraverso la scala 54-item Multiple Sclerosis Quality of Life (Vickrey et al., 1995; Solari et al., 1999); o valutazione delle abilità motorie: Mini BES Test (Franchignoni et al., 2010); Box and Block Test (Mathiowetz et al., 1985); o valutazione delle abilità cognitive attraverso test carta-e-matita convenzionali (MoCA Test, Conti et al., 2014; Symbol Digit Modalities Test, Rao, 1996; Amato et al., 2006). Outcome secondari: valutazione delle abilità motorie (12-item Multiple Sclerosis Walking Scale, Hobart et al., 2003; McGuigan & Hutchinson, 2004; Fatigue Severity Scale, Krupp et al., 1989); o valutazione delle abilità cognitive attraverso test carta-e-matita convenzionali (prove incluse nella Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests in Multiple Sclerosis (Selective Reminding Test; 10/36 Spatial Recall Test;; Paced Auditory Serial Addition Test; Delayed Recall of the Selective Reminding Test; Delayed Recall of the 10/36 Spatial Recall Test; Word List Generation, Rao, 1996; Amato et al., 2006); o valutazione degli aspetti comportamentali ed emotivi tramite misure di Autoefficacia Percepita nella gestione delle emozioni positive e negative (Caprara et al., 2001); Beck Depression Inventory (Beck, 1961); State-trait anxiety inventory (Spielberger et al., 1983).

I pazienti verranno quindi randomizzati ed assegnati ai 2 gruppi: gruppo sperimentale (utilizzo del VRRS Tablet, Khymeia sr.l.) e gruppo di controllo. E' previsto un ciclo riabilitativo motorio di 30 sedute (5 giorni/settimana per 5 settimane consecutive), ciascuna di 1h/die.

Nel 2020, l'attività svolta dall'IRCCS San Raffaele ha riguardato la conclusione del reclutamento, valutazione e trattamento dei pazienti come da protocollo sperimentale.

Sottostudio REPORT: Sono stato reclutati 10 soggetti con malattia di Parkinson nel gruppo sperimentale (età media \pm DS 68.4 \pm 10.0; 4 femmine) e 10 soggetti con malattia di Parkinson nel gruppo di controllo (età media \pm DS 68.8 \pm 5.4). Il gruppo sperimentale ha migliorato la sua capacità media deambulatoria (misurata con il 6-Minute Walking Test) tra l'inizio del trattamento (315.4 \pm 82.4 metri) e la fine del trattamento (361.8 \pm 141.0 metri); invece i risultati evidenziano una riduzione della capacità media deambulatoria nel gruppo di controllo tra la valutazione iniziale (317.8 \pm 77.6 metri) e la valutazione finale (290.3 \pm 73.3 metri). Considerando l'equilibrio misurato con il MiniBest Test, né il gruppo sperimentale (T1=22.0 \pm 3.6 punti; T2=22.3 \pm 2.4 punti) né il gruppo di controllo hanno ottenuto un miglioramento (T1=22.3 \pm 3.1 punti; T2=22.1 \pm 2.5 punti).

Sottostudio TELESMA: Sono stati inclusi 6 pazienti con sclerosi multipla nel gruppo sperimentale (età media \pm DS 52.9 \pm 10.3; 4 femmine) e 7 pazienti con sclerosi multipla nel gruppo di controllo (età media \pm SD 49.5 \pm 9.0; 4 femmine). Per quanto riguarda la qualità della vita, i pazienti nel gruppo sperimentale hanno ottenuto un miglioramento medio della Multiple Sclerosis Quality of Life-54 dal T1 (152 \pm 16.4 punti) rispetto alla fine del trattamento (154.6 \pm 9.9 punti); il gruppo di controllo ha avuto una riduzione della qualità di vita di circa 2.5 punti medi (T1=148.1 \pm 18. T2=145.613.7). Considerando la fatica misurata con la Fatigue Severity Scale, il gruppo sperimentale (T1=48.8 \pm 43.4 punti; T2=43.4 \pm 26.0) ha evidenziato una maggiore riduzione

rispetto al gruppo di controllo (T1=43.9±15.1; T2=48.2±14.3). Infine, per quanto riguarda l'equilibrio misurato con il MiniBest Test, il gruppo sperimentale ha evidenziato un maggiore miglioramento (T1=15.5±3.9 punti; T2=21.2±4.8 punti) rispetto al gruppo di controllo (T1=19.0±5.2 punti; T2=21.9±3.7 punti).

Teleriabilitazione domiciliare del paziente neurologico: valutazione di fattibilità ed efficacia. Fase III del progetto complessivo

L'incremento della popolazione fragile, l'aumentata incidenza di condizioni cliniche croniche e le crescenti richieste di cure più personalizzate, da tempo richiedono un nuovo approccio dell'assistenza sanitaria. D'altro canto, i Servizi Sanitari di numerosi Paesi sollecitano una limitazione delle degenze ospedaliere per motivi clinici ed economici. Ne consegue che l'erogazione nel territorio di servizi sanitari qualificati sta diventando sempre più cruciale per garantire uno standard assistenziale elevato anche nella fase post-ospedaliera (Siemonsma, 2014). Tuttavia, una larga percentuale di pazienti ancora non usufruisce di un adeguato trattamento riabilitativo territoriale a causa degli eccessivi costi del trattamento domiciliare e delle difficoltà logistiche per raggiungere le sedi dei servizi ambulatoriali.

In particolare, per quel che riguarda i pazienti colpiti da ictus, il rafforzamento e la qualificazione della rete riabilitativa territoriale appaiono essere di estrema rilevanza.

Infatti, anche se in questi pazienti la percentuale di recupero quantitativamente maggiore si manifesta entro i primi 60/90 giorni dall'evento acuto, tale miglioramento, valutato mediante le comuni scale funzionali corrisponde in realtà solo ad una riduzione dell'impairment (perlopiù motorio) e spesso non è sufficiente per far fronte ai bisogni dei pazienti dinanzi alle reali barriere della vita quotidiana. Numerosi studi hanno ormai confermato che il recupero funzionale continua anche dopo questa prima fase, seppur con incrementi molto più rallentati, fino anche a un anno dall'evento; in questa seconda fase anche i pazienti più gravi (e in particolare coloro colpiti anche negli ambiti cognitivo e comunicativo possono ottenere un discreto recupero funzionale e un significativo miglioramento delle attività quotidiane e della partecipazione sociale. (Winstein, 2004, Langhammer 2014). In tale scenario organizzativo e gestionale e di fronte alle importanti esigenze cliniche appena descritte, la Teleneuroriabilitazione (TNR) potrebbe aiutare ad affrontare la peculiarità dell'evoluzione clinica post-ictus, tramite l'erogazione di trattamenti riabilitativi qualificati domiciliari senza lo spostamento di operatori o di pazienti e potrebbe divenire la chiave operativa per garantire la continuità assistenziale ospedale-territorio.

Il seguente studio multicentrico della rete di Neuroscienze ha come obiettivo la valutazione della fattibilità e dell'efficacia di un sistema di teleriabilitazione domiciliare in differenti contesti territoriali su soggetti con patologie neurologiche.

Lo studio intende valutare la fattibilità di un sistema di teleriabilitazione domiciliare in differenti contesti territoriali.

Ci sia aspetta una:

- Raccolta di dati sui bisogni degli utenti (pazienti e caregivers)
- Raccolta di dati sui trattamenti e le valutazioni cliniche e strumentali derivanti dalla reportistica implementata nel sistema
- Raccolta dei dati clinici per le analisi di costo-efficacia, ad oggi inesistenti

Molti recenti piccoli studi randomizzati e controllati, confermati anche da alcune metanalisi, (Woolf C 2015, Agostini 2015, Shukla H 2016) già indicano che, nei pazienti post-ictus, trattamenti specifici, basati su sistemi di realtà virtuale (RV) ed erogati tramite TNR, producono risultati non inferiori rispetto agli stessi trattamenti erogati in Ospedale. Tuttavia, si tratta ancora di esperienze cliniche in casistiche limitate di pazienti selezionati, focalizzate su un singolo ambito di intervento (motorio, cognitivo, logopedico), con un parziale impatto sulla disabilità, che non hanno la forza dimostrativa sufficiente per modificare le attuali modalità di trattamento riabilitativo territoriale e tantomeno per indicare nuovi percorsi assistenziali per i pazienti post-ictus

Appare quindi evidente che non è più rinviabile lo sviluppo di percorsi clinici e di ricerca comuni, per fornire indicazioni gestionali applicabili, con l'obiettivo di superare le difficoltà operative connesse con l'erogazione nel territorio di trattamenti neuroriabilitativi per i pazienti post-ictus.

Il progetto si svolge in collaborazione con la Rete di Neuroscienze e vede il coinvolgimento dei seguenti IRCCS: 1) IRCCS Centro Neurolesi Bonino Pulejo (Capofila); 2) IRCCS S. Lucia; 3) IRCCS Fondazione Maugeri; 4) IRCCS Istituto Mondino; 5) IRCCS Istituto Auxologico Italiano; 6) IRCCS Policlinico Ca' Grande; 7) IRCCS Oasi; 8) IRCCS Ospedale S. Camillo; 9) IRCCS Centro San Giovanni di Dio Fatebenefratelli; 10) IRCCS Don Gnocchi; 11) IRCCS Fondazione Stella Maris; 12) IRCCS SDN; 13) IRCCS Eugenio MEDEA; 14) IRCCS Istituto S. Raffaele, Milano; 15) IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù; 16) IRCCS San Matteo; 17) IRCCS Neuromed; 18) IRCCS San Raffaele Pisana. 19) - Istituto Clinico Humanitas – IRCCS – Milano.

Lo studio è pilota multicentrico osservazionale. In ogni CP sono valutati i pazienti colpiti da singolo ictus ischemico, già dimessi o in corso di dimissione e già sottoposti a un trattamento riabilitativo intensivo durante il ricovero ospedaliero. Vengono arruolati i pazienti che soddisfano i criteri riportati di seguito. Si prevede che ogni centro arruoli circa 15-20 pazienti per un totale di almeno 100 pazienti.

Criteri di inclusione: Singolo ictus ischemico documentato con TAC/RMN; Intervallo di 2-12 mesi dall'evento; età compresa tra 18 e 80 anni; presenza di consenso informato alla partecipazione allo studio. Criteri di esclusione: storia o presenza di declino cognitivo (MoCA < 17.54); fratture recenti; anamnesi di disturbi psichici (depressione maggiore, psicosi); anamnesi/presenza di altre patologie neurologiche che possono interferire con l'outcome; presenza di altre patologie internistiche che possono interferire con l'outcome o con il trattamento.

E' previsto un ciclo riabilitativo di 20 sedute, ciascuna di 1h/die, per almeno uno degli ambiti riabilitativi di cui può necessitare il paziente (motorio, logopedico, cognitivo).

Valutazioni a T1 e T2: Fugl-Meyer (FM); Nine hole pegboard test; Box and block; TUG dual task Test dei 10 mt; Barthel index ; Asworth Spasticity Scale, Fatigue Severity Scale Aachen Aphasia Test; Beck Depression Inventory (BDI); Montreal Cognitive Assessment (MoCA); Short-Form-36 health outcome (SF-36); Perceived Disease Impact Scale (PDIS); Caregiver Burden Inventory (CBI).

Nel 2020, l'attività svolta dall'IRCCS San Raffaele Pisana ha riguardato la conclusione del reclutamento, valutazione e trattamento dei pazienti come da protocollo sperimentale.

Sono stati reclutati 18 soggetti con esiti di ictus (età media \pm DS 66.5 \pm 11.7; 11 femmine). I soggetti hanno mostrato tra l'inizio e la fine del trattamento un miglioramento nella funzionalità dell'arto superiore e inferiore misurata con la Fugl-Meyer Assessment (T1=169.2 \pm 36.1 punti; T2=177.6 \pm 33.3 punti), nell'equilibrio misurato con la Berg Balance Scale (T1=38.6 \pm 12.3 punti; T2=40.5 \pm 12.6 punti), nella disabilità misurato con il Barthel Index (T1=77.9 \pm 19.4 punti; T2=80.8 \pm 20.3 punti), e nella velocità del cammino misurata con il 10 meters Walking Test (T1=15.0 \pm 9.5 secondi; T2=14.2 \pm 10.3 secondi).

Lo studio vuole comprendere se come un sistema innovativo per la somministrazione, la valutazione e la misura dell'esercizio riabilitativo in ambito domiciliare sia fattibile e efficace. I risultati permetteranno di valutare in modo quantitativo se la teleneuroriabilitazione possa effettivamente essere considerata una continuità assistenziale in pazienti neurologici e quali miglioramenti potranno essere necessari affinché tale trattamento sia utilizzabile su larga scala.

Sviluppo ed implementazione di protocolli di Teleneuroriabilitazione domiciliare, differenziata in base a patologia, età e funzione

L'utilizzo di nuove tecnologie nel campo della riabilitazione funzionale per le disabilità dello sviluppo ha permesso il diffondersi di nuovi strumenti di intervento. Tra questi, la tele-

riabilitazione consiste in una forma di riabilitazione specializzata che permette l'uso di servizi riabilitativi a distanza servendosi delle tecnologie informatiche e della comunicazione (ICT), al fine di potenziare l'effetto della medicina tradizionale, favorire una vita indipendente e semplificare l'accesso ai servizi riabilitativi (American Telemedicine Association – Associazione Americana di Telemedicina, 2017). La tele-riabilitazione, pertanto, permette un intervento tempestivo, adattato al singolo soggetto mediante forme di monitoraggio online da parte del clinico esperto, integrando la cura del paziente in ospedale con attività specifiche in contesto ecologico e seguendo i criteri chiave della riabilitazione neuropsicologica basata sull'evidenza (Zoccolotti, *Giornale Italiano di Psicologia* 2011). Tale modalità, inoltre, consente una riduzione significativa dei costi e dei tempi sanitari (Cantagallo, 2014), accorciando il ricovero ospedaliero e permettendo il proseguimento del processo riabilitativo a domicilio, pur mantenendo livelli di efficienza elevati (Torsney, 2003; Winters & Winters, 2004). La teleriabilitazione, inoltre, svolge inoltre un ruolo fondamentale nel potenziamento della medicina evidence-based, in quanto sfrutta tecniche innovative in grado di immagazzinare numerose quantità di dati e per periodi di tempo prolungati (Hill, 2010). A seguito della diffusione internazionale, anche in Italia si è assistito alla diffusione di software di tele-riabilitazione finalizzati ad intervenire su alcune problematiche del neurosviluppo, con dati promettenti in termini di potenziamento di diverse abilità (Grunewaldt, Lohaugen, Austeng, Brubakk, & Skranes, 2013; Lee, Pei, Andrew, A Kerns, & Rasmussen, 2017; Sgandurra et al. 2014, 2017, 2018; Inguaggiato 2015; Sgandurra, Cecchi et al. 2018).

Lo studio in esame ha come obiettivo quello di valutare la fattibilità di un programma di valutazione e potenziamento domiciliare sugli aspetti cognitivo-motori in età pediatrica, grazie alla collaborazione di una rete di IRCCS. Tale studio si avvale dell'utilizzo di dispositivi ICT, tra i quali annoveriamo anche il sistema di realtà virtuale non invasiva VRRS Khymeia. I trattamenti basati su sistemi di realtà virtuale (VR) possono giocare, infatti, un ruolo importante nella riabilitazione pediatrica. Questi si basano su un ambiente artificiale presentato al computer, con cui i soggetti interagiscono attraverso dei dispositivi quali sensori di movimento, videocamere, tastiere etc., ricevendo feedback continui. Molti studi riportano l'efficacia di trattamenti di riabilitazione tramite l'utilizzo di realtà virtuale nell'età adulta (Kiper 2018, 2014; Turolla, 2013). Anche se in misura minore, alcuni studi si sono focalizzati sull'utilizzo della VR nei bambini e i risultati suggeriscono che potrebbe essere uno strumento promettente per la riabilitazione pediatrica. In particolare, uno di questi studi (Olivieri et al. 2013) indaga in modo specifico il trattamento riabilitativo di bambini dai 4 ai 16 anni con emiplegia congenita tramite la piattaforma VRRS Khymeia. I risultati mostrano evidenze incoraggianti a proposito dell'utilizzo di questo dispositivo in età pediatrica per la riabilitazione motoria. Tuttavia, la dimensione del campione è limitata e il numero delle sessioni esiguo. Pertanto, nuovi studi si rendono necessari per confermare i risultati positivi ottenuti.

Il progetto ha inoltre, come obiettivo, quello di verificare la possibilità di implementare dei protocolli di trattamento che integrino la riabilitazione di funzioni motorie e di funzioni cognitive, ad oggi spesso considerate separatamente nei diversi programmi di intervento.

L'obiettivo primario dello studio è la valutazione di fattibilità di un programma di valutazione e di potenziamento cognitivo-motorio in età pediatrica (4-18 anni) a casa dei partecipanti, mediante creazione di uno strumento idoneo per l'ottenimento di dati circa l'usabilità e l'accettabilità di un sistema tecnologico domiciliare sia dal punto di vista dei soggetti stessi (bambini arruolati) che dei loro caregivers che dal punto di vista dello staff clinico/riabilitativo coinvolto nella pianificazione e nel monitoraggio dell'intervento.

L'ampia collaborazione dello studio è volta a unificare, tra diversi IRCCS, programmi di valutazione e di tele-riabilitazione mirati al potenziamento delle funzioni cognitivo-motorie in soggetti in età evolutiva, con lesioni cerebrali congenite o acquisite. Sono inoltre condotte prime analisi di correlazione tra i dati clinici e strumentali e di efficacia di tali strumenti valutando i cambiamenti pre-post (T0-T1) sia a livello delle scale cliniche che delle misure strumentali.

La teleriabilitazione potrebbe essere particolarmente adatta all'implementazione delle best practices per i bambini con disabilità quando l'obiettivo del trattamento è quello di supportare i bambini e le loro famiglie, condividere informazioni, costruire capacità, favorire l'autogestione e creare opportunità per i bambini di esercitare e sviluppare abilità.

Il progetto del Network IRCCS di Riabilitazione Pediatrica ha come obiettivo la definizione di programmi di teleriabilitazione per l'età evolutiva mirati al potenziamento delle funzioni cognitivo-motorie in soggetti con lesione cerebrale congenita o acquisita. È verificata la fattibilità di un programma di potenziamento cognitivo-motorio praticato a domicilio mediante creazione di uno strumento idoneo per l'ottenimento di dati circa l'usabilità e l'accettabilità di un sistema tecnologico domiciliare da parte di tutti gli stakeholders coinvolti: soggetti stessi (bambini arruolati), caregivers e dal punto di vista dello staff clinico/riabilitativo coinvolto nella pianificazione e nel monitoraggio dell'intervento. Lo studio coinvolge i seguenti IRCCS: IRCCS Fondazione Stella Maris (centro promotore); IRCCS San Raffaele Pisana – Roma; IRCCS Oasi Research Institute – Troina; IRCCS Eugenio Medea -Bosisio Parini, Lecco; IRCCS Ospedale pediatrico Bambino Gesù – Roma; IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi – Milano; IRCCS Fondazione Mondino – Pavia; IRCCS Centro Neurolesi Bonino Pulejo – Messina.

Si prevede la selezione di un gruppo di 50 (10 presso l'IRCCS San Raffaele Pisana) bambini tra i 4 e i 18 anni con lesione cerebrale congenita o acquisita. Si prevede un'attribuzione non randomizzata, in quanto basata sui bisogni di trattamento specifici dei bambini alla luce dell'età e del profilo neuropsicologico.

Il disegno di studio prevede le seguenti fasi: 1) Analisi della libreria degli esercizi di riabilitazione; 2) Identificazione dei casi reclutabili; 3) Reclutamento; 3) Consegna dei tablet e riabilitazione.

L'attività del 2020 ha avuto come obiettivo la definizione degli esercizi adatti alla popolazione oggetto dello studio e al protocollo di valutazione. Nel 2020 il progetto è stato definitivo e approvato dal Comitato Etico. È stato reclutato il primo soggetto dello studio a cui è stato consegnato il tablet per la teleriabilitazione e sta svolgendo terapia a distanza non riscontrando particolari criticità. L'attività del 2021 riguarderà il reclutamento di ulteriori pazienti.

Lo studio vuole comprendere se e come un sistema innovativo per la somministrazione, la valutazione e la misura dell'esercizio riabilitativo in ambito domiciliare sia fattibile anche per pazienti in età evolutiva. I risultati permetteranno di comprendere punti di forza e debolezza di tale trattamento in una popolazione particolarmente predisposta all'utilizzo delle nuove tecnologie.

Studio finalizzato alla messa a punto e al collaudo del Network Italiano di Teleneuroriabilitazione

Il Progetto di Rete “Sviluppo e implementazione di un Network italiano di Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale” ha durante la sua fase di attuazione consentito di sviluppare protocolli riabilitativi sperimentali condividendo e definendo linee guida, metodologie e protocolli su scala nazionale. I dati preliminari dimostrano lo sviluppo e l'implementazione di percorsi riabilitativi che garantiscono la continuità assistenziale del paziente nelle proprie abitazioni o in altre strutture diverse da quelle ospedaliere, con la supervisione ed il monitoraggio da remoto da parte del personale che li ha prescritti, riducendo i costi di ospedalizzazione, ottimizzando i tempi di attesa e migliorando l'impiego delle risorse dedicate. Il quadro normativo attuale è fornito dal D. leg.10-8-18 n°101, contenente le disposizioni per l'adeguamento del Codice della Privacy (D. Lgs 196/2003) alle disposizioni del Reg UE 2016/279- GDPR relativo alla protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali nonché alla libera circolazione di tali dati e che abroga la direttiva 95/46/CE (regolamento generale sulla protezione dei dati), quest'ultima concepita in un periodo in cui la tecnologia in rete non era sviluppata.

L'implementazione in rete del sistema consentirà la creazione di un database ampio, multicentrico, con risultati afferenti da attività riabilitative su più domini e in differenti patologie. In questa prima fase, inoltre, tale complesso ma efficace sistema permetterà di individuare dettagliatamente i correttivi per far fronte alle possibili difficoltà tecniche, prevedibilmente connesse alla debolezza di linea in alcune case di pazienti e alle, altrettanto possibili, difficoltà organizzative, conseguenti alla estrema variabilità nel territorio nazionale delle reti socio-sanitarie locali.

Alla fine del progetto, indipendentemente dal settore riabilitativo di eccellenza di ogni work package, dovrà essere stilato un protocollo generale riabilitativo di minima (a cura del centro coordinatore, condiviso da tutti i partecipanti, in modo da poter standardizzare le diverse attività riabilitative. Il sistema, inoltre, consentirà di definire più agevolmente la raccolta, la consultazione e la produzione di report dati in studi multicentrici che coinvolgano IRCCS appartenenti alla rete e di dotarsi di una interfaccia unica ed estesa a livello nazionale, con cui presentarsi per attività di ricerca con enti e infrastrutture internazionali.

Il presente progetto ha i seguenti obiettivi: 1) sviluppare una piattaforma che consenta di rispondere alle esigenze legate alla normativa sulla privacy, all'anonimizzazione dei dati che si configura come un trattamento che ha lo scopo di impedire l'identificazione dell'interessato. 2) monitorare l'outcome riabilitativo grazie all'utilizzo di parametri neurofisiologici multidimensionali; 3) validare un sistema di riabilitazione cognitiva domiciliare tramite biofeedback; 4) valutare l'efficacia della realtà virtuale immersiva, applicata attraverso sistemi di teleriabilitazione, sugli outcome funzionali di diverse patologie neurologiche.

Al termine dello studio la rete di Neuroscienze avrà messo a punto una rete di teleneuroriabilitazione in grado di gestire da remoto i trattamenti riabilitativi consentendo di monitorare le performance del paziente di salvare i dati in modo centralizzato, anonimizzato e sicuro.

Nel progetto di Teleriabilitazione della Rete di Neuroscienze è di fondamentale importanza la messa a punto della condivisione e anonimizzazione dei dati. A tal proposito, il coordinamento delle reti di teleneuroriabilitazione viene effettuato grazie all'utilizzo delle più avanzate tecniche ICT.

E' prevista l'implementazione di una soluzione cloud, chiamata VCN (VRRS Cloud Network), che prevede la raccolta Centralizzata dei dati raccolti da ogni singolo IRCCS tramite le proprie strumentazioni (già in dotazione o di prossima acquisizione) e la condivisione di protocolli clinici sviluppati dai vari workpackage appartenenti alla rete, e specializzati in un determinato settore riabilitativo. In particolare, la soluzione cloud prevede la presenza di un server, chiamato VSM (VRRS Server Manager), che diviene il repository delle schede paziente e dei dati raccolti dai vari VRRS presenti nella rete. Tutte le comunicazioni tra ognuna delle macchine VRRS ed il VSM avvengono tramite un servizio WCF (Windows communication Foundation), criptato e risiedente sul VSM, che si configura come slave rispetto a chiamate in arrivo dalle singole strumentazioni VRRS. Il server VSM espone la possibilità, tramite una interfaccia web e tramite un servizio WCF dedicato, di essere interrogato tramite query programmabili.

Il reclutamento dei pazienti e l'attività sperimentale inizieranno nel 2021.

LABORATORIO DI ENDOCRINOLOGIA CARDIOVASCOLARE

PREMED-CAD - on Cardiovascular Diseases

Mechanism of early atherosclerosis and/or plaque instability in Coronary Artery

Le malattie cardiovascolari (CVD) rappresentano la maggiore causa di morbidità e mortalità nella Comunità Europea, e hanno un enorme impatto socio-economico contribuendo con circa 200 miliardi di euro alle spese sanitarie annuali. Anche se ormai siamo a conoscenza di numerosi fattori di rischio e biomarkers di malattie cardiovascolari (CAD), i mezzi a nostra disposizione

ancora non consentono di identificare adeguatamente i soggetti a rischio “short term”. Per questi motivi risulta necessario individuare approcci innovativi che consentano di identificare con più sicurezza e precocità i soggetti a rischio. Nel PREMEDI-CAD si intende utilizzare un approccio interdisciplinare e traslazionale, integrando le conoscenze esistenti relative alla epidemiologia, alla bioinformatica, all’ “imaging”, alla statistica e alla biologia molecolare nell’ambito delle malattie coronariche. PREMEDI-CAD si origina da dati relativi a biomarker conosciuti relativamente a distinte patologie coronariche e da fenotipi subclinici di ischemia miocardica, da dati riguardanti immagini funzionali, da dati inerenti diverse coorti epidemiologiche e biobanche, da metodologie informatiche e modelli animali.

Sono integrati biomarkers individuati da campioni ematici e altri basati su evidenze cliniche per creare un identikit di biomarkers che saranno validati in modelli murini prone all’aterosclerosi e in coorti di pazienti. Una volta ottenuta la validazione, questi biomarkers saranno traslati e utilizzati in un “clinical trial” di prevenzione già in corso, che prevede l’arruolamento di 3000 pazienti con ischemia subclinica. PREMEDI-CAD consentirà di: 1) delineare la via per l’utilizzo di mezzi accessibili nel riconoscimento precoce di soggetti a rischio di CAD a breve o medio termine, 2) identificare la necessità di strategie di intervento, 3) esplorare la fisiopatologia molecolare e il profilo dell’ischemia del miocardio in una visione complessiva, e 4) intervenire con la medicina di precisione sui pazienti afferendo a uno studio clinico già in essere.

Le malattie cardiovascolari sono la principale causa di morte nella popolazione europea, e in molti paesi sono responsabili di più del doppio dei decessi imputabili al cancro. L’identificazione di soggetti a rischio immediato o a breve termine (< 12 mesi) di eventi coronarici, come l’infarto del miocardio (MI) e l’angina, è divenuta necessaria per ridurre significativamente le mortalità e morbilità riconducibili a eventi coronarici. Facendo riferimento al “German Heart Report” del 2016, circa 420,000 individui hanno subito un evento ischemico acuto. Ciò si traduce in circa 3.5 milioni di eventi in Europa. In uno o due terzi di questi soggetti, nei 12 mesi precedenti l’evento acuto, si erano verificati almeno una volta sintomi che potessero suggerire l’ischemia miocardica. Il numero totale di individui che ogni anno presentano sintomi che possano essere ricondotti a ischemia miocardica non acuta, si aggira intorno ai 2 milioni. Pertanto, un’identificazione precoce di tali soggetti a rischio è divenuta necessaria per predisporre trattamenti immediati ed efficaci e in una visione più ampia, per ridurre i problemi di salute pubblica e socioeconomici legati alle malattie cardiovascolari.

Circa 3.5 milioni di persone in Europa ogni anno sono soggette a un evento ischemico acuto. Più di due terzi di questi pazienti afferiscono al pronto soccorso almeno una volta nei dodici mesi precedenti l’evento acuto, ma i mezzi clinici a disposizione ad oggi, non consentono di identificare adeguatamente questi soggetti che necessiterebbero di interventi farmacologici o procedure interventistiche a breve termine. Molti di questi pazienti “a rischio” vengono dimessi come sani, anche se biomarkers come la troponina sembrerebbero indicare ischemia miocardica. Nella pratica clinica, questi pazienti non vengono sostenuti dalla terapia che sarebbe loro necessaria. E’ divenuto pertanto necessario tentare di diminuire la mortalità e morbilità di questi pazienti a rischio somministrando terapie preventive quali gli anticoagulanti o il trattamento volto alla diminuzione del colesterolo LDL, o procedure di intervento quali la coronarografia. Fondamentale al fine di mettere in atto tali propositi è l’individuazione precoce dei soggetti a rischio.

Questo progetto si basa sull’ipotesi che l’individuazione di uno specifico profilo di biomarkers ci potrebbe consentire di evidenziare potenziali soggetti a rischio di eventi ischemici coronarici a breve termine. Inoltre l’utilizzo di tali biomarkers in uno studio clinico potrebbe consentire di ridurre mortalità e morbilità.

Al fine di raggiungere gli ambiziosi traguardi prefissati, sono stati definiti quattro “Work Packages” (WPs).

WP1 Specific Aims:

1) Derivazione bioinformatica dei primi profili minimi di biomarcatori “consensus”, 2) Identificazione dei “pathways” coinvolti, 3) Determinazione del profilo di biomarcatori ottimizzato in seguito alla validazione (WPs 2A e 2B).

WP2 Specific Aims:

Condensare il gruppo di biomarcatori identificati dal WP1 (steps 1 e 2), in un sottogruppo che consenta di predire specificamente uno stato ischemico subclinico predittivo di un rischio a breve termine.

WP2A: 1) Validazione sperimentale in modelli murini del profilo di biomarcatori, 2) Determinazione delle dinamiche che coinvolgono i biomarcatori nell’ambito dell’intero spettro di malattie cardiovascolari (da stato fisiologico a quello patologico).

WP2B: 1) Validazione del profilo di biomarcatori in coorti/biobanche di ischemia precoce, 2) Studio delle dinamiche che coinvolgono i biomarcatori nel passaggio dallo stato di salute a quello patologico.

WP3 : Applicazione retrospettiva e traslazionale del profilo di biomarcatori ottimizzato, in un trial clinico già in corso (GREYZONE)

Poiché è già stato identificato un consistente gruppo di differenti biomarcatori emergenti coinvolti nella identificazione di soggetti ad alto rischio di evento coronarico imminente, ci si aspetta che, in seguito a correlazione con dati epidemiologici e a validazione in modelli animali, sarà possibile individuare il miglior profilo di biomarcatori e i relativi “pathways”, attraverso approcci bioinformatici e biostatistici. Inoltre lo specifico approccio di questo studio interdisciplinare basato sull’applicazione retrospettiva e traslazionale immediata in uno studio clinico già in essere, consentirà di verificare l’applicabilità clinica di questo profilo ottimizzato di biomarcatori per l’identificazione precoce di soggetti ad alto rischio di eventi coronarici, e il suo potenziale nel ridurre mortalità e morbilità nella pratica clinica quotidiana.

Ad oggi non sono noti approcci sistemici interdisciplinari su larga scala di predizione del rischio. L’approccio di validazione utilizzato nel PREMEDI-CAD consentirà di individuare esclusivamente quei biomarcatori che si evidenziano unicamente in presenza di patologie ischemiche e che con esse correlano dal punto di vista fisiopatologico. L’applicazione immediata allo studio clinico GREYZONE, rappresenterà il primo approccio traslazionale per la valutazione clinica su larga scala di un profilo di biomarcatori dell’ischemia miocardica, scrupolosamente identificati come finora descritto.

WP2A: Modelli murini di aterosclerosi e infarto del miocardio e misurazione dei biomarcatori.

Al fine di promuovere lo sviluppo di aterosclerosi nel gruppo sperimentale (definito “ATH”), per 4 settimane sono stati sottoposti a trattamento con Aldosterone e a dieta aterogena (con 42% di contenuto in grassi) topi maschi e femmine ApoE KO, di età compresa tra 9 e 10 settimane di età. Sono stati utilizzati sia maschi che femmine per valutare se nei topi di sesso femminile la presenza di estrogeni potesse ulteriormente migliorare la protezione dall’aterosclerosi. Infatti l’azione degli estrogeni nei topi di sesso femminile potrebbe aggiungersi agli effetti protettivi sull’aterosclerosi. La dieta utilizzata è una dieta commerciale (Envigo) che accelera lo sviluppo di ipercolesterolemia e di placche aterosclerotiche. Durante le 4 settimane di dieta aterogena ciascuno dei due gruppi è stato trattato con Aldosterone (ALDO, 6 µg/Kg al giorno) tramite minipompa, o con soluzione di controllo. Oltre al gruppo sperimentale ApoE KO ALDO o ApoE KO (gruppo di controllo), è stato trattato con Aldosterone anche un gruppo sperimentale di topi C57BL6 wild type di 9-10 settimane (maschi e femmine) che rappresentano un secondo gruppo di controllo (per analizzare l’effetto specifico di Aldosterone).

Le minipompe sono state lasciate negli animali dei tre gruppi sperimentali per 4 settimane.

Al termine della dieta aterogena e del trattamento con ALDO (o soluzione di controllo) è stato effettuato un prelievo di sangue periferico dal plesso sub-mandibolare per ottenere il plasma che è stato stoccato a -80°C in aliquote. Nel plasma sono successivamente analizzati i livelli circolanti dei biomarcatori indicati dall’unità tedesca del progetto PREMEDI-CAD (coordinata dal Prof. Karakas).

Successivamente al prelievo di sangue, gli animali sono stati sacrificati e sono stati dissecati CUORE, AORTA e TESSUTO ADIPOSO VISCERALE che sono stati stoccati e verranno analizzati per valutare l'espressione tissutale degli stessi marcatori analizzati nel plasma.

In parallelo allo studio descritto, si effettua la procedura chirurgica di legatura dell'arteria coronarica ("Ligation of the left anterior descending coronary artery") per indurre infarto del miocardio in topi maschi e femmine C57BL6 wild type di 8 settimane di età (gruppo sperimentale denominato "MIF1"). In tale gruppo sperimentale, i topi vengono sacrificati 20 minuti dopo la conclusione dell'operazione chirurgica. In un altro gruppo sperimentale, composto da topi maschi e femmine C57BL6 wild type (gruppo sperimentale denominato "MIF2"), gli animali vengono sacrificati 6 ore dopo la conclusione legatura coronarica. Infine in un terzo gruppo sperimentale composto da topi maschi e femmine C57BL6 wild type (gruppo sperimentale denominato "MIF3") il sacrificio degli animali avviene 24 ore dopo la legatura coronarica. Come controlli viene costituito un quarto gruppo di topi C57BL6 wild type maschi e femmine di 8 settimane di età, che rappresenteranno topi di controllo e sono sacrificati senza aver subito procedura chirurgica (gruppo sperimentale di controllo denominato "MIF 0").

Quindi i topi dei gruppi MIF 1, MIF 2 e MIF 3 subiscono lo stesso tipo di intervento chirurgico ma vengono sacrificati a tempi diversi. Infine dopo 20 minuti, 6 ore o 24 ore dalla fine dell'operazione chirurgica viene effettuato un prelievo di sangue periferico dal plesso sub-mandibolare per ottenere il plasma che viene stoccato a -80°C in aliquote. Anche nel siero dei gruppi MIF 1, MIF 2, MIF 3, vengono successivamente analizzati i livelli circolanti dei biomarcatori in studio. Dopo il prelievo, gli animali vengono sacrificati e vengono dissecati CUORE, AORTA e TESSUTO ADIPOSO VISCERALE che sono stoccati e analizzati per valutare l'espressione tissutale degli stessi marcatori analizzati nel plasma.

Relativamente al task WP2A, da effettuarsi presso l'IRCCS San Raffaele Pisana, i topi ApoE KO del gruppo ATH, nel numero previsto per gli esperimenti e descritto nel progetto, è stata trattata con ALDO (o soluzione di controllo) ed è stato ottenuto il plasma dal prelievo di sangue ottenuto dopo sacrificio degli animali. Dagli animali ATH sono stati dissecati inoltre CUORE, AORTA, DEPOSITI DI TESSUTO ADIPOSO (grasso bianco e grasso bruno) e RENE. Plasma e tessuti sono stati stoccati a -80°C, e circa il 70% dei campioni da analizzare è già stato inviato in Germania dove saranno analizzati dall'unità tedesca del progetto PREMEDI-CAD (coordinata dal Prof. Karakas).

Per effettuare gli esperimenti sui gruppi sperimentali MIF 0, MIF 1, MIF 2, MIF 3 (e ottenere plasma e tessuti da tali gruppi sperimentali) è stato approvato il protocollo sperimentale da parte del Ministero della Salute e sono partiti i primi interventi di legatura dell'arteria coronarica al fine di procurare l'infarto del miocardio (MI), sui gruppi MIF 0, MIF 1, MIF 2, MIF 3 per poterne ricavare plasma e tessuti da analizzare.

L'impatto clinico del PREMEDI-CAD è fondamentale se si considera che le malattie cardiovascolari rappresentano la causa principale di mortalità e morbilità nella Comunità Europea, e che ciò determina un impatto socioeconomico enorme poiché fanno aumentare la spesa annua di circa 200 miliardi di Euro. La prevenzione di eventi derivanti dall'aterosclerosi quali l'infarto e la riduzione dell'ospedalizzazione e della mortalità dovute a malattie cardiovascolari attraverso l'utilizzo di test diagnostici facilmente praticabili e per mezzo di approcci di medicina di precisione, rappresenta un traguardo ambito. I pazienti necessitano di un approccio che si basi sui più alti requisiti tecnici e qualitativi. Come descritto precedentemente, questo studio ambisce a delineare un metodo per la determinazione precoce di soggetti a rischio che possa consentire di abbassare i livelli di mortalità e morbilità. L'attenzione in questo studio è posta principalmente sulla mortalità derivante da eventi cardiovascolari, sull'infarto del miocardio e sulla rivascolarizzazione coronarica e la sua accuratezza in termini di risultati prefissi, di approccio sperimentale e di analisi statistiche, lo rendono uno studio altamente competitivo a livello internazionale.

Responder/non-responder in clinical trials of medication treatment for CVD, Omics analyses in these subjects, Bioinformatical analyses to derive signature, validation in additional cohorts/Trials and animal models, final molecular signature by bioinformatics

Le malattie cardiovascolari rappresentano la causa principale di mortalità e morbilità nella Comunità Europea, e che ciò determina un impatto socioeconomico enorme poiché fanno aumentare la spesa annua di circa 200 miliardi di Euro. La medicina basata sulle evidenze, ha consentito un notevole avanzamento nel trattamento delle malattie coronariche (CHD), e il suo progresso è stato favorito dagli studi interventistici multicentrici. Nonostante ciò nell'ultimo decennio, la maggior parte degli studi clinici su larga scala ha raggiunto differenze statisticamente significative solamente nel risultato finale, ma sono risultati scarsamente efficaci nel ridurre in modo rilevante il rischio residuo. Perciò sono divenuti urgenti approcci innovativi che consentano di superare questo orientamento e di promuovere una farmacoterapia individualizzata nel trattamento delle CHD. Durante lo svolgimento del MATCH, si utilizza un approccio interdisciplinare e traslazionale che consente di integrare le conoscenze provenienti dalle analisi di un fenotipo molecolare che raggruppi ciò che è noto dalle "Omics technologies", dall'epidemiologia cardiovascolare, dall'"imaging", dalla bioinformatica, dalla statistica e dalla biologia molecolare. MATCH trae origine da dati noti di fenotipi-genotipi individualizzati provenienti da differenti studi clinici nell'ambito delle CHD, da dati di immagini funzionali, da evidenze provenienti da coorti epidemiologiche e da biobanche, da metodologie bioinformatiche e da modelli animali. La bioinformatica che si serve di modelli di apprendimento basati sui computer, è in grado di generare un pannello caratteristico di biomarcatori come responsivi o non-responsivi considerando una varietà di studi sui lipidi cardiovascolari. Questo profilo di biomarcatori è ottimizzato in modelli murini prone all'aterosclerosi e su gruppi di pazienti. Il profilo così ottenuto è validato su un secondo sottogruppo di pazienti arruolati nello studio e, in ultimo, è trasferito in uno studio longitudinale già in essere, basato sull'"imaging" (OCT) che ha come scopo quello di valutare la progressione dell'aterosclerosi in pazienti con CHD. MATCH ci consente di 1) tracciare la strada per l'utilizzo di metodi accessibili per il trattamento mirato delle malattie cardiovascolari (CVD), 2) esplorare la fisiopatologia ed il profilo delle risposte individuali alle terapie preventive, e 3) servirsi della medicina personalizzata per la cura dei pazienti utilizzando una farmacoterapia individualizzata.

Facendo riferimento al "German Heart Report" del 2016, circa 420,000 individui hanno subito un evento ischemico acuto. Ciò si traduce in circa 3.5 milioni di eventi in Europa. In accordo con le attuali linee guida questi pazienti vengono sottoposti a una terapia di controllo del profilo lipidico, somministrando in particolare statine, ezetimibe, e inibitori della PCSK9. Tuttavia, il rischio residuo, per esempio l'incidenza di eventi ischemici secondari, che permane durante la terapia indicata dalle linee guida, risulta tuttora troppo elevato. Circa i due terzi di questi pazienti vanno incontro a eventi coronarici secondari nell'arco di 10 anni. Il trattamento individualizzato delle malattie cardiovascolari risulta necessario al fine di ridurre mortalità e morbilità associate a eventi coronarici, e per ridurre a lungo termine, i problemi socioeconomici e di salute pubblica originati dalle malattie cardiovascolari.

Circa 3.5 milioni di persone in Europa ogni anno sono soggette a un evento ischemico acuto. Approssimativamente i due terzi di questi soggetti sono soggetti a eventi coronarici secondari nei 10 anni di follow up successivi. Sono divenuti necessari approcci innovativi che consentano di superare questo andamento e di promuovere quindi una farmacoterapia individualizzata nel trattamento delle malattie coronariche. La rete traslazionale ha arruolato forze che possono servirsi efficientemente di tutti i dati e le conoscenze finora disponibili in grado di facilitare la messa a punto di una terapia individualizzata delle CHD da un punto di vista multidisciplinare e sinergistico. Le scoperte scientifiche e l'organizzazione infrastrutturale raggiunta in seno ai gruppi facenti parte del network (per es. gruppi epidemiologici e già arruolati in trials clinici con fenotipi dettagliati e inseriti in biobanche corredati di conoscenza esaustiva nella gestione dati e nelle discipline legali e etiche; tecniche sperimentali di biologia molecolare e con uso di modelli

animali standardizzate; studio clinico basato sull'“imaging” coronarico ; infrastrutture bioinformatiche ad alto potenziale a disposizione) costituiscono basi eccellenti per consentire di aumentare le potenzialità di applicazioni ad ampio raggio degli studi interdisciplinari.

Per raggiungere i gli obiettivi sono stati organizzati 5 gruppi di lavoro (WPs) complementari:

WP1: Valutazione e correlazione di “OMICs technologies” disponibili derivanti da tutti i “clinical trials “.

WP2: Derivazione bioinformatica e validazione del profilo di biomarcatori.

WP3: Validazione del profilo di marcatori in gruppi di soggetti malati, in un sottogruppo di individui afferenti al clinical trial e in modelli animali di aterosclerosi.

WP4: Applicazione traslazionale nel Clinical trial OTC WP5: Gestione del progetto che avendo un approccio traslazionale e clinico necessita di particolare attenzione per quanto concerne problematiche riguardanti l'etica e la raccolta di dati sensibili.

MATCH consentirà di 1) tracciare la strada per l'utilizzo di metodi accessibili per il trattamento mirato delle malattie cardiovascolari, 2) esplorare la fisiopatologia e il profilo delle risposte individuali alla terapia ipolipemizzante e fornirne una visione organica, e 3) servirsi della medicina personalizzata per la cura dei pazienti utilizzando una farmacoterapia individualizzata.

A oggi non sono disponibili approcci sistemici interdisciplinari su larga scala per una terapia di controllo lipidico. MATCH rappresenta un network interdisciplinare di ricercatori giovani e dinamici in grado di integrare la conoscenza relativa alle malattie cardiovascolari e all'epidemiologia, con la bioinformatica, la statistica, la biologia molecolare e la fisiologia. Tutti i ricercatori afferenti al progetto possiedono una lunga esperienza nel loro settore di ricerca e condividono la loro esperienza e le risorse disponibili per complementarsi a vicenda e lavorare in stretta sinergia. Inoltre tutti i membri del consorzio trarranno benefici da network professionali instaurati nel corso degli anni con altri istituti che si distinguono nel campo delle malattie cardiovascolari e nell' approccio alla medicina personalizzata.

WP3: Modelli murini di aterosclerosi- Per determinare lo sviluppo di aterosclerosi nel gruppo sperimentale di topi ApoE KO, topi maschi e femmine di età compresa tra 9 e 10 settimane, sono stati sottoposti a trattamento con Aldosterone e a dieta aterogenica (con 42% di contenuto in grassi) per quattro settimane. Sono stati utilizzati sia maschi che femmine per valutare se nei topi di sesso femminile la presenza di estrogeni possano ulteriormente migliorare la protezione dall'aterosclerosi. Infatti l'azione degli estrogeni nei topi di sesso femminile potrebbe aggiungersi agli effetti protettivi sull'aterosclerosi. La dieta utilizzata e' una dieta commerciale (Envigo) che accelera lo sviluppo di ipercolesterolemia e di placche aterosclerotiche. Durante le 4 settimane di dieta aterogenica ciascuno dei due gruppi sono stati trattati con Aldosterone (ALDO, 6 µg/Kg al giorno) tramite minipompa, o con soluzione di controllo. Oltre al gruppo sperimentale ApoE KO ALDO o ApoE KO (gruppo di controllo), sono stati trattati con Aldosterone anche un gruppo sperimentale di topi C57BL6 wild type di 9-10 settimane (maschi e femmine) che rappresenta un secondo gruppo di controllo (per analizzare l'effetto specifico di Aldosterone).

Le minipompe sono state lasciate negli animali dei tre gruppi sperimentali per 4 settimane.

Al termine della dieta aterogenica e del trattamento con ALDO (o soluzione di controllo) è stato effettuato un prelievo di sangue periferico dal plesso sub-mandibolare per ottenere il plasma e stoccato a -80°C in aliquote. Successivamente al prelievo di sangue, gli animali sono stati sacrificati e sono stati dissecati CUORE, AORTA e TESSUTO ADIPOSO VISCERALE che sono stati stoccati.

I campioni di plasma e tessuti ottenuti dal sacrificio degli animali utilizzati nel protocollo sperimentale, sono stati interamente spediti in Germania dove saranno analizzati per valutare l'espressione dei marcatori identificati attraverso gli studi di bioinformatica, nel modello animale.

L'impatto clinico di MATCH risulta fondamentale in considerazione del fatto che le malattie cardiovascolari rappresentano la causa principale di mortalità e morbidità nella Comunità Europea, e che ciò determina un impatto socioeconomico enorme poiché fanno aumentare la

spesa annua di circa 200 miliardi di Euro. Il peso economico sui budget della salute pubblica è tanto elevato poiché una frazione considerevole di pazienti affetti da disturbi cardiovascolari fanno parte di una categoria di persone in età produttiva e che potrebbero ancora contribuire attivamente all'economia. La prevenzione di eventi cardiovascolari secondari e la riduzione delle ospedalizzazioni e delle morti da CVD per mezzo di approcci di medicina personalizzata e "target therapy", sono considerati il traguardo a cui ambire. I pazienti necessitano di studi che tentino di raggiungere i più alti standard possibili in termini di qualità e tecniche utilizzate. Il gruppo di ricerca afferente al MATCH ambisce all'individuazione di una terapia individualizzata delle malattie cardiovascolari che possa far decrescere mortalità e morbidità ad esse legate. Pertanto verranno combinati gli sforzi per avere prima di tutto un impatto sulla salute pubblica. Se avremo successo, i progressi nei nostri studi ci consentiranno non solo di influire sulla salute pubblica, ma anche di cambiare le regole e le conoscenze per il trattamento delle malattie cardiovascolari.

MATCH influirà sulla salute pubblica nei seguenti modi:

- 1) Consentirà di valutare il rischio cardiovascolare attraverso biomarcatori attendibili al fine di indicare la strada verso la terapia personalizzata
- 2) Aumenterà la pubblica consapevolezza nei confronti di una gestione personalizzata nella cura delle CVD sia in ambito clinico che scientifico e politico
- 3) Rappresenterà la possibilità di diminuire le morbidità associate alle malattie cardiovascolari e conseguentemente di incrementare l'aspettativa di vita e favorire un invecchiamento in salute.

RICERCA FINALIZZATA

LABORATORIO DI IMMUNOPATOLOGIA SINAPTICA

Rilevanza clinica del miR-142-3p come potenziale biomarcatore della sinaptopatia nella Sclerosi Multipla

Unità 2 - Mediatori lipidici pro-risolutivi specializzati nella risoluzione della sclerosi multipla

La sinaptopatia infiammatoria è un noto meccanismo patogenetico della Sclerosi Multipla (SM) e del modello murino, l'encefalite autoimmune sperimentale (EAE). Poiché la sinaptopatia si manifesta precocemente durante il corso della malattia ed è potenzialmente reversibile, rappresenta un bersaglio terapeutico particolarmente attrattivo nella lotta contro la SM. Il gruppo di ricerca ha recentemente svelato un nuovo meccanismo molecolare che coinvolge l'asse regolatorio microRNA-142-3p/ GlutamateAspartateTransporter (miR-142-3p/GLAST). E' stato proposto, inoltre, il miR-142-3p come possibile regolatore prognostico negativo, nonché bersaglio di diverse terapie modificanti la malattia (DMTs) correntemente in uso. Lo scopo del progetto è quello di capire meglio il ruolo del miR-142-3p nella sinaptopatia dell'EAE e della SM, il suo potenziale l'impatto sull'efficacia dei DMTs nei pazienti con SM, così come l'influenza di polimorfismi genetici sulla responsività ai protocolli terapeutici di stimolazione magnetica transcranica. Attraverso la validazione di miR-142-3p come possibile biomarcatore della sinaptopatia, ci aspettiamo di migliorare la prognosi della SM e le terapie personalizzate. L'Unità dell'IRCCS San Raffaele, in stretta collaborazione con il PI, ha condotto la quantificazione dei livelli di miR-142-3p nel CSF di 150 pazienti SM reclutati all'IRCCSNeuromed al tempo T=0 (a fine diagnostico). Utilizzando il valore mediano dei livelli di miR-142-3p è stato anche stabilito un valore di cut-off che ha permesso di stratificare i pazienti in due gruppi con livelli 'bassi' di miR-142-3p e livelli 'alti' circolanti nel CSF. Tramite studi di correlazione è stato possibile osservare una correlazione positiva tra i livelli di miR-142-3p e la progressione della malattia. Una correlazione positiva è stata osservata anche con la citochina infiammatoria IL-1beta e il ratio IL-1beta/IL-1RA. In un sottogruppo di pazienti sottoposti a TMS è stata osservata una correlazione tra livelli del miR-142-3p e l'eccitabilità neuronale a livello corticale. Inoltre, si è osservato che pazienti trattati con dimetilfumarato (DMF, un farmaco attualmente in uso come DMT di prima linea per la SM) ed appartenenti al gruppo 'bassi' livelli di miR-142-3p rispondevano meglio alla terapia rispetto al gruppo 'alti livelli di miR-142-3p'. A supporto dei dati clinici è stato osservato che topi EAE eterozigoti miR-142 trattati con DMF (trattamento i.p. preventivo) mostravano un miglioramento del decorso della malattia maggiore rispetto ai topi WT di controllo trattati con DMF. Inoltre, tramite esperimenti di elettrofisiologia è stato osservato che il DMF, sia in seguito ad un trattamento -in vivo - centrale in topi EAE che - ex-vivo su fettina di cervello EAE, è in grado di indurre un recupero delle alterazioni glutammatergiche. Infine, esperimenti biochimici, biomolecolari ed elettrofisiologici supportano l'ipotesi che miR-142-3p sia un potenziale target terapeutico del DMF. Questo studio dimostra quindi che il miR-142-3p potrebbe essere un potenziale nuovo marker prognostico negativo nella SM e uno strumento promettente per identificare terapie personalizzate.

GIOVANI RICERCATORI

LABORATORIO DI ENDOCRINOLOGIA CARDIOVASCOLARE

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

Nei pazienti obesi, soprattutto in soggetti anziani, si assiste ad un aumento della massa grassa con eventuale perdita della massa muscolare. Inoltre è stato dimostrato che l'obesità influisce sullo stato infiammatorio, che a sua volta contribuisce allo sviluppo e alla progressione della sarcopenia (la perdita di massa muscolare), indicando che esiste un nesso di causalità tra l'obesità e la sarcopenia.

Considerato il ruolo fondamentale del muscolo scheletrico nel mantenimento della funzione motoria e della funzione metabolica dell'organismo, appare evidente che il deterioramento del sistema muscolare incide in modo negativo sulla salute dell'organismo. Inoltre l'invecchiamento è spesso associato con l'obesità e l'osteoporosi e alcuni studi suggeriscono che il tessuto adiposo disfunzionale di individui obesi può portare allo sviluppo di osteoporosi, indotto dal rilascio di molecole biologicamente attive che potrebbero influenzare il metabolismo osseo.

E' stato dimostrato che l'aumento dell'attività di MR nell'obesità promuove l'espressione di adipochine pro infiammatorie (TNF alpha, IL-6) che possono indurre un danno a livello di muscolo e osso. In particolare, alcuni studi mostrano che il blocco di MR riduce il numero di adipochine pro infiammatorie e l'espansione del tessuto adiposo in un modello murino di obesità. Inoltre, è stato dimostrato che l'antagonismo di MR ha un effetto diretto sull'espressione delle adipochine nelle 3T3-L1.

Tali risultati suggeriscono che gli antagonisti di MR, correntemente usati nel trattamento dello scompenso cardiaco congestizio (Congestive Heart Failure, CHF), potrebbero costituire una terapia efficace per alcune patologie metaboliche tra le quali l'obesità sarcopenica. Il progetto mira a chiarire se l'attivazione di MR nella cellula adiposa possa influenzare lo sviluppo di sarcopenia e osteoporosi.

L'obesità sarcopenica, condizione patologica caratterizzata dalla compresenza di obesità e sarcopenia (intesa come perdita di massa muscolare), è spesso associata allo sviluppo di osteoporosi, in particolar modo nei soggetti anziani. L'ipotesi alla base del progetto è che l'iperattivazione di MR nell'adipocita che caratterizza i pazienti obesi, promuovendo l'espressione di adipochine proinfiammatorie, potrebbe indurre una perdita di massa muscolare e di massa ossea. A questo scopo è stata effettuata un'analisi di muscolo e osso in un modello murino caratterizzato da una delezione genetica del recettore nel tessuto adiposo in presenza di dieta obesogena. E' stato valutato quindi l'effetto di una modulazione del profilo delle adipochine, indotta da MR, sullo sviluppo di eventuali alterazioni metaboliche a livello di mioblasti e osteoblasti. E' stata studiata inoltre la correlazione tra l'aumentata attività di MR nell'adipocita e la presenza contestuale di sarcopenia e osteoporosi in pazienti obesi. Tali analisi potrebbero aprire la strada all'utilizzo di antagonisti di MR, già ampiamente usati nel trattamento dell'ipertensione e dello scompenso cardiaco, nel trattamento dell'obesità sarcopenica.

E' stata effettuata un'analisi della composizione corporea, della tolleranza al glucosio, della sensibilità insulinica di topi con una delezione del recettore specifica per il tessuto adiposo (Adipo MR KO), sottoposti a dieta obesogena per un periodo di 4 mesi. Lo stesso studio è stato effettuato utilizzando topi wild type trattati con un antagonista di MR. La massa muscolare, l'accumulo di lipidi e l'espressione di marker specifici dell'apoptosi, del segnale insulinico e dell'autofagia nel muscolo scheletrico sono stati analizzati in entrambi i modelli.

Per quanto riguarda lo studio dell'azione delle adipochine trascrizionalmente regolate da MR sulla funzione muscolare e ossea, sono stati effettuati esperimenti in vitro utilizzando una linea umana di osteoblasti. Le cellule sono state trattate con mezzi condizionati ottenuti da colture di adipociti primari derivanti da biopsie di topi MRKOe con agonisti e antagonisti di MR. E' stata altresì utilizzata una linea murina di muscolo scheletrico trattata sia con agonisti/antagonisti di MR sia con siero prelevato da pazienti obesi e obesi/sarcopenici. Sono stati analizzate l'espressione di marker del differenziamento, dell'apoptosi, della proteolisi e dell'autofagia in cellule muscolari C2C12 e l'espressione di marker del differenziamento osteoblastico in cellule Saos-2.

Allo scopo di valutare se le osservazioni condotte su animali e cellule sul ruolo di MR nell'obesità sarcopenica possano essere applicate all'uomo, pazienti obesi/sarcopenici sono stati

sottoposti ad analisi tramite MRI, Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA) e Bioimpedenziometria (BIA) tenendo conto altresì della qualità della vita dei soggetti arruolati nello studio.

E' stato utilizzato il siero dei pazienti per studiare il potenziale effetto del siero di soggetti obesi e obesi/sarcopenici sul differenziamento cellulare.

Come precedentemente osservato dal gruppo di ricerca, topi wild type trattati con antagonisti di MR risultano resistenti all'obesità. Ci si aspettava quindi che l'assenza del recettore nell'adipocita fosse in grado di contrastare l'espansione del tessuto adiposo nei topi MRKO sottoposti a dieta obesogena riducendo l'espressione di adipochine pro infiammatorie e dei markers di danno del muscolo scheletrico (geni chiave coinvolti nella degradazione proteolitica, pathways apoptotici e markers di attivazione della risposta infiammatoria), e rallentando la degenerazione della struttura ossea.

In linea con quanto ipotizzato ci si aspettava anche che i sovrantanti delle colture di adipociti primari da topi MRKO contenessero livelli ridotti di adipochine proinfiammatorie rispetto ai sovrantanti di adipociti primari da topi wild type, causando un danno minore a livello delle colture cellulari.

Infine, ci si aspettava che i livelli proteici di MR fossero più elevati nei soggetti obesi rispetto ai controlli non obesi e che il siero dei soggetti obesi contenente elevati livelli di adipochine infiammatorie interferisse maggiormente con la funzione differenziativa delle colture di cellule muscolari rispetto al siero di soggetti non obesi.

L'obesità sarcopenica rappresenta una condizione patologica complessa che coinvolge l'interazione tra tessuto adiposo, tessuto muscolare scheletrico e tessuto osseo. Il ruolo di MR nell'adipocita in questo contesto non è mai stato studiato, ma dati clinici preliminari suggeriscono un potenziale effetto dannoso a carico dell'osso in soggetti affetti da iperaldosteronismo. Il progetto mira a stabilire se l'aumento di espressione delle citochine pro-infiammatorie indotto dall'attivazione del Recettore Mineralcorticoide (MR) nei soggetti obesi induce un danno a livello del muscolo scheletrico e del tessuto osseo.

L'originalità del progetto è rappresentata dall'utilizzo di un modello animale sperimentale caratterizzato dall'assenza di MR solo nel tessuto adiposo. Lo studio di tale modello fornisce importanti informazioni circa gli effetti dell'attivazione di MR sull'insorgenza e la progressione di disfunzioni metaboliche a carico del tessuto adiposo in grado di causare danni a livello del muscolo scheletrico e dell'osso. Il nostro studio può dare un contributo sostanziale alla comprensione del ruolo di MR nell'adipocita e può suggerire nuovi target potenziali da utilizzare nella terapia farmacologica dell'obesità sarcopenica e delle patologie ad essa correlate.

I topi con una delezione del recettore specifica nel grasso (Adipo MRKO e i controlli normali (wild-type, wt) sono stati sottoposti a dieta obesogena (High fat diet, HFD) per 120 giorni consecutivi. In tutti gli animali sono stati analizzati la composizione corporea e la tolleranza al glucosio. Sono stati misurati i livelli circolanti di adipochine pro infiammatorie e la dimensione adipocitaria tramite analisi istologiche. Un altro studio in vivo è stato realizzato utilizzando topi wild type sottoposti a dieta obesogena per 12 settimane con o senza l'antagonista di MR, spironolattone. Sono state effettuate un'analisi della dimensione delle fibre muscolari e una colorazione specifica per il contenuto lipidico a livello del muscolo scheletrico. E' stata inoltre analizzata l'espressione dei geni e proteine coinvolti nel segnale insulinico, nell'apoptosi (BCL2, FAS, Caspase-3, BAX) e nel processo autofagico (LC3).

I depositi di grasso viscerale dei topi MRKO e dei controlli wt sottoposti a dieta obesogena sono stati utilizzati per realizzare colture di adipociti primari. I sovrantanti ottenuti dalle colture di adipociti primari dopo 7 giorni di differenziamento sono stati utilizzati per trattare colture di mioblasti (C2C12) e di osteoblasti (Saos-2). Il grado di differenziamento di entrambe le colture cellulari è stato valutato mediante un'analisi di espressione genica per i principali markers del differenziamento muscolare (MyoD, Myf5, myogenin) e osseo (alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin (OCN), COL1A1, osteopontin (OPN)). Inoltre sono stati analizzati alcuni markers

del differenziamento adipocitario nelle colture di adipociti primari isolati da topi MRKO e controlli wt (adiponectin, leptin, TNF-alpha e IL-6).

Le colture cellulari C2C12 e Saos-2 sono state trattate con agonisti/antagonisti di MR (aldosterone e spironolattone) e successivamente sono stati studiati il differenziamento, l'apoptosi, la proteolisi, e l'autofagia come già descritto.

Il progetto prevedeva, inoltre, lo studio del ruolo di MR nell'obesità sarcopenica nell'uomo al fine di esplorare le possibili correlazioni tra i livelli circolanti di aldosterone, renina, obesità e composizione corporea, partendo dal razionale scientifico che l'iperattivazione del recettore mineralcorticoide nell'adipocita, che caratterizza i pazienti obesi, possa indurre una perdita di massa muscolare e di massa ossea, favorendo lo stato infiammatorio cronico mediante l'espressione di adipochine pro-infiammatorie.

Il disegno sperimentale riguarda:

- a) individui obesi (BMI >30Kg/m², n=10);
- b) individui affetti da obesità sarcopenica (BMI >30Kg/m², n=10);
- c) individui normopeso di controllo (BMI <25 Kg/m², n=10).

Tutti i soggetti arruolati (n=39) sono stati sottoposti alle seguenti procedure: raccolta dei dati clinici mediante anamnesi completa; esame obiettivo con rilevamento delle misure antropometriche (peso, altezza, circonferenza vita, calcolo del BMI); rilevamento dei parametri vitali (pressione arteriosa, PA; frequenza cardiaca, FC; elettrocardiogramma, ECG); prelievo ematico per routine ematochimica, aldosterone, renina (calcolo del rapporto aldosterone/renina), assetto infiammatorio (VES; fibrinogeno; proteina C reattiva, PCR), marcatori del metabolismo fosfo-calcico; valutazione della composizione corporea mediante bioimpedenziometria (BIA) e Dual Energy X-ray Absorpiometry (DXA); valutazione della densità minerale ossea a livello lombare e femorale (femore intero e collo del femore) mediante DXA. I soggetti obesi sono stati considerati sarcopenici secondo la formula: FFM(kg BIA)/FFM ideale < 0,9; FFM ideale (espressa in kilogrammi)=(0,75 x peso ideale) + (0,25 x eccesso di peso); peso ideale=altezza² (espressa in metri) x 25; eccesso di peso=peso reale-peso ideale. Il siero dei soggetti in studio è stato conservato alla temperatura di -20°C per il dosaggio di: TNF-alpha, IL-6, CRP, sRAGE, esRAGE, YKL-40, sclerostina, serotonina, osteocalcina and CTx, irisina, miostatina. Il siero dei pazienti è stato inoltre utilizzato per condizionare il terreno di coltura delle cellule staminali mesenchimali nel corso degli esperimenti effettuati presso l'UO Foro Italico (Aim2).

Il modello Adipo-MRKO è stato validato tramite real-time RT-PCR e western blot analysis di tessuto adiposo sottocutaneo e viscerale ed è stata osservata una riduzione dell'espressione di MR sia a livello di mRNA sia a livello di proteina pari a circa il 50% rispetto al gruppo di controllo. In particolare l'analisi in real time RT-PCR della frazione vasculo stromale e della frazione matura di biopsie di topi Adipo-MRKO ha permesso di stabilire che la riduzione osservata riguarda esclusivamente gli adipociti terminalmente differenziati. I topi Adipo-MRKO e i relativi topi di controllo sono stati sottoposti a dieta obesogena per 14 settimane. Non sono state rilevate differenze significative in termini di aumento di peso, tolleranza al glucosio e sensibilità insulinica tra i due gruppi. I valori plasmatici di trigliceridi, acidi grassi liberi e colesterolo sono risultati paragonabili tra i due gruppi in esperimento. Dopo aver concluso la caratterizzazione metabolica complessiva del modello e l'analisi della funzionalità del tessuto adiposo è stata effettuata l'analisi del muscolo scheletrico, che tuttavia non ha mostrato differenze significative in termini di espressione genica di miochine coinvolte nel metabolismo energetico. È stato concluso un secondo studio in vivo su topi wild type sottoposti a dieta normale o obesogena per 14 settimane. In particolare, ad uno dei tre gruppi è stata somministrata una dieta obesogena modificata con Spironolattone, al fine di valutare potenziali effetti benefici del blocco di MR sulla funzione muscolare in un modello di obesità. Le analisi effettuate dimostrano che MR viene regolato negativamente nel muscolo scheletrico nell'obesità. La somministrazione sistemica di Spironolattone agisce positivamente sull'espressione del recettore nel muscolo, che sembra però non essere coinvolto negli effetti metabolici benefici (miglioramento della tolleranza al glucosio) indotti dal blocco farmacologico di MR. L'analisi in

real-time RT-PCR del tessuto adiposo viscerale non ha rivelato differenze in termini di espressione genica di adipochine e potenziali target di MR tra i topi Adipo-MRKO e il gruppo di controllo, il tessuto adiposo viscerale è stato analizzato anche a livello istologico ma non sono state riscontrate differenze in termini di grandezza e distribuzione degli adipociti tra i due gruppi in esperimento.

Contestualmente allo studio *in vivo* è stato indagato il ruolo fisiopatologico di MR in una linea umana di osteoblasti (Saos-2) *in vitro*. I livelli di mRNA e proteina del recettore, analizzati rispettivamente tramite real-time RT-PCR e western blot, non appaiono modulati in seguito al trattamento con Aldosterone o Spironolattone. Inoltre l'attivazione o il blocco di MR non mostra effetti significativi sui principali marker del differenziamento e dell'attività delle cellule osteoblastiche (collagene, osteocalcina e fosfatasi alcalina). Analogamente, il trattamento di cellule muscolari murine (mioblasti) C2C12 con Aldosterone e Spironolattone, non ha determinato cambiamenti di espressione dei marker del differenziamento muscolare. In cellule C2C12 terminalmente differenziate, stimulate con palmitato per indurre insulino-resistenza, è stato inoltre osservato che né Aldosterone, né Spironolattone, né il co-trattamento con entrambi i modulatori influenza l'"uptake" del glucosio, suggerendo che la modulazione di MR non altera la captazione del glucosio. In accordo, ulteriori esperimenti hanno mostrato che il trattamento di cellule C2C12 con Aldosterone o con Spironolattone o con entrambi i modulatori non altera il grado di fosforilazione/attivazione dei fattori coinvolti nel "pathway" insulinico.

Nel corso della fase attiva di studio sono stati arruolati 39 soggetti adulti (età media=47±16,85 anni), 31 soggetti di sesso femminile e 8 soggetti di sesso maschile, affetti da obesità (BMI medio=44,5±7,94 Kg/m²), afferiti agli ambulatori dedicati alla Diagnosi e al Trattamento dell'Obesità, presso il Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Fisiopatologia Medica, Endocrinologia e Scienza dell'Alimentazione, del Policlinico Umberto I di Roma, Università Sapienza. Dei 39 soggetti arruolati, 5 soggetti, tutti di sesso femminile, sono risultati affetti da obesità sarcopenica, secondo la formula precedentemente indicata.

Sono state effettuate diverse correlazioni tra i parametri antropometrici rilevati e il profilo infiammatorio della popolazione in esame con particolare riferimento ai livelli circolanti di aldosterone e renina.

Come previsto dallo studio, il siero di un sottogruppo di pazienti obesi e obesi-sarcopenici è stato utilizzato per valutare potenziali effetti di marker circolanti sul differenziamento di cellule C2C12 e sull'induzione del pathway di atrofia muscolare.

L'Obesità Sarcopenica influisce negativamente sulla forza e sulla capacità aerobica e causa complicanze mediche severe. Questa complessa patologia rappresenta un urgente problema di salute pubblica in una società che invecchia rapidamente. Studi condotti in modelli animali hanno dimostrato che il blocco farmacologico di MR riduce l'espansione del tessuto adiposo e l'infiammazione, con potenziali effetti benefici su altri tessuti metabolicamente attivi, affetti dal rilascio di adipochine circolanti, come il muscolo scheletrico. Il blocco di MR nel tessuto adiposo, dunque, potrebbe portare ad un miglioramento significativo del metabolismo adipocitario e muscolare anche nell'uomo, in presenza di obesità sarcopenica con e senza osteoporosi. Questi studi, quindi, potrebbero condurre allo sviluppo di nuovi approcci terapeutici, basati sull'utilizzo di antagonisti di MR nel trattamento dell'obesità sarcopenica e delle conseguenze ad essa correlate.

LABORATORIO DI BIOINGEGNERIA DELLA RIABILITAZIONE

Neuroimaging biomarkers toward an optimized and personalized Action Observation treatment in chronic stroke patients: New strategies to maximize the efficacy of upper limb functional rehabilitation.

Il progetto di ricerca si svolge in collaborazione con la Casa del Policlinico di Milano.

L'Action Observation Therapy (AOT) è un approccio riabilitativo per i sopravvissuti all'ictus basato sul quadro teorico dell'attivazione del Mirror Neuron System (MNS). Ha lo scopo di rimodellare le funzioni motorie facilitando il riapprendimento corticale di soggetti con mobilità ridotta, coinvolgendo regioni motorie cerebrali attivate sia durante l'esecuzione che nell'osservazione delle azioni.

La definizione degli stimoli visivi è fondamentale nell'implementazione del protocollo di AOT; L'AOT infatti consiste nell'osservare un individuo che esegue un compito motorio, sia in video che nella vita reale. L'ipotesi alla base dell'uso dell'AOT come trattamento di neuroriabilitazione è che l'osservazione dell'azione stimolerebbe la plasticità neurale riorganizzando i circuiti motori danneggiati, ma non completamente persi, favorendo così il recupero motorio. Nonostante le evidenze scientifiche attuali, riteniamo che la letteratura effettiva debba ancora essere integrata con ulteriori ricerche. Nel presente progetto, si è mirato alla valutazione basata su EEG degli effetti corticali di diverse categorie di video per l'ottimizzazione dell'AOT nell'ictus cronico.

Gli obiettivi dello studio sono:

- Determinare la categoria di azione (categoria dello stimolo) capace di evocare il maggior reclutamento neuronale del sistema mirror e identificare gli indicatori di neuroimaging da utilizzare per predire gli outcome riabilitativi, così da generare un effetto sulla gestione clinica dei pazienti grazie alla selezione di un protocollo di esercizi di AOT ottimale.
- Indurre e valutare una modifica funzionale delle componenti corticali su cui si basa l'organizzazione dell'azione, avvalendosi delle caratteristiche peculiari del MNS e dimostrando i cambiamenti clinici, cinematici e neurofisiologici rilevanti dopo l'AOT ottimizzato. Inoltre, fornire questo trattamento aggiornato prendendo in considerazione anche il valore predittivo del biomarcatore.
- Fornire un programma di AOT domiciliare per verificare la fattibilità valutata sull'evidenza per dare evidenza della possibilità di una futura applicazione sistematica di questo approccio.

Lo studio prevede tre fasi.

FASE 0: Presentazione dello studio, selezione e arruolamento dei pazienti

FASE 1: Acquisizioni dei segnali EEG su 10 pazienti (per centro partecipante)

FASE 2: Studio su 30 pazienti (per centro partecipante) degli effetti dell'AOT su plasticità cerebrale ed effetto clinico, studio di validità e dell'accettazione di un protocollo AOT domiciliare.

A seconda della fase dello studio e dell'analisi si prendono in considerazione diversi endpoint primari:

- Endpoint primario fase 1: Desincronizzazione evento correlata ritmi EEG
- Endpoint primario fase 2: Fugl-Meyer Test

Per quanto di conoscenza, la letteratura è priva di studi che hanno confrontato le variazioni di attività cerebrale sulla corteccia motoria primaria e su altre aree deputate al sistema mirror per definire effetti e cambiamenti dell'attività oscillatoria EEG nei pazienti con ictus determinati da diverse azioni motorie visualizzate.

Questo studio si prefigge di ottimizzare l'AOT nei pazienti con ictus cronico con un metodo basato sull'analisi di segnali EEG per la valutazione degli effetti corticali di diverse categorie video.

Nei primi mesi di progetto è stato implementato il protocollo di somministrazione degli stimoli e di acquisizione, armonizzazione ed analisi dei dati elettroencefalografici.

La scelta degli stimoli da proporre ai soggetti nella fase 1 della sperimentazione mirava alla massimizzazione dell'effetto dell'AOT attraverso una scelta ponderata delle video-stimolazioni.

Con lo scopo di proporre attività della vita quotidiana (ADL, Activities of Daily Living) semplici e standardizzate la scelta dei task visuo-motori è ricaduta su tre categorie di azioni:

- Feeding actions, durante le quali l'attore manipola e/o mangia cibi commestibili con o senza l'uso di un utensile (FEA),
- Self-care actions, con l'attore che svolge movimenti finalizzati alla cura personale (SCA),

– External actions, che prevedono azioni nello spazio peripersonale target-oriented (EA).
Per la validazione della sperimentazione sono state aggiunte altre due categorie di 8 video di controllo ciascuna:

- Control Videos, che proiettano paesaggi naturali in movimento (CV),
- Not Finalized Actions, durante i quali l'attore muove l'arto lentamente secondo direzioni prefissate e senza interagire con oggetti (CA).

Durante la fase 1 del progetto per valutare l'efficacia degli stimoli-video nell'indurre l'eccitabilità della corteccia durante l'osservazione dell'azione, sono stati reclutati in totale 21 soggetti in due centri sperimentali, (10 con emiparesi sinistra e 11 con emiparesi destra; nelle sezioni successive verrà descritto il campione in maniera più approfondita), di cui 20 hanno completato il protocollo sperimentale (10 presso il San Raffaele Roma e 10 presso la Casa di Cura del Policlinico di Milano).

L'analisi della modulazione della densità di potenza dei ritmi EEG ha mostrato una desincronizzazione quando i soggetti hanno osservato stimoli FA e NFA in tutte le aree registrate; I CV hanno suscitato una sincronizzazione nelle stesse aree e bande di frequenza. Il raggiungimento della fase di alimentazione e le azioni di cura di sé hanno stimolato una soppressione mu e beta significativamente maggiore.

I risultati di questo studio potrebbero aiutare i medici a definire protocolli AOT ottimizzati per la riabilitazione di soggetti con ictus cronico per ottenere un'attivazione più efficace dell'MNS inducendo plasticità cerebrale e aumentando i processi di riapprendimento motorio.

LABORATORIO DI IMMUNOPATOLOGIA SINAPTICA

Interleuchina-9 e sclerosi multipla: biomarcatore e potenziale terapia.

Unità 2

La sclerosi multipla (SM) è una malattia autoimmune infiammatoria e neurodegenerativa. L'interleuchina (IL)-9 è una citochina che svolge un ruolo immunoregolatorio importante nella SM e nell'encefalomielite autoimmune sperimentale (EAE): i livelli di IL-9 nel liquido cerebrospinale, misurati nei pazienti con SM al momento della diagnosi, sono inversamente correlati agli indici di infiammazione, neurodegenerazione, progressione della disabilità e risposta alla terapia di prima linea. In EAE, la neutralizzazione di IL-9 prima dell'inizio della malattia aggrava la malattia. Recentemente abbiamo dimostrato che IL-9 inibisce le cellule immunitarie proinfiammatorie nella periferia.

L'obiettivo del progetto è di studiare come l'IL-9 media la neuroprotezione all'interno del sistema nervoso centrale attraverso un effetto diretto sulle cellule residenti nel cervello. Questo progetto farà quindi luce sul ruolo dell'IL-9 nella patologia SM e consentirà di progettare nuovi approcci terapeutici.

Il laboratorio sta coordinando gli esperimenti di elettrofisiologia e trattamenti in vivo su topi EAE. I dati ottenuti mostrano un effetto protettivo dell'IL-9 in seguito a trattamenti ip ad un dosaggio giornaliero di 200ng nel topo EAE, a partire dal giorno dell'immunizzazione. Oltre ad un effetto benefico sullo score motorio è stato osservato un miglioramento delle alterazioni sinaptiche a carico della trasmissione glutammatergica striatale, miglioramento che persiste anche con dosaggi differenti e che di per sé non migliorano significativamente il decorso clinico. La trasmissione inibitoria non risulta invece influenzata da nessuno dei due trattamenti. Infine è stato dimostrato che l'IL-9 promuove una modulazione della trasmissione sinaptica glutammatergica anche a seguito di trattamenti ex vivo su fettine corticostriatali di topi sani.

Idati presenti in letteratura e i dati ottenuti nel presente progetto di ricerca suggeriscono che il trattamento in vivo con IL-9 in topi EAE potrebbe modulare lo stato neuroinfiammatorio, il danno alla trasmissione sinaptica e la neurodegenerazione, eventi che caratterizzano il modello EAE.

*Mediatori lipidici pro-risolutivi specializzati nella risoluzione della sclerosi multipla.
Unità Operativa*

La Sclerosi Multipla (SM) è una patologia infiammatoria cronica neurodegenerativa caratterizzata da eventi infiammatori e fenomeni autoimmunitari incontrollati e per la quale la ricerca di nuovi metodi diagnostici e terapeutici rappresenta una costante necessità, specialmente nell'ambito delle forme progressive della malattia. Studi di recente pubblicazione suggeriscono che l'infiammazione cronica e l'autoimmunità siano causate dall'incapacità dei sistemi omeostatici di improntare in modo adeguato i meccanismi di risoluzione dell'infiammazione, un processo che viene iniziato e orchestrato da un genere di lipidi anti-infiammatori di recente identificazione e derivati metabolicamente dagli acidi grassi omega-3, definiti lipidi specializzati pro-risolutivi (specialized pro-resolvinglipidmediators, SPMs).

Il progetto si propone di identificare gli SPM come nuovi composti guida nel controllo della patogenesi e progressione della SM e di candidarli come nuovi farmaci modificanti la malattia, valutandone il loro ruolo, sia ex vivo/in vitro che in vivo, nel ripristinare l'equilibrio tra cellule effettrici e regolatorie e/o nel controllare i meccanismi che portano alla cronicizzazione, al fine di potenziare l'attivazione di vie anti-infiammatorie e neuroprotettive. A tale scopo viene coordinata una serie di esperimenti nel modello EAE per testare il ruolo benefico di resolvine potenzialmente coinvolte nella SM. Nell'ultimo anno è stato indagato il ruolo di specifici SPM (RvD3 e LXB4), valutando il loro ruolo in vivo nel modulare l'attivazione delle vie antinfiammatorie e neuroprotettive nell'EAE. A tal fine, i topi EAE sono stati trattati con le resolvine RvD3-Me e LXB4-Me (e versioni di estere metilico più liposolubili e stabili che agiscono come pro farmaci) a partire dall'esordio dei sintomi motori ed è stato osservato un miglioramento dello score motorio rispetto al gruppo trattato con veicolo. Inoltre, il trattamento con RvD3-Me e LXB4-Me ha ridotto l'infiltrazione di cellule T CD3 + e di macrofagi CD11b + F4 / 80 + nel midollo spinale. Inoltre a livello periferico abbiamo osservato un ridotto rilascio di IFN-g e IL-17 dalle cellule CD4 + T ed un aumento della percentuale di cellule T regolatorie FoxP3 +. Insieme, questi risultati indicano che il potenziamento dei meccanismi di risoluzione dell'infiammazione mediata dalle resolvine è in grado di migliorare i sintomi clinici dell'EAE ed attenuare la neuroinfiammazione sia a livello centrale che periferico, influenzando le risposte delle cellule T e l'infiltrazione dei leucociti nel SNC.

The cross-talk between immune, autonomic and central nervous systems as a target of exercise therapy in human and experimental multiple sclerosis

Nella Sclerosi Multipla (SM), le cellule T che hanno perso la tolleranza immunitaria contro epitopi della mielina innescano una catena di eventi infiammatori all'interno del sistema nervoso centrale che portano a demielinizzazione, perdita assonale e neurodegenerazione, causando sul piano clinico un'estrema variabilità di sintomi, che coinvolgono anche l'attività vagale. È stato dimostrato che le cellule T in corso di SM vanno incontro ad importanti deficit metabolici che ne alterano la funzione. È stato altresì dimostrato che i linfociti T e le citochine da essi rilasciate causano alterazioni della trasmissione sinaptica che contribuiscono alla neurodegenerazione. L'esercizio fisico è una terapia di supporto per la SM, il cui potenziale terapeutico è ancora sottostimato.

In questo progetto, si propone di studiare l'effetto dell'esercizio fisico sull'asse immuno-sinaptico nella SM umana e sperimentale e il coinvolgimento del nervo vago negli effetti immunomodulatori dell'esercizio, utilizzando approcci sperimentali complementari e innovativi, nell'uomo, nel topo e nel modello chimerico di SM. Questo studio, che quindi comprende una parte clinica e una parte preclinica, consentirà di svelare i meccanismi alla base degli effetti benefici dell'esercizio fisico nella SM.

Il Principal investigator coordina gli esperimenti di esercizio fisico e vagotomia nei topi con encefalomielite autoimmune sperimentale (EAE). Inoltre, è responsabile della coordinazione delle attività previste in collaborazione con le altre unità coinvolte nello studio.

Nel primo anno di attività, per quanto riguarda lo studio clinico sono stati reclutati 7 pazienti SM in forma progressiva che sono stati inseriti in uno studio longitudinale interventistico volto a valutare gli effetti della riabilitazione su parametri neurofisiologici, neuropsicologici e di risposta immunitaria e immuno-sinaptica. Le analisi preliminari indicano che l'esercizio induce un miglioramento della qualità della vita e del livello d'ansia nei soggetti reclutati e una modulazione dell'attività sinaptica eccitatoria da parte dei linfociti nel modello chimerico. Analisi più dettagliate relative agli effetti dell'esercizio sui vari parametri in studio potranno essere fatte nel futuro prossimo al raggiungimento di un adeguato numero campionario.

Per quanto riguarda lo studio preclinico, è stato osservato che l'esercizio fisico (running wheel) è in grado di correggere i deficit motori e cognitivi associati all'EAE e di ripristinare una corretta plasticità sinaptica nell'ippocampo dei topi EAE. Questi dati si associano ad un significativo effetto antiinfiammatorio centrale, in particolare con attenuazione della microglia, e l'aumentata sopravvivenza dei degli interneuroni GABAergici. Inoltre, è stato dimostrato che l'esercizio attenua l'eccitotossicità glutammatergica, determinata da aumentato rilascio di glutammato nel nucleo striato. Dati preliminari indicano inoltre un miglioramento dell'immuno metabolismo dei linfociti isolati dalla milza dei topi-esercizio.

Una volta confermato l'effetto immunomodulatorio periferico a carico delle popolazioni linfocitarie sarà valutata l'azione sinaptica dei linfociti isolati dai topi-esercizio nel modello omologo linfociti-sezioni di cervello murino. Il passo successivo sarà praticare la vagotomia cervicale preventiva per valutare la componente vagale dell'azione benefica dell'esercizio nella modulazione della risposta immunitaria e del suo conseguente effetto sinaptico.

LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA DELLE PATOLOGIE CRONICO-DEGENERATIVE

A more accurate risk biomarkers recognition for progressive multifocal leuko encephalopathy (PML) caused by Polyomavirus JC in patients with multiple sclerosis during treatment with disease-modifying therapies (DMTs): an ongoing clinical challenge

Il rischio di Leucoencefalopatia Multifocale Progressiva (PML), un'infezione del Sistema Nervoso Centrale causata dalla riattivazione del virus John Cunningham (JCPyV), è la principale limitazione alla somministrazione del natalizumab, un anticorpo monoclonale anti VLA-4, altamente efficace nel ridurre le recidive nei pazienti affetti da Sclerosi Multipla recidivante-remittente (SMRR).

Al fine di migliorare la sicurezza di impiego di farmaci immunosoppressivi ad azione prolungata ed individuare biomarker predittivi di complicanze severe come la PML sono stati arruolati 30 pazienti con SMRR candidati al trattamento con natalizumab in cui si è valutato se la rilevazione del DNA di JCPyV in urine e plasma e se particolari riarrangiamenti della regione di controllo non codificante (NCCR) del virus potessero svolgere il ruolo di *biobarker* predittivi per l'insorgenza di PML.

Durante tutto il corso del follow up (pre-trattamento (T0) e 3 (T1), 6 (T2) 9 (T3) e 12 (T4) mesi dall'inizio della terapia con natalizumab), il DNA di JCPyV veniva rilevato sia nelle urine che nel plasma sebbene con una carica virale nelle urine sempre significativamente più elevata rispetto a quella rilevabile nel plasma ($p < 0,05$). Un'analisi contestuale degli anticorpi anti-JCPyV rispetto al rilevamento del DNA JCPyV evidenziava che il DNA virale precedeva sempre la presenza degli anticorpi nel plasma. Durante i primi 9 mesi di trattamento con natalizumab (T0-T3), le sequenze isolate dal sangue mostravano una struttura NCCR JCPyV di tipo archetipo con il verificarsi di sole mutazioni puntiformi. Dopo 12 mesi di trattamento con natalizumab (T4) sono state osservate riorganizzazioni NCCR nel plasma e nelle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) con duplicazioni del sito di legame NF-1 nel box F, duplicazioni del

box C e delezioni parziale e totali del box D. Tali risultati evidenziano come sia altamente raccomandabile considerare il rilevamento di JCPyV-DNA e le riorganizzazioni NCCR come *biomarker* che permettano l'identificazione di pazienti infettati da JCPyV, ma con una risposta umorale specifica non ancora rilevabile e consentano di mettere in luce quelle riorganizzazioni NCCR correlate all'insorgenza di varianti virali dotate di diverso tropismo e grado di patogenicità.

ALTRA TIPOLOGIA DIRICERCA

Rete IRCCS delle Neuroscienze e della Neuroriabilitazione - RIN

Istituti Virtuali Nazionali: Demenze, Malattia di Parkinson e Disordini del Movimento, Sclerosi Multipla e Disordini del Movimento, Sclerosi Multipla e Disordini Neuroimmunologici
Anno 2020

La Rete delle Neuroscienze e della Neuroriabilitazione (RIN) ha lo scopo di promuovere la ricerca scientifica, lo sviluppo tecnologico e attività di formazione per migliorare prevenzione, diagnosi, cura e riabilitazione delle malattie neurologiche e neuro-psichiatriche dell'adulto e del bambino, e trasferire i risultati delle ricerche ai diversi attori del SSN e nella filiera industriale. A tal fine è stato sviluppato un modello organizzativo a matrice, schematizzato nella figura seguente, nel quale una dimensione è costituita da piattaforme tecnologiche e attività trasversali a servizio di tutte le aree della neuroscienze cliniche e sperimentali, e l'altra dimensione è rappresentata da Istituti Virtuali Nazionali (IVN) per le diverse patologie.

L'IRCCS San Raffaele Pisana è coinvolto nell'IVN Parkinson e Disordini del Movimento e prevede il diretto coinvolgimento nei WP1,2,3,4,5,6.

Questo progetto si propone di realizzare i primi tre Istituti Virtuali Nazionali dedicati a specifiche patologie neurologiche ad alta prevalenza, in particolare Demenze, Malattia di Parkinson e i Disordini del Movimento, e Sclerosi Multipla e Disordini Neuroimmunologici. A tal fine gli IVN si avvalgono del lavoro svolto negli ultimi 3 anni sulle piattaforme tecnologiche e dei risultati dei progetti di ricerca nelle rispettive aree.

L'ulteriore sviluppo delle piattaforme esistenti (Imaging, Genomica, Proteomica, Neuroimmunologia e Teleneuroriabilitazione) e la loro integrazione con nuove altre attività trasversali, si concretizza nell'implementazione delle seguenti piattaforme:

1. Piattaforma Clinica: neurologia, neuropsicologia, riabilitazione;
2. Piattaforma Tecnologica: risonanza magnetica, medicina nucleare, neurofisiologia;
3. Piattaforma di Medicina Molecolare: genetica, biochimica, neuroimmunologia, neuropatologia;
4. Piattaforma di raccolta e analisi dati: database, informatica, statistica;
5. Piattaforma di Ricerca Preclinica.

I progetti di rete attivi in queste aree trovano negli IVN il terreno ottimale per la loro evoluzione e verranno attivati nuovi progetti funzionali al raggiungimento degli obiettivi.

La finalità del progetto è la crescita complessiva della qualità clinico-assistenziale e della capacità di ricerca del sistema IRCCS, declinabile nei seguenti punti:

- Armonizzazione, validazione e standardizzazione di protocolli e procedure
- Condivisione acquisizione, archiviazione ed elaborazione dei dati
- Condivisione competenze e infrastrutture complementari
- Razionalizzazione degli investimenti tecnologici
- Trasferimento del know-how e formazione

Lo sviluppo del programma viene fatto congiuntamente dai tre IVN con il concorso di tutti i gruppi di lavoro identificati per le diverse attività nei tre istituti virtuali, sotto la supervisione dei coordinatori. Questo consente di integrare competenze diverse e armonizzare piattaforme, metodologie e processi, punto particolarmente rilevante per gli aspetti condivisi dalle diverse patologie. Sarà inoltre creata una piattaforma di Management per il coordinamento generale delle attività e la gestione amministrativa del programma di rete.

I Work Packages che vedono il coinvolgimento dell'IRCCS San Raffaele Pisana nell'ambito della malattia di Parkinson sono:

- WP 1 – Implementazione della piattaforma per la valutazione clinica e riabilitazione
- WP 2 – Implementazione della piattaforma di Imaging e Neurofisiologia
- WP3 – Implementazione della piattaforma di Medicina Molecolare

WP4 - Implementazione della piattaforma di Raccolta e Analisi dei dati

WP5 – Implementazione della piattaforma di Ricerca Pre-clinica

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Bando Conto Capitale 2016-2017

Tipologia B: Sviluppo e Implementazione delle Piattaforme Tecnologiche di Genomica/Proteomica, Imaging e Neuroriabilitazione delle Rete IRCCS di Neuroscienze e Neuroriabilitazione.

Telemonitoraggio e teleriabilitazione motoria, cognitiva e logopedica per continuità assistenziale in pazienti con emisindrome piramidale e malattie neurodegenerative mediante tecnologie interattive avanzate.

L'utilizzo di nuove tecnologie per garantire la continuità assistenziale nel territorio in pazienti con patologie croniche ed altamente invalidanti e lo sviluppo di metodologie di verifica e di sistemi di monitoraggio dell'outcome e della qualità della vita è uno degli obiettivi dell'IRCCS San Raffaele Pisana. In questo contesto, si inserisce questo progetto, che ha come obiettivo il potenziamento delle attività di sperimentazione già in atto (Conto Capitale 2015) utilizzando la piattaforma integrata degli IRCCS della rete di Neuroscienze e Riabilitazione nell'ambito del progetto Ministeriale dal titolo "Sviluppo e implementazione di un Network Italiano di Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale". Lo sviluppo e la condivisione in ottica multicentrica di protocolli riabilitativi (best-practice) di continuità di cura sono finalizzati all'estensione di tali pratiche ai servizi sanitari a livello nazionale, definendo linee guida e metodologie omogenee nella presa in carico assistenziale. Obiettivo di questo progetto è la validazione di sistemi utilizzati nel rispetto di approcci tradizionali di trattamento sul territorio (attività ambulatoriale, domiciliari etc.), qualora possibile, in base ai protocolli utilizzati e concordati con gli altri IRCCS partecipanti, e portare anche dati di efficacia dei trattamenti in tele riabilitazione proposti. Il progetto si svolge nell'ambito della Rete di Neuroscienze, è coordinato dalla Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta e vede il coinvolgimento dei seguenti IRCCS: Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico; Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" – IRCCS; Centro IRCCS "Santa Maria Nascente" - Don Gnocchi; IRCCS Istituto Auxologico Italiano; IRCCS Istituto Clinico Humanitas; Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo; Fondazione IRCCS Istituto Neurologico "Casimiro Mondino"; IRCCS Istituti Clinici Scientifici Maugeri SpA SB; IRCCS Centro San Giovanni di Dio – Fatebenefratelli; Associazione La Nostra Famiglia - IRCCS Eugenio Medea; IRCCS Fondazione Ospedale San Camillo; IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna; IRCCS Fondazione Stella Maris; IRCCS Fondazione Santa Lucia; IRCCS San Raffaele Pisana; IRCCS SDN S.p.A., Istituto di Ricerca; IRCCS Associazione Oasi Maria SS Onlus – Troina; IRCCS Centro Neurolesi "Bonino Pulejo".

Nel 2020, l'attività svolta dall'IRCCS San Raffaele Pisana per il progetto ha riguardato il reclutamento, la valutazione ed il trattamento con teleriabilitazione di 5 pazienti con sclerosi multipla, 9 pazienti con malattia di Parkinson e 17 pazienti post – ictus.

Tipologia C: Analisi avanzata dell'equilibrio e nuovi modelli teleriAbilitativi per la prevenzione del rischio di Caduta nell'anziano e nel paziente neurologico (BALANCE).

Le cadute degli anziani rappresentano una priorità per la sanità pubblica a causa della loro frequenza, del ricorso all'istituzionalizzazione che è associato ai suoi esiti, dell'elevata probabilità di causare o aggravare disabilità e dell'elevata mortalità. Il fenomeno delle cadute nell'anziano ha quindi un rilevante impatto sanitario, sociale ed economico. I fattori fisiologici, patologici, ambientali, comportamentali e la paura di cadere incidono considerevolmente. In

particolare, anziani con patologie neurologiche (Ictus, polineuropatie, demenza, Parkinson, depressione), muscoloscheletriche (artrosi, esiti di interventi, ortopedici di elezione - protesi, osteoporosi), cardiovascolari e patologie della vista e dell'udito sono caratterizzati da un maggiore rischio di cadere.

Le linee guida del Ministero della Salute sulla "Prevenzione delle cadute da incidente domestico negli anziani" evidenziano come le cadute rappresentino una priorità per la sanità pubblica a causa della loro frequenza e gravità. I test utilizzati per valutare il rischio di caduta dovrebbero essere di semplice esecuzione, di breve durata, ripetibili, per consentire un follow-up". In tale contesto, questo progetto si pone come obiettivo lo screening di rischio di caduta in pazienti in dimissione dagli IRCCS partecipanti al progetto, che clinicamente presentino elevati rischi di caduta.

In dettaglio gli obiettivi specifici sono: validare il sistema rispetto alle seguenti scale cliniche (Berg Balance Scale; Timed Up and Go; Tinetti Balance; One Leg Stand; Functional Reach; Activities-specific Balance Confidence) e all'analisi strumentale del cammino; valutare il rischio di cadute dei pazienti in dimissione, con particolare attenzione alle persone anziane con esiti di patologia ortopedica e/o neurologica grave; attuare una terapia preventiva; osservare l'efficacia della terapia riabilitativa somministrata; suggerire ulteriori esercizi riabilitativi per migliorare la propria stabilità.

Ci si aspetta di incrementare l'efficacia del trattamento riabilitativo con Oak Elderly Care® nel facilitare il recupero funzionale (equilibrio e cammino) e migliorare l'autonomia del paziente neurologico; e di ottimizzazione della definizione del progetto riabilitativo.

Il progetto è coordinato dall' IRCCS Fondazione Ospedale San Camillo e vede la collaborazione in rete tra i seguenti IRCCS: IRCCS San Raffaele Pisana; IRCCS ICS Maugeri Spa SB; IRCCS Fondazione Mondino e IRCCS Fondazione Santa Lucia.

Lo studio, della durata di 24 mesi, è randomizzato controllato multicentrico per testare l'efficacia clinica e la sicurezza di un protocollo di trattamento che utilizzi il sistema Oak Elderly Care®, su una serie di pazienti selezionati secondo i criteri di inclusione.

Vengono considerati eleggibili tutti i pazienti con diagnosi di Ictus, Malattia di Parkinson e Sclerosi Multipla che presentano dei deficit di equilibrio tra quelli ricoverati presso i centri coinvolti nello studio. I partecipanti vengono allocati casualmente (random) in uno dei due gruppi. Il gruppo sperimentale è composto da pazienti sottoposti ad un minimo di 45 minuti fino a un massimo di 1 ora di trattamento/die con dispositivo Oak Elderly Care® e un minimo di 45 minuti fino ad un massimo di 1 ora di trattamento/die neuromotorio convenzionale. Il gruppo di controllo riceve invece un minimo di 90 minuti fino a un massimo di 2 ore di trattamento/die neuromotorio convenzionale.

Il trattamento sperimentale prevede un totale di 15 sedute, da completare in 3 settimane (quindi 5 sedute a settimana).

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele il 22/01/2020 (cod: 01/20). Nel 2020 è stata avviata l'attività sperimentale di reclutamento, valutazione e trattamento dei pazienti. Alla fine dell'anno sono stati reclutati 6 soggetti con malattia di Parkinson (4 OAK, 2 controllo), 5 con Sclerosi Multipla (3 OAK, 2 controllo) e 1 con Ictus (1 OAK). Cinque soggetti non hanno potuto concludere il trattamento riabilitativo. L'attività di ricerca proseguirà nel 2021 con il reclutamento di ulteriori pazienti.

L'inclusione dei pazienti nel presente studio clinico può fornire benefici in termini di una più accurata gestione del trattamento riabilitativo dei pazienti neurologici. Non sono previsti rischi noti per i pazienti che partecipano allo studio.

5 per mille

L'intervento riabilitativo sull'arto superiore attraverso sistemi robotici integrati in realtà virtuale non immersiva: studio di impatto, accettazione e qualità di vita nei pazienti con esiti di ictus

L'utilizzo di videogiochi terapeutici (serious games) e realtà virtuale non immersiva rappresenta un nuovo e valido approccio in molti campi della riabilitazione neuromotoria. Tale strategia di intervento viene utilizzata per la riabilitazione nella disabilità fisica e nell'apprendimento, nei disturbi cognitivi e nella riabilitazione vestibolare (cura dei disturbi dell'equilibrio). Diverse applicazioni cliniche e sperimentali hanno provato l'efficacia di queste tecnologie in pazienti con patologie neurologiche e motorie quali: ictus, morbo di Parkinson, disturbi della memoria. In particolare, nella riabilitazione post ictus, trova applicazione per gli esercizi delle estremità superiori e inferiori, per la riabilitazione della cognizione spaziale e del movimento, per migliorare le prestazioni delle attività della vita quotidiana, e sembra contribuire all'aumento della motivazione e compliance del paziente. L'integrazione di questi approcci con la robotica riabilitativa rappresenta una frontiera di grande interesse in quanto attraverso l'intervento robotico può essere assicurata al paziente una terapia motoria attiva ripetibile, controllata in tempo reale e continua, inoltre, grazie ai sensori di forza e posizione inseriti nelle interfacce robotiche, è possibile misurare grandezze biomeccaniche utili alla valutazione dello stato funzionale del paziente (Park et al., 2019). L'ambiente simulato virtualmente permette di riprodurre azioni complesse sotto il controllo del terapeuta il quale può modificare le caratteristiche del gesto riabilitativo riprodotto in base alla percezione e allo stato del paziente. La terapia somministrata attraverso questi sistemi permette di monitorare in tempo reale la risposta all'esercizio riabilitativo e di identificare i parametri correlati al deficit funzionale del soggetto o a fattori di miglioramento motorio. L'accettazione di tali tecnologie da parte dei pazienti è un discriminante fondamentale per la comprensione dei meccanismi che massimizzano l'impatto di queste strategie di intervento sullo stato funzionale e sulla percezione della qualità di vita. In questo studio tali variabili sono valutate attraverso la misura di correlati psicologici, clinici e fisici.

Attraverso gli ambienti proposti dai serious games è possibile programmare un sistema di addestramento virtuale, che permette di eseguire più volte il gesto riabilitativo e mostrare le traiettorie corrette ed eventualmente modularle secondo la necessità reale del paziente. Queste caratteristiche rappresentano una modalità importante per sviluppare, attraverso la ripetizione, la formazione del corretto modello di attività nel sistema nervoso centrale, facilitando quei meccanismi di riorganizzazione neuronale alla base della plasticità corticale.

Inoltre, sembra che la sfida insita nel fattore di gioco possa migliorare la motivazione del paziente; la possibilità di poter modificare le caratteristiche dello scenario virtuale rende la riabilitazione più stimolante e piacevole per il paziente stesso. Attraverso l'ambiente virtuale, possono essere riprodotti ambienti di vita quotidiana e possono essere stimolati attraverso task specifici i processi cognitivi quali attenzione e concentrazione, oltre all'allenamento in presenza di tipiche situazioni quotidiane.

Il presente progetto di ricerca propone una valutazione multidominio dell'impatto di tali strategie sul percorso riabilitativo dei pazienti con esiti di ictus in fase sub acuta.

I pazienti vengono sottoposti a un programma di riabilitazione composto di sessioni di intervento riabilitativo robotico con lo strumento Motore Humanware, un dispositivo per la riabilitazione robotica di braccio e spalla in grado di misurare la forza esercitata dal paziente e reagire proporzionalmente ad essa attraverso un feedback motorio e audiovisivo. Lo studio valuterà l'accettazione di tali tecnologie da parte dei pazienti, e l'impatto del loro uso in riabilitazione per quanto riguarda il recupero della funzionalità motoria e la qualità di vita percepita.

Si intende effettuare una valutazione multidominio dell'impatto della riabilitazione robotica in ambienti videoludici attraverso scale cliniche, strumenti psicometrici e misure biomeccaniche.

Lo studio implica la valutazione multidominio dell'intervento terapeutico attraverso dispositivi robotici integrati con suite di serious game, l'impatto di una strategia tecnologica così innovativa verrà determinato attraverso la misura di grandezze fisiche, cliniche e psicologiche. E' possibile costruire modelli per la comprensione della relazione tra accettazione della tecnologia, guadagno clinico e qualità di vita.

15 pazienti con esiti di ictus in fase sub acuta sono reclutati presso l'Unità di Riabilitazione Neuromotoria dell'IRCCS San Raffaele Pisana. I pazienti sono sottoposti a sessioni di riabilitazione robotica (2 sessione di 15 minuti al giorno, per quattro giorni a settimana, per 8 settimane). Le valutazioni sono svolte alla baseline (T0), dopo 4 settimane (T1) e dopo 8 settimane (T2). Le misure psicometriche consistono in interviste per valutare l'Accettazione della Tecnologia (Technology Acceptance Model, TAM) e la Qualità di Vita (SF-36 ed EQ-5D), le valutazioni cliniche misurano la spasticità e l'ipertonico (MAS), la compromissione sensomotoria (FM) e la destrezza dell'arto superiore (B&B). Le valutazioni di funzionalità biomeccanica sono legate alla capacità motoria (ROM) e alla forza. Viene svolta un'analisi di regressione lineare backward per valutare gli effetti di predizione dell'accettazione della tecnologia sugli outcome psicologici e clinici, inoltre vengono valutate le correlazioni tra misure biomeccaniche e cliniche per validare la capacità di valutazione funzionale attraverso i sensori aptici integrati nel robot riabilitativo.

A causa del Covid-19, nell'anno 2020 non è stato possibile il reclutamento dei casi clinici nel rispetto del protocollo di studio; pertanto si proseguirà con l'attività nel 2021.

Il progetto si inserisce nella linea di ricerca 3 dell'IRCCS San Raffaele Pisana "Innovazione in medicina e riabilitazione" e ha un forte impatto in ambito clinico - riabilitativo in quanto permette in modo preciso, quantitativo e oggettivo di offrire un progetto riabilitativo personalizzato e stimolante dal punto di vista motorio e cognitivo.

AREA DI RICERCA BIOBANCA, BIOTECNOLOGIE AVANZATE E BIOMARKER DISCOVERY

"HORIZON 2020" PON I&C 2014-2020

Ministero dello Sviluppo Economico (MISE) - Direzione Generale per gli Incentivi alle Imprese; Divisione VII – Interventi per ricerca e sviluppo F/050383/01-03/X32.

Ambito Tecnologico 7. Tecnologie volte a realizzare i seguenti obiettivi della priorità "Sfide per la società"

Sotto ambito 7.1 Migliorare la salute e il benessere della popolazione

NET4HEALTH - NETWORK for HEALTH management

Obiettivo del progetto è la realizzazione di una piattaforma tecnologica per supportare la continuità e la personalizzazione della cura del paziente sul territorio, oltre che la definizione, lo sviluppo e l'implementazione di PDTA (Percorso Diagnostico Terapeutico Assistenziale) e PAI (Piano Assistenziale Integrato) e, più in generale, di workflows basati sull'evidenza scientifica e compliant con le linee guida e best practices. A causa della pandemia COVID-19 e delle misure precauzionali applicate dal governo, lo svolgimento delle attività di ricerca clinica hanno subito un notevole rallentamento, mentre sono proseguite a pieno regime tutte le attività eseguibili in modalità agile. In particolare, è stata avviata una estrazione dati mediante tecniche di natural language processing (NLP) al fine di arricchire il contesto informativo contenuto nelle cartelle cliniche dei pazienti Hospice arruolati nello studio. Nel corso dell'anno 2020 è stata, infatti, implementata una pipeline semantica atta alla comprensione e alla disambiguazione del testo (calata nel dominio clinico) e composta, tra l'altro, da processi di lemmatizzazione, tokenizzazione, eliminazione delle stopwords e identificazione delle entità tramite Named Entity Recognition. Sono state, inoltre, sperimentate alcune tecniche disponibili in letteratura per selezionare i parametri significativi in ottica predittiva, valutandone vantaggi e svantaggi nei vari contesti, ed è proseguita la sperimentazione di alcune tecniche disponibili per la normalizzazione dei dati da utilizzare nella costruzione degli algoritmi predittivi.

Infine, in linea con il piano di sviluppo approvato, è stata effettuata una revisione della letteratura sui processi assistenziali nel paziente oncologico con tromboembolismo venoso nella transizione

alle cure palliative secondo il modello di “simultaneous care”. I risultati ottenuti sono stati oggetto di pubblicazione su rivista indicizzata con peer-review:

H2020-SC1-2019-Two-Stage-RTD

Topic: SC1-BHC-02-2019 – Systems approaches for the discovery of combinatorial therapies for complex disorders

REVERT – taRgeted thErapy for adVanced colorEctal canceR paTients

Il progetto REVERT si pone quale obiettivo generale la costruzione di un sistema innovativo di supporto alle decisioni (DSS) basato sull'intelligenza artificiale (AI) usando l'esperienza e i dati del mondo reale di biobanche e di centri clinici accademici che operano nell'UE al fine di sviluppare un modello innovativo di terapia combinatoriale - basato su un approccio medico personalizzato - che identifica l'intervento terapeutico più efficiente ed economico per i pazienti con metastasi non resecabili da carcinoma del colonretto. Questo obiettivo è realizzato attraverso la costruzione di un DataBase con associato un sofisticato framework computazionale basato sull'AI, i cui servizi sono aperti a tutti partner durante e dopo il completamento del progetto, e sono resi disponibili anche per gli istituti di ricerca dell'UE che ne faranno richiesta per studi futuri. Il progetto, iniziato il 1 Gennaio 2020, è stato ufficialmente annunciato in occasione del kick-off meeting tenutosi presso il Centro Ricerche dell'IRCCS San Raffaele nelle giornate del 30 e 31 Gennaio 2020. Come per gli altri progetti in essere, lo scoppio dell'emergenza COVID-19 e delle misure precauzionali applicate dai vari governi, seppure con tempistiche e modalità differenti, ha causato un modesto rallentamento delle attività a causa delle difficoltà incontrate nell'implementazione di alcune attività mirate a finalizzare parte dei deliverables programmati. Allo stato dell'arte, tra le attività completate si possono citare, oltre alla stesura del Consortium Agreement, la stesura di alcuni documenti di progetto (Work Plan, Risk Assessment Plan e FAIR Data Management Plan). È stato inoltre costruito ed implementato il Sito Web REVERT (www.revert-project.eu/) ed è stata pubblicata la prima di una serie di newsletters dedicate al progetto. È in fase di completamento la stesura del report sulle Procedure Operative Standardizzate per la raccolta, l'elaborazione e la conservazione dei campioni, inclusi gli indicatori per monitorarne la qualità. Sono state, infine, attivate alcune attività di revisione della letteratura internazionale finalizzate ad un'analisi più approfondita del rationale alla base del progetto. Tali attività hanno portato alla pubblicazione di alcuni lavori su riviste indicizzate o banche dati internazionali.

POR Campania FESR 2014-2020 – Obiettivo specifico 1.2 Rafforzamento del sistema innovativo regionale e nazionale –

“RARE.PLAT.NET – Innovazioni diagnostiche e terapeutiche per tumori neuroendocrini, endocrini e per il glioblastoma attraverso una piattaforma tecnologica integrata di competenze cliniche, genomiche, ICT, farmacologiche e farmaceutiche”. Decreto Dirigenziale n. 446 del 23 Novembre 2018, della Regione Campania; soggetto proponente/aggregatore la Società Biomedica Bioingegneristica Campana BIOCAM SCARL.

Il progetto RARE.PLAT.NET vede coinvolta la Biobanca Interistituzionale Multidisciplinare BioBIM, in collaborazione con il partner aziendale Neatec SpA, per la validazione di un software innovativo a supporto del nuovo accreditamento rispetto alla norma internazionale UNI EN ISO 20387:2020 ““Biobanking” - Requisiti generali per il "biobanking", che specifica i requisiti generali di competenza, imparzialità e coerente funzionamento delle biobanche, inclusi i requisiti relativi al controllo qualità per garantire materiali biologici e dati associati di qualità appropriate e al fine di garantire la riproducibilità e la comparabilità dei risultati della ricerca. Il software configurato sulla base del contenuto normativo, consentirà non solo di effettuare una

gap analysis ma anche di fruire di un work flow e, al tempo stesso, un repository contenente tutti i dati e i documenti necessari alla certificazione.

PO FESR Sicilia 2014-2020 Azione 1.1.5 “Sostegno all’avanzamento tecnologico delle imprese attraverso il finanziamento di linee pilota e azioni di validazione precoce dei prodotti e di dimostrazione su larga scala”. Titolo del Progetto: “NUVACAL-BC – Baicalina e Curcumina per lo sviluppo di nutraceutici, adiuvanti per vaccini, cosmeceutici e alimenti funzionali”. Decreto Dirigenziale DDG 3200/5S del 28.10.2019.

Commessa di Ricerca per l’IRCCS San Raffaele Pisana per lo svolgimento di attività sperimentali tramite la Biobanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM).

Nell’ambito del progetto l’Università Telematica San Raffaele Roma si occuperà dello studio della capacità di baicalina e curcumina di ridurre la severità dell’infiammazione cronica, migliorare lo stato antiossidante e ridurre lo stress ossidativo attraverso la valutazione dell’inibizione del fattore di trascrizione NF-kB e la riduzione di citochine e chemochine e della produzione di ROS. In particolare, saranno analizzati gli effetti di baicalina e curcumina utilizzate singolarmente, in associazione tra di loro, o in combinazione ad altri agenti immunomodulanti. In tale contesto, si deve sottolineare l’importanza di una banca biologica con settori dedicati alle patologie di interesse che garantisca la disponibilità di un gran numero di campioni "normalizzati", nei quali i bias derivanti dalle variabili relative alla raccolta del campione, alla preparazione o alla conservazione stessa, siano stati eliminati. Questi obiettivi saranno realizzabili grazie alla partecipazione al progetto della Biobanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM) dell’IRCCS San Raffaele Pisana, Roma, in cui la possibilità di ottenere informazioni dettagliate sull’intero ciclo di vita dei campioni immagazzinati e sulla loro qualità è assicurata da procedure operative certificate e dalla disponibilità di risorse informatiche e di sistemi di monitoraggio delle condizioni di conservazione. Il progetto è stato approvato con DDG 3200/5S del 28.10.2019.

AREA DI RICERCA EPIDEMIOLOGIA CLINICA E MOLECOLARE

5per mille

Implementazione della medicina preventiva nella pratica clinica della riabilitazione: dai big data biometrici alla personalizzazione e qualità di vita dei pazienti

La Medicina personalizzata rappresenta lo studio delle caratteristiche individuali di ogni paziente e si pone lo scopo di integrare tra loro tali informazioni, conferendo caratteristiche uniche a patologie complesse che possono così essere diagnosticate e curate in maniera più efficiente, con un chiaro impatto sia dal punto di vista medico che socio-economico. Questo approccio è ben descritto dal modello delle 4P, un modello di medicina personalizzata, preventiva, predittiva e partecipativa. Si tratta di una medicina legata all’unicità di ogni individuo, con le proprie caratteristiche biologiche-genetiche, personali, sociali e culturali, che considera la conoscenza della propria storia ed eredità genetica, determina come assecondare/contrastare in modo più incisivo la malattia e a quali farmaci rispondere più efficacemente. In questo contesto ogni individuo diviene consapevole della propria storia medica, insieme al professionista clinico che lo ha in carica, del proprio processo di cura.

L’importanza degli aspetti “psico-cognitivi”, nel complesso iter terapeutico, ha determinato l’introduzione di una ulteriore P, al fine di coinvolgere il paziente nella gestione del proprio percorso di cura personalizzato, diventando soggetto decisionale attivo, e responsabilizzandolo del proprio processo di cura al fine di promuovere la sua qualità di vita, quale obiettivo primario dell’intero percorso processo di cura.

La Medicina delle 5P è una medicina di precisione caratterizzata da un approccio mirato alla persona, patient-centered: si personalizza la strategia terapeutica e si propone al paziente la

miglior cura disponibile, sulla base delle sue caratteristiche genetico-biologiche, conseguiti grazie anche alle tecnologie di avanguardia. Lo scopo è di ottenere una diagnosi, una terapia e un follow-up più efficaci rispetto al classico modello medico evidence-based.

Un approccio personalizzato risulta ancora più necessario nel campo della riabilitazione, storicamente considerata il terzo elemento del percorso sanitario dopo la prevenzione e la terapia, con lo scopo di: “sviluppare al meglio le potenzialità di salute della Persona in una presa in carico globale e unitaria, valorizzando l’attività fisica e motoria, cognitiva e motivazionale”.

Negli ultimi anni infatti la riabilitazione si sta ponendo sempre più l’obiettivo di “trattare la Persona con le sue possibilità e potenzialità di partecipazione rispetto al danno d’organo che ne ha determinato la limitazione. Indipendentemente dalla causa che ha generato la condizione di disabilità, lo scopo della riabilitazione risiede nell’individuare una modalità appropriata di intervento nei diversi e specifici setting e in relazione alla multimorbilità” (Ministero della Salute, ISSN 2038-5293).

I vantaggi di un approccio personalizzato in campo riabilitativo sono diversi, tra cui: la riduzione degli effetti avversi, evitando terapie inefficaci o senza un preciso effetto sulla malattia; la riduzione dei costi per i diversi sistemi sanitari, grazie all’utilizzo di farmaci e terapie mirate; una diagnosi rapida o anticipata, grazie anche all’individuazione di marcatori genomici/biologici; il miglioramento nella gestione delle malattie; la migliore progettazione dei percorsi riabilitativo grazie alla precoce individuazione dei Responders e dei non Responders.

L’approccio di medicina personalizzata rappresenta, pertanto, un modello da sviluppare in ambito riabilitativo per:

- Migliorare la gestione globale del paziente attraverso un intervento multidisciplinare e personalizzato.
- Fornire uno strumento per migliorare gli outcomes riabilitativi quali: livello di autonomia, qualità della vita, tasso di ospedalizzazione, riacutizzazioni, controllo delle comorbilità.
- Migliorare l’aderenza al trattamento riabilitativo consentendo il raggiungimento degli standard riabilitativi, in particolare dell’appropriatezza delle tre ore di riabilitazione intensiva.

Gli obiettivi del presente progetto sono i seguenti:

1. Valutazione della letteratura scientifica e conduzione di studi ad hoc per valutare i predittori della risposta alla riabilitazione respiratoria in ambito biologico, clinico, epidemiologico e psico-comportamentale e cognitivo;
2. Creazione di un algoritmo complesso che – sulla base dei risultati degli studi ad hoc e della letteratura – sia in grado di predire all’avvio del trattamento la risposta del paziente;
3. Definizione di un protocollo di intervento riabilitativo personalizzato che integri le linee guide attualmente vigenti;
4. Testare in un gruppo pilota la possibile efficacia del suddetto approccio in confronto al tradizionale;
5. Quantificare le risorse umane e finanziarie necessarie alla sua implementazione.

LABORATORIO DI ENDOCRINOLOGIA CARDIOVASCOLARE

Miur - PRIN: Progetti di ricerca di rilevante interesse nazionale

Novel molecular players of hypoxia/inflammation impinging on lipid homeostasis in obesity and related diseases: Theranostic implications.

L’obesità è dannosa per la salute umana e aumenta il rischio di sviluppare patologie come diabete e malattia cardiaca. La condizione di obesità è associata allo sviluppo di infiammazione e di ipossia del tessuto adiposo (AT). L’ipossia è causata da insufficiente vascolarizzazione che

localmente non riesce a trasportare ossigeno in modo adeguato all' AT che ha subito un'alterata espansione nel soggetto obeso. E' noto che elevata infiammazione e ipossia portano a disregolata secrezione di adipochine, ad alterata funzione delle cellule staminali residenti nell'AT, e a difettosa attivazione termogenica di AT, con conseguente ulteriore espansione delle masse adipose.

Obiettivo del progetto è approfondire i meccanismi molecolari che determinano lo sviluppo di infiammazione e ipossia che giocano un ruolo rilevante nello sviluppo di AT disfunzionante nell'obesità e in patologie associate ad obesità come il carcinoma epatico.

L'ipotesi alla base del progetto è che infiammazione ed ipossia determinino alterazioni funzionali dell'AT e favoriscano lo sviluppo di obesità e patologie ad essa correlate. A questo scopo viene effettuata una analisi di fattori coinvolti nello sviluppo di infiammazione, ipossia, attivazione della lipolisi e della termogenesi nell'AT. Si valuta specificamente l'espressione e l'attività di NF-kB, HIF-1, ATGL, FOXO1, FOXO2, Recettore Mineralcorticoide (MR) e Recettore Glucocorticoide (GR) in cellule staminali di AT, nel tessuto adiposo di differenti depositi da soggetti obesi e non-obesi, in modelli murini proni a sviluppare obesità e steatoepatite non alcolica. In particolare, delle cinque unità di ricerca partecipanti al progetto, l'unità dell'Università Telematica San Raffaele Roma, analizza il ruolo dei recettori dei corticosteroidi MR e GR nella modulazione dei "pathway" molecolari regolati, nell'AT, dagli altri fattori menzionati.

Questi studi potrebbero aprire la strada all'impiego di antagonisti di MR nel contrastare infiammazione e ipossia dell'AT, e quindi nell'ostacolare le disfunzioni dell'AT e lo sviluppo di obesità e patologie correlate.

Viene analizzato il ruolo di MR nel regolare infiammazione e ipossia nell'AT di topi WT maschi a cui verrà somministrata dieta obesogena contenente l'antagonista di MR Spironolattone. Viene analizzata l'espressione del fattore attivato da ipossia HIF-1 e dei geni "target", come il gene vascular endothelial growth factor (VEGF), la cui espressione è indotta da HIF-1.

Viene inoltre analizzato se il blocco di MR da parte di spironolattone modula l'attività trascrizionale di NF-kB e l'espressione di adipochine infiammatorie nell'AT.

Viene inoltre analizzata l'espressione della lipase ATGL, nota per regolare la lipolisi e l'infiammazione locale nell'AT.

L'espressione di HIF-1, VEGF, NF-kB, FOXO1 e ATGL è inoltre analizzata nell'AT dei topi WT maschi trattati con CORT118335 (contenuto nel cibo), un antagonista "combinato" dei recettori MR e GR. Precedenti studi effettuati nel laboratorio hanno mostrato che il trattamento con CORT118335 è efficace nel contrastare lo sviluppo di obesità e insulino-resistenza. Queste analisi mostreranno se il blocco combinato di MR e GR può contrastare lo sviluppo di infiammazione e ipossia dell'AT, proteggendo quindi i topi da alterazioni del metabolismo glucidico e dell'AT.

Viene valutata l'espressione dei marker menzionati di infiammazione e ipossia dell'AT in topi knock out per MR nei macrofagi. L'assenza di MR nel macrofago è nota indurre un fenotipo macrofagico antinfiammatorio (M2). Questi esperimenti chiariscono il contributo di MR nei macrofagi all' infiammazione e all' ipossia dell'AT.

Precedenti studi preclinici effettuati dal gruppo di ricerca hanno mostrato che topi wild type trattati con antagonisti di MR o con l'antagonista combinato di MR e GR risultano resistenti all'obesità e ad alterazioni del metabolismo glucidico. Ci si aspetta quindi che il blocco farmacologico di MR o il blocco combinato di MR e GR possa contrastare l'infiammazione locale nell'AT e l'ipossia derivante da incontrollata espansione dell'AT. Ci si aspetta quindi di osservare una ridotta espressione dei geni menzionati HIF-1, VEGF, NF-kB, FOXO1 e ATGL (coinvolti in "pathway" correlate a infiammazione e ipossia) nell'AT dei topi trattati con Spironolattone o CORT118335. Analogamente ci si attende di osservare una ridotta espressione di marker infiammatori e di ipossia nell'AT dei topi KO per MR specifico del macrofago.

In soggetti obesi con patologie associate all'obesità il trattamento con antagonisti di MR può costituire un'efficiente terapia per contrastare la disfunzione dell'AT derivante da infiammazione

e ipossia locali. Lo studio fornirà importanti informazioni sulla possibilità di reprimere infiammazione e ipossia, tramite antagonismo di MR o di MR/GR, che come è noto favoriscono alterazioni funzionali dell'AT e che determinano lo sviluppo di obesità.

Il progetto mira quindi a stabilire se i trattamenti farmacologici indicati possano rappresentare una valida strategia per contrastare l'insorgenza e l'aggravamento di disfunzioni metaboliche a carico del tessuto adiposo e del metabolismo glucidico.

Nello studio sono stati utilizzati topi maschi WT sottoposti a dieta obesogena (HFD) e trattati in parallelo con antagonisti del recettore mineralcorticoidedi (MR) e topi transgenici mancanti di MR nell'adipocita (topi adipo MR) o nel macrofago (topi mac MR) anch'essi sottoposti a dieta obesogena. Su tali gruppi di animali è stato effettuato un test di tolleranza al glucosio tramite iniezione intraperitoneale di glucosio e successiva misurazione dei livelli di glucosio circolanti. Sono state effettuate analisi di real-time PCR (utilizzando Mx3000P light cycler, Stratagene) e analisi di western blot per valutare l'espressione di geni e proteine coinvolti nel "signaling" molecolare regolato da MR e ATGL. Sono state impiegate inoltre tecniche di immunostochimica per analizzare la morfologia del tessuto (presenza di grasso ectopico) e la localizzazione di specifiche proteine.

L'obiettivo della ricerca è di analizzare in particolare il ruolo di MR nella regolazione della funzione dell'adipocita trigliceride lipase (ATGL), coinvolta nella modulazione del processo di lipolisi e quindi nel metabolismo dei lipidi.

In topi C57BL/6 wild type (wt), a cui è stata somministrata dieta obesogena, il co-trattamento con antagonisti di MR (MRA) contrastava lo sviluppo di obesità e dell'alterato metabolismo glucidico. In particolare, gli MRA reprimevano l'espansione del tessuto adiposo bianco e determinavano attivazione metabolica del tessuto adiposo bruno interscapolare (BAT), mostrando quindi un'azione antiobesogena. Al livello del BAT, il trattamento con MRA promuoveva l'espressione di geni specifici dell'adipocita bruno, stimolando l'attività dell'AMP-activated protein Kinase (AMPK) che, a sua volta, aumentava l'attività di ATGL, con conseguente riduzione delle dimensioni delle gocce lipidiche intracellulari e con aumentata espressione della proteina mitocondriale UCP1. L'aumento dei livelli di UCP1 indicava un potenziamento dell'attività termogenica del BAT, probabilmente dovuto a rilascio di acidi grassi derivanti dai trigliceridi intracellulari a seguito dell'attivazione della lipase ATGL. In colture di adipociti bruni murini (T37i) il trattamento con MRA, o con l'inibitore di AMPK iodotubercidina, o con l'inibitore specifico di ATGL Atglistin, riduceva l'espressione di UCP1 dimostrando che il trattamento con MRA è in grado di modulare il "pathway" molecolare MR-AMPK-ATGL-UCP1.

Il ruolo di MR nella modulazione dell'infiammazione del tessuto adiposo è stato studiato in topi transgenici mancanti di MR nell'adipocita (topi adipo MR) o nel macrofago (topi mac MR) e sottoposti a dieta obesogena. Con tale dieta entrambi i gruppi hanno guadagnato peso e hanno sviluppato ampie masse adipose, come pure un'alterata tolleranza al glucosio, in misura paragonabile a topi di controllo (wt) esperimenti MR nell'adipocita e nel macrofago. Tali esperimenti hanno dimostrato che l'assenza di MR nell'adipocita non altera il differenziamento dell'adipocita, né l'espressione di marcatori infiammatori nel tessuto adiposo, né protegge dalle alterazioni del metabolismo glucidico causate da dieta obesogena. Analogamente, in topi mac MR l'assenza di MR nei macrofagi non protegge dall'alterata espansione e dalle disfunzioni del metabolismo glucidico indotte da dieta obesogena. Gli esperimenti su entrambi questi modelli suggeriscono che l'assenza di MR nell'adipocita maturo e nel macrofago non preserva la funzione del tessuto adiposo in condizioni di dieta obesogena. D'altra parte, sia in topi wt che in colture di preadipociti murini in differenziamento, il trattamento con MRA contrasta la maturazione dell'adipocita bianco ma promuove l'adipogenesi "bruna", suggerendo che il blocco di MR modula la funzione della cellula adiposa agendo su pathway molecolari attive durante il differenziamento. In particolare, in preadipociti bruni della linea cellulare T37i, il trattamento con MRA durante il differenziamento stimola l'attivazione del pathway MR-AMPK-ATGL con conseguente aumentata espressione di UCP-1 e potenziamento della funzione termogenica.

Progetti di ricerca sponsorizzati da privati

BAYER: Finerenone and the metabolic syndrome: potential systemic beneficial effects through specific blockade of the mineralocorticoid receptor in the adipose organ

Studi del laboratorio e di altri gruppi di ricerca hanno mostrato che il Recettore Mineralcorticoide (MR) ha un ruolo fondamentale nel regolare il metabolismo del tessuto adiposo. Queste ricerche hanno dimostrato che il blocco farmacologico di MR in vitro blocca la differenziazione adipocitaria. In accordo con i dati in vitro, il trattamento con antagonisti di MR in topi sottoposti a dieta obesogena determina negli animali un ridotto aumento di peso, una ridotta infiammazione, una minore espansione della massa di tessuto adiposo, e un miglioramento del metabolismo glucidico. Inoltre studi in vitro e in vivo precedentemente effettuati nel laboratorio hanno evidenziato che il blocco farmacologico di MR con Spironolattone e Drospirenone induce conversione del tessuto adiposo bianco in tessuto adiposo bruno, con effetti metabolici benefici e protettivi contro l'obesità. Considerata l'urgenza di contrastare la sempre maggior diffusione di obesità, diabete e sindrome metabolica, l'impiego di antagonisti MR in soggetti obesi potrebbero costituire un efficace approccio terapeutico all'obesità e a malattie ad essa associate.

Questo progetto si propone di caratterizzare gli effetti del FINERENONE, un nuovo antagonista di MR non steroideo sul fenotipo del tessuto adiposo in un modello murino di sindrome metabolica indotta da dieta. Ci si propone inoltre di studiare gli effetti del FINERENONE sulla secrezione di adipochine, sul metabolismo del glucosio e sull'accumulo di tessuto adiposo ectopico nel fegato e nel muscolo. Gli effetti del FINERENONE sono infine comparati con quelli dello Spironolattone, il classico antagonista steroideo di MR.

Il progetto ha l'obiettivo di studiare gli effetti in vivo del trattamento con l'anti-mineralcorticoide non steroideo e di recente sintesi, FINERENONE in topi "wild-type" sottoposti a dieta normale o a dieta obesogena per 12 settimane, confrontando tali effetti con quelli già conosciuti dell'antagonista steroideo di MR Spironolattone. In tali topi viene valutata l'azione del FINERENONE nel contrastare gli effetti attesi della dieta obesogena in termini di aumento di peso, aumentata infiammazione e espansione e del tessuto adiposo, alterata espressione di adipochine, e intolleranza glucidica e deposizione ectopica del tessuto adiposo nel fegato. Gli effetti del FINERENONE sono inoltre studiati in colture di adipociti 3T3-L1 e colture di adipociti primari di topo. In particolare, nelle colture di adipociti trattati con i 2 menzionati antagonisti di MR, è investigato il grado di differenziamento, il flusso autofagico e l'espressione di geni specifici dell'adipocita bruno.

In considerazione delle proprietà farmacocinetiche del Finerenone, e dei nostri dati precedenti ottenuti con Spironolattone e Drospirenone, l'utilizzo di questo nuovo antagonista non steroideo del Recettore Mineralcorticoide potrebbe rivelarsi utile nel contrastare l'insulino-resistenza e la disfunzione adipocitaria, attraverso azioni dirette sull'organo adiposo.

Il blocco farmacologico di MR è utilizzato nella pratica clinica per il trattamento dello scompenso cardiaco, ma l'utilizzo di antagonisti di MR è limitato dai rischi di effetti collaterali gravi, come l'iperpotassemia e il peggioramento della disfunzione renale in pazienti che presentano insufficienza renale. Il FINERENONE appartiene a una classe di molecole la cui selettività e affinità per MR sono maggiori se paragonate a quelle di Spironolattone o eplerenone. Grazie a queste peculiarità, la somministrazione del FINERENONE in studi clinici su pazienti scompensati con insufficienza renale, ha evidenziato che il FINERENONE riduce il rischio di iperpotassemia e di un aggravamento del danno renale. Partendo da queste premesse lo studio degli effetti del FINERENONE in un modello in vivo di sindrome metabolica, aiuterà a comprendere meglio le potenzialità nell'utilizzo di questo farmaco nell'obesità e nella sindrome metabolica.

Questo studio è stato condotto per 3 mesi su 4 gruppi di topi wild-type: topi alimentati con dieta normale (gruppo ND, n=10), topi alimentati con dieta grassa (gruppo HFD, n=10), topi alimentati con dieta grassa contenente FINERENONE (gruppo FINE, n=10), topi alimentati con dieta grassa contenente Spironolattone (gruppo SPIRO, n=10). Si sono utilizzate real-time PCR, western blot e tecniche di immunoistochimica per analizzare nel tessuto adiposo dei topi, l'espressione di geni e proteine coinvolti nel processo di adipogenesi e lipolisi per studiare la morfologia tissutale, la localizzazione di specifiche proteine e la deposizione di tessuto adiposo bianco ectopico in particolare nel fegato e nel muscolo scheletrico. Nei topi in studio è stato effettuato il test di tolleranza al glucosio tramite iniezione intraperitoneale di glucosio.

Analisi di real-time PCR e western blot sono state inoltre impiegate per analizzare gli effetti del FINERENONE sul differenziamento di colture di adipociti murini bianchi (3T3-L1) e adipociti murini bruni (T37i).

In questo studio è stato osservato che topi sottoposti a dieta obesogena e trattati con FINERENONE mostravano una migliorata tolleranza al glucosio accompagnata da una aumentata multilocularità e una maggiore espressione di marcatori tipici della temogenesi, a carico del tessuto adiposo bruno intrascapolare (iBAT). Al contrario non erano ravvisabili differenze significative nel tessuto adiposo bianco (WAT), suggerendo che l'effetto del FINERENONE fosse iBAT-specifico. Nel tessuto bruno intrascapolare di topi trattati con FINERENONE, è stata osservata una aumentata espressione dei marcatori di browning, una riduzione delle dimensioni delle gocciole lipidiche degli adipociti bruni e un aumento nella densità del BAT e della colorazione per UCP-1. Gli effetti del FINERENONE sul grasso bruno sono mediati da una cascata di segnali intracellulari che coinvolge MR-AMPK-ATGL-UCP1. Queste evidenze, valutate nella loro globalità, suggeriscono che il FINERENONE protegga dalle disfunzioni del tessuto adiposo bruno e migliori la tolleranza al glucosio in topi nutriti con dieta obesogena. L'antagonismo di MR ad opera del FINERENONE potrebbe pertanto svolgere un ruolo importante se utilizzato come nuovo approccio farmacologico nella gestione di disordini metabolici associati a disfunzioni del tessuto adiposo e potrebbe apportare benefici in un contesto di riabilitazione cardiovascolare di pazienti con sindrome metabolica. Sono ancora in corso esperimenti sul tessuto muscolare scheletrico.

L'impiego di antagonisti MR in soggetti obesi potrebbe costituire un efficace approccio terapeutico all'obesità e alle sue comorbidità.

New PENTA- Studio randomizzato controllato, per la valutazione dello schema nutrizionale metabolico chetogenico in soggetti con emicrania episodica ad alta frequenza

Il controllo del peso corporeo è un cardine del trattamento efficace dell'emicrania poiché è stato dimostrato che il rischio di emicrania cronica è aumentato del 9% in soggetti in sovrappeso e del 15% in quelli obesi.

La fisiopatologia sembra attribuibile ad un aumento del rilascio di CGRP (peptide correlato al gene della calcitonina) e di citochine proinfiammatorie da parte degli adipociti.

La dieta chetogenica (Very Low Calory Ketogenic Diet – VLCKD), è un regime fortemente ipocalorico (< 800 Kilocalorie) che si basa sulla drastica riduzione nell'intake di carboidrati (di solito < 50 g/die), associata ad una riduzione dei grassi esogeni (30 g di olio extra-vergine di oliva) e caratterizzata da un introito proteico compreso tra 1.2 e 1.5 g/kg di peso corporeo ideale. Questa fase è seguita dalla progressiva reintroduzione dei pasti convenzionali proteici, e successivamente dei carboidrati a basso indice glicemico.

Tali programmi di alimentazione controllata, che comportano di fatto la riduzione dei glucidi e dei lipidi, associata al consumo di proteine ad alto valore biologico, permettono di ridurre rapidamente la massa grassa attraverso complesse reazioni biochimiche ed ormonali che favoriscono la lipolisi. Le VLCKDs forniscono un valore medio di proteine compreso tra 1.2 e 1.5 g per kg di peso corporeo ideale al giorno (allo scopo di preservare la massa magra), in aggiunta alle razioni giornaliere raccomandate di minerali e vitamine, oligoelementi e

acidi grassi essenziali. In tali percorsi dietetici sono inoltre raccomandati almeno 10 gr/die di grassi in modo da stimolare la contrazione della colecisti ed una quantità di carboidrati, che non deve superare i 50 gr/die, utili al fine di mantenere la glicemia entro i range di normalità, ottenendo una chetogenesi controllata. La VLCKD ha effetti importanti sullo stato di attivazione del sistema immunitario. E' noto infatti che il tessuto adiposo, producendo adipochine, svolge un'azione di controllo delle cellule dell'immunità innata e adattativa. Individui obesi o con problemi di cattiva alimentazione hanno sistemi immunitari prone allo sviluppo di patologie autoimmunitarie o di infiammazione cronica. Inoltre la VLCKD esercita importanti effetti sull'attività neuronale ed è impiegata nel trattamento dell'epilessia da quasi un secolo.

L'utilità della VLCKD è stata evidenziata anche in diverse patologie neurologiche quali malattia di Parkinson, demenza di Alzheimer, tumori cerebrali e autismo, grazie all'influenza che esercita sulla plasticità neuronale, sulla modulazione dell'equilibrio tra neurotrasmettitori inibitori ed eccitatori e sugli effetti neuroprotettivi attraverso la produzione di corpi chetonici e la riduzione dei livelli di glucosio ematico

Diverse evidenze sperimentali supportano l'impiego della VLCKD nel controllo dell'emigrania. Sono stati osservati ad esempio: la riduzione della cortical spreading depression, il miglioramento del metabolismo energetico neuronale, il contrasto della neuroinfiammazione, la riduzione dell'espressione ipocampale di $TNF\alpha$, $PPAR\gamma$ e $COX2$, la riduzione della traslocazione nucleare di $NF\kappa B$ nell'ipocampo, la riduzione della produzione mitocondriale di ROS (Reactive Oxygen Species: importanti molecole di segnale che mediano lo stress ossidativo ed il danno cellulare) e la riduzione dei livelli di glutammato grazie all'attivazione del metabolismo dell'astrocita.

La VLCKD si è dimostrata efficace nel trattamento dell'epilessia farmaco-resistente e altre patologie neurologiche (ad es. il morbo di Parkinson e forme di demenza tra le quali la demenza di Alzheimer) e ci sono evidenze che dimostrano la sua efficacia anche nel trattamento dell'emigrania. Considerando inoltre l'effetto negativo dell'obesità sull'emigrania, un regime dietetico che preveda un basso introito calorico giornaliero, può dimostrarsi utile sia nel controllo del peso corporeo che nel miglioramento dell'emigrania. In particolare potrebbe ridurre la frequenza degli eventi emigranici grazie alla restrizione calorica e alla chetosi metabolica controllata. Lo scopo di questo studio consiste nel valutare l'impatto di uno schema nutrizionale VLCKD rispetto ad una dieta bilanciata ipocalorica non chetogenica (HBD), sull'andamento dell'emigrania ad alta frequenza, in virtù non solo delle capacità di indurre calo ponderale, ma anche di migliorare il metabolismo energetico neuronale, riducendone l'ipereccitabilità, contrastando la neuroinfiammazione e aumentando l'efficienza della trasmissione e della plasticità sinaptiche. Infatti, la VLCKD promuove la biogenesi mitocondriale che si accompagna un metabolismo mitocondriale più efficiente e ad una aumentata produzione energetica.

In questo studio randomizzato controllato si intende investigare come il regime alimentare della VLCKD influisca rispetto alla dieta di controllo, sull'andamento dell'emigrania ad alta frequenza nei pazienti arruolati, valutando primariamente la variazione del numero dei giorni di emigrania e della durata degli attacchi (espressa in ore).

Si valuta anche:

- la perdita di peso e l'indice di massa corporea (BMI),
- l'immunofenotipo con particolare riferimento alle cellule T infiammatorie e regolatorie, in risposta al trattamento dietetico (VLCKD vs dieta di controllo),
- l'impatto della VLCKD sui parametri ematici per la valutazione della funzionalità renale ed epatica,
- il quadro metabolico, elettrolitico e ormonale,
- i livelli di aldosterone.

Outcome primario:

1. Cambiamento nella frequenza degli eventi emicranici. Sono utilizzati due differenti test (Migraine Disability Assessment Score Questionnaire (MIDAS) and Headache Impact Test (HIT-6)) per stabilire quanto gli eventi emicranici influiscano sulla vita dei pazienti e misurare l'impatto dell'emicrania sulle loro attività quotidiane. Inoltre è prescritto di tenere un diario degli eventi emicranici.

Outcomesecondario:

2. Cambiamento nella durata degli episodi emicranici
Sono utilizzati due differenti test (Migraine Disability Assessment Score Questionnaire (MIDAS) and Headache Impact Test (HIT-6)) per stabilire quanto gli eventi emicranici influiscano sulla vita dei pazienti e misurare l'impatto dell'emicrania sulle loro attività quotidiane. Inoltre è prescritto di tenere un diario degli eventi emicranici.
3. Calo ponderale e indice di massa corporea (BMI)
In ogni visita viene effettuata una valutazione delle misure antropometriche (peso, circonferenze vita e fianchi)
4. Cambiamento nei parametri immunologici
Il sistema immunitario determina la suscettibilità degli individui sovrappeso/obesi alle patologie infiammatorie; pertanto sono caratterizzate le sottopopolazioni linfocitarie dei pazienti.
5. Cambiamento della qualità della vita
Sono utilizzati due differenti test (Health Survey-36 (SF-36) and Visual Analog Scale for pain (VAS)) per determinare l'impatto dell'emicrania sulla qualità della vita
6. Cambiamento nel consumo di analgesici.

La VLCKD potrebbe dimostrarsi efficace per un rapido miglioramento a breve termine degli eventi emicranici in pazienti in sovrappeso, e rappresentare un valido strumento terapeutico nei pazienti che soffrono di emicrania episodica ad alta frequenza.

Presso gli ambulatori dell'IRCCS San Raffaele Pisana sono arruolati 58 soggetti che devono rispondere ai seguenti criteri:

Criteri di inclusione:

- BMI >27 kg/m²
- insorgenza degli eventi emicranici <50 anni con frequenza mensile di 8-14 giorni negli ultimi 3 mesi
- assenza di terapia di profilassi per emicrania nei 3 mesi precedenti
- firma del consenso informato
- assenso a seguire le procedure prescritte dallo studio comprese le visite di controllo
- test urinario di gravidanza negativo
- utilizzo di metodi contraccettivi per l'intera durata dello studio
- consenso da parte di tutti i partecipanti allo studio di non rendere pubbliche le informazioni circa lo studio in essere

Criteri di esclusione:

- BMI > 35 kg / m²;
- trattamento di profilassi per emicrania nei 3 mesi precedenti
- trattamento con antidepressivi o sostanze neurolettiche durante lo svolgimento dello studio (controlli compresi)
- trattamento con diuretico non risparmiatore di potassio durante lo studio (incluse visite di controllo)
- utilizzo o impianto di stimolatori utilizzati per le emicranie
- emicrania con o senza uso eccessivo di farmaci, cefalee muscolo-tensive, cefalee a grappolo, emicranie sporadiche, emicrania di origine oftalmica, emicrania di base definita in base alla classificazione ICHD-3 beta nei tre mesi precedenti
- traumi cranici
- problemi psichiatrici che possano influenzare l'aderenza al trattamento

- diabete mellito di tipo I o di tipo II trattato con terapia insulinica
- facenti uso di supplementi che influiscano sul peso corporeo
- facenti uso di sostanze che contengano zuccheri nelle loro composizioni
- stato di gravidanza o allattamento
- abuso di alcol
- altre patologie neurologiche, cardiovascolari, epatiche, respiratorie, ematologiche, autoimmuni, o altre alterazioni dei parametri di test di laboratorio che possano compromettere lo studio.

I pazienti così arruolati vengono randomizzati in due gruppi paralleli che ricevono per 3 mesi due regimi dietetici differenti: lo schema nutrizionale VLCKD o la dieta ipocalorica bilanciata non chetogenica HBD con pasti convenzionali.

Lo schema nutrizionale per la terapia chetogenica controllata è diviso nei tre step seguenti:

1° step: VLCKD della durata di 4 settimane in cui vengono assunti 5 pasti sostitutivi (3 masticabili e 2 liofilizzati).

2° step: VLCKD della durata di 4 settimane ed a sua volta suddiviso in due fasi:

2a) in cui vengono assunti un pasto proteico convenzionale, 3 prodotti masticabili ed un prodotto liofilizzato.

2b) in cui vengono assunti 2 pasti proteici convenzionali, 2 prodotti masticabili ed un prodotto liofilizzato.

3° step: low calorie diet (LCD) con pasti sostitutivi) della durata di 4 settimane anch'esso suddiviso in 2 fasi:

3a) reinserimento di latticino a colazione, un solo prodotto masticabile, un frutto come spuntino;

3b) reinserimento di una porzione di legumi a pranzo o a cena 3 volte a settimana, una porzione di cereali (pane o pasta) a pranzo, un prodotto masticabile.

Il gruppo di controllo segue un regime dietetico ipocalorico bilanciato (HBD) a basso indice glicemico, non chetogenico, senza assunzione di pasti sostitutivi. Al termine delle 12 settimane dei due regimi dietetici i soggetti di entrambi i gruppi di trattamento proseguono con una dieta a basso indice glicemico (hypocaloric balanced diet - HBD) non chetogenica, senza assunzione di pasti sostitutivi per ulteriori 12 settimane.

A tempi predefiniti, i soggetti vengono sottoposti ad esami ematici per la valutazione della funzionalità renale ed epatica, il quadro metabolico, elettrolitico, ormonale ed immunofenotipico.

Sono stati arruolati 37 pazienti; 14 pazienti hanno concluso il clinical trial e 6 pazienti hanno abbandonato lo studio. Sta proseguendo l'arruolamento dei pazienti al fine di raggiungere il numero previsto per gli esperimenti e descritto nel progetto.

L'emicrania è una condizione severamente debilitante che colpisce circa il 12% della popolazione con una prevalenza nel sesso femminile (F:M=3:1) e che secondo il Global Burden of Disability rappresenta la seconda causa di disabilità. Nonostante l'emicrania determini una significativa riduzione della qualità della vita ed il 38.8% degli emicranici abbia un'indicazione ad un trattamento di profilassi, solo il 12.4% di essi viene realmente trattato. Inoltre, tra i soggetti emicranici che iniziano una terapia di profilassi una percentuale oscillante tra il 16.7% ed il 23.7% dei casi abbandona il trattamento per eventi avversi farmaco-correlati. Il controllo del peso corporeo è un cardine del trattamento efficace dell'emicrania essendo dimostrato che il rischio di emicrania cronica è aumentato del 9% in soggetti in sovrappeso e del 15% in quelli obesi. In questo scenario la VLCKD potrebbe dimostrarsi efficace per un rapido miglioramento a breve termine degli eventi emicranici in pazienti in sovrappeso, e rappresentare inoltre un valido strumento terapeutico per il controllo del peso corporeo in pazienti che soffrono di emicrania episodica ad alta frequenza.

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM)

I genotipi del virus di Epstein-Barr nella sclerosi multipla ed il loro ruolo funzionale nell'eziologia della malattia.

In uno studio condotto su persone con sclerosi multipla (SM) e controlli è stata identificata l'associazione tra varianti genomiche del virus di Epstein-Barr (EBV) e la SM, rafforzando l'idea che EBV contribuisca allo sviluppo della malattia. Analizzando una regione del DNA virale che codifica per l'antigene nucleare 2 (EBNA2), è stato mostrato che il rischio di sviluppare la SM è significativamente correlato alla presenza dell'allele 1.2 e ad una sotto rappresentazione dell'allele 1.3B nel gruppo dei pazienti.

Oltre a EBNA2, altri loci del complesso genoma virale possono influire sulla patofisiologia della malattia. In uno studio esplorativo, dove i ricercatori hanno interamente sequenziato i genomi di EBV derivati da linee cellulari linfoblastoidi spontanee (spLCL) ottenute da persone con SM e da donatori sani (HD), sono state individuate altre varianti virali che potrebbero essere correlate con l'insorgenza della malattia.

Sulla base di queste informazioni, si propone di confermare i dati sull'associazione degli alleli di EBNA2 con la SM, definendone anche il ruolo funzionale, e di accertare la significatività statistica dell'associazione di altre possibili varianti genomiche. Il primo obiettivo è quello di analizzare una coorte di pazienti e sani più ampia ed indipendente rispetto a quella precedentemente analizzata. Ad oggi sono state arruolate 250 persone con SM e 110 controlli, sottoposti a prelievo ematico e ad isolamento delle cellule B (potenzialmente infettate dal virus). E' stato analizzato il DNA virale di 204 campioni del gruppo con SM e 75 del gruppo di controllo grazie ad un sistema di identificazione delle varianti tramite digitaldroplet PCR (ddPCR), un metodo preciso e accurato, veloce e conveniente per le analisi genotipiche condotte su grandi popolazioni. L'analisi preliminare dei dati finora raccolti, ha confermato l'associazione statisticamente rilevante tra l'allele 1.2 e la SM ($p=0.016$). Si sta procedendo con l'analisi di altre varianti singole selezionate su altri 4 geni del genoma virale, senza finora osservare una distribuzione diversa tra SM e controlli.

Il secondo obiettivo è quello di individuare il possibile ruolo funzionale delle varianti di EBNA2 valutando i livelli di espressione sia dei geni virali che di quelli cellulari. E' stato utilizzato il sistema NextSeq 500 (Illumina) per sequenziare gli RNA messaggeri di linee spLCLs ottenute da persone con SM: 5 infettate dal tipo 1.2 (predisponente alla SM), 4 infettate dal tipo 1.3B (protettivo) e 4 dal virus di laboratorio B95-8. Dal confronto tra i vari gruppi è stata individuata una serie di geni che risultano diversamente espressi tra le varie condizioni, dimostrando che le varianti trovate sul gene EBNA2 hanno un ruolo funzionale. Sulla base della funzione e anche della rilevanza statistica, sono stati scelti alcuni geni che i ricercatori stanno validando in una popolazione indipendente di spLCLs ottenute sia da persone con SM che da sani e infettate dai vari alleli di EBNA2. Per quanto riguarda l'analisi delle varianti nel circolo periferico, per il prossimo anno si propone di aumentare la popolazione osservata.

LABORATORIO DI PATOLOGIA MOLECOLARE, CELLULARE E ULTRAISTRUTTURALE

Agenzia Italiana del Farmaco

Studio randomizzato sull'efficacia della terapia immunosoppressiva nei pazienti con cardiomiopatia infiammatoria virus-negativa

La miocardite (acuta/cronica) rappresenta una delle principali cause di arresto cardiaco e/o di scompenso grave. Recentemente studi condotti dal Laboratorio hanno documentato un alto tasso

di risposta alla terapia immunosoppressiva in pazienti con cardiomiopatia infiammatoria in assenza di infezioni virali.

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

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

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

Il Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana, è istituito in seguito alla Deliberazione Regione Lazio n. 301 del 03/10/2013, alla modifica alla DGR n. 146 del 12/06/2013 e al Decreto Ministero della Salute 08 febbraio 2013.

Il Comitato Etico è composto da 20 membri effettivi e da 3 membri a chiamata la cui competenza e qualifica professionale corrisponde a quanto richiesto dalla normativa vigente (D.M. 18/03/98 e successivi) e alle esigenze dell'IRCCS San Raffaele Pisana, in relazione alle competenze scientifico-metodologiche e bioetiche. Il Presidente ed il Vice Presidente vengono eletti dai membri effettivi nel corso della seduta di insediamento.

Comitato Etico IRCCS San Raffaele Pisana

Il Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Pisana, è istituito in seguito alla Deliberazione Regione Lazio n. 301 del 03/10/2013, alla modifica alla DGR n. 146 del 12/06/2013 e al Decreto Ministero della Salute 08 febbraio 2013.

Il Comitato Etico è composto da 17 membri effettivi e da 4 membri a chiamata la cui competenza e qualifica professionale corrisponde a quanto richiesto dalla normativa vigente (D.M. 18/03/98 e successivi) e alle esigenze dell'IRCCS San Raffaele Pisana, in relazione alle competenze scientifico-metodologiche e bioetiche. Il Presidente ed il Vice Presidente vengono eletti dai membri effettivi nel corso della seduta di insediamento.

Comitato Etico IRCCS San Raffaele Pisana

Nominativo	Ruolo
Dott.ssa Amalia Allocca	Direttore Sanitario
Dott. Claudia Condoluci	Pediatra
Dott. Stefania Proietti	Biostatistico
Dott. Nicola Barbato	Rappresentante professioni sanitarie infermieristiche, tecniche e della riabilitazione
Prof. Lucio Capurso	Clinico - Presidente del Comitato Etico
Dott. Vittorio Cardaci	Clinico
Prof. Massimo Fini	Direttore Scientifico
Dott. Massimo Sansone	Farmacista SSR
Prof. Fabrizio Stocchi	Clinico
Dott. Salvatore D'Antonio	Rappresentante del volontariato per l'assistenza e associazionismo di tutela dei pazienti
Mons. Andrea Manto	Esperto in Bioetica
Dott. Carmine Guarino	Esperto in dispositivi medici
Dott. Walter Marrocco	Medico di medicina generale
Dott.ssa Angela Frazzetto	Farmacista
Dott. Marcello Russo	Biostatistico
Dott. Carlo Tomino	Farmacologo
Dott. Vincenzo Barbieri	Esperto in materia giuridica e assicurativa
Componenti a chiamata:	
Ing. Fabrizio Vecchio	Ingegnere clinico
Prof. Vincenzo Mollace	Esperto di Nutrizione
Prof. Matteo A Russo	Esperto procedure diagnostiche/terapeutiche invasive e semi-invasive
Dott. Paola Grammatico	Esperto di genetica

Nel corso del 2020 si sono svolte 10 riunioni plenarie ed 1 riunione straordinaria per la valutazione di un protocollo di Sorveglianza nell'ambito della pandemia da Covid-19. Sono stati valutati complessivamente 3 studi con promotore l'IRCCS San Raffaele Pisana. Argomenti degli studi sono stati: 1) sorveglianza e monitoraggio, 2) valutazione del benessere del personale sanitario e 3) indagine epidemiologica in riferimento all'infezione da Covid-19.

Attività generale 2020	n
Nuovi protocolli	27
- per Covid-19	3
Pareri etici	1
Pareri preventivi	1
Emendamenti sostanziali	42
- per Covid-19	20
Emendamenti non sostanziali	8
- per Covid-19	1
Notifiche	57
- per Covid-19	3
DSUR	8
TOTALE	171

Tipologia dei nuovi studi valutati nel 2020	n
Studi interventistici farmacologici (promotore azienda farmaceutica)	10
- di cui pediatrici	3
Studi interventistici non farmacologici (promotore IRCCS)	
- per Covid-19	3
Studi interventistici non farmacologici (promotore azienda farmaceutica)	1
Studi con Dispositivi medici (promotore IRCCS)	6
Studi con Dispositivi medici (promotore)	1
Studi con integratori (promotore IRCCS)	2
Studi osservazionali (promotore IRCCS/altri no-profit)	5
- di cui pediatrici	1
TOTALE	28

Nuovi studi di cui IRCCS San Raffaele è Coordinatore nel 2020	CEC
Studi interventistici farmacologici (promotore azienda farmaceutica)	7
Studi interventistici non farmacologici (promotore azienda farmaceutica)	1
Studi interventistici (promotore IRCCS)	8
Studi osservazionali (promotore IRCCS/altri no-profit)	5
TOTALE	21

COLLABORAZIONI ISTITUZIONALI



Collaborazioni Nazionali

SapienzaUniversità di Roma
Università di Roma Tor Vergata
Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS (CatholicUniversity of the SacredHeart)
Università di Bologna
Università di Cagliari
Università di Campania Luigi Vanvitelli
Università di Florence
Università di Padova
Università di Palermo
Università di Pisa
Università di Sassari
Università di Udine
Università di Perugia
Università di Genoa
Università di Messina
Università di NaplesParthenope
UniversitàVita-Salute San Raffaele
Università Gabriele d'Annunzio
UniversitàdiTrieste
Università Campus Bio-Medico di Roma
Università di Brescia
Università di Milan
Università di Pavia
Università di Bari
Università di Napoli Federico II
Università Magna Græcia
Polytecnico Università di Milano
Università di Parma
Istituto Superiore di Sanità
IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed - Pozzilli (IS)
IRCCS SDN Istituto di Ricerca Diagnostica e Nucleare - Napoli
OspedaleGuglielmo da Saliceto
IRCCS Istituto di ricerche farmacologiche Mario Negri - Milano, Bergamo, Ranica
Scuola Superiore Sant'Anna
IRCCS Centro San Giovanni di Dio Fatebenefratelli - Brescia
Ospedale San Martino di Genova
Ospedali Civili di Brescia
IRCCS Centro CardiologicoFondazione Monzino - Milano
IRCCS Fondazione Policlinico San Matteo - Pavia
IRCCS Fondazione Santa Lucia - Roma
IRCCS Istituto per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani - Roma
IRCCS Policlinico San Donato
National ResearchCouncil of Italy
Ospedale Maggiore
Ospedale Papa Giovanni XXIII
ASL Roma 2
IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna
IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù - Roma
Azienda Ospedaliera Careggi

Azienda Sanitaria Ulss 6 Vicenza
IRCCS Ospedale Casa Sollievo della Sofferenza - San Giovanni Rotondo (FG)
Ospedale Niguarda
IRCCS Oasi Maria SS. - Troina (EN)

Collaborazioni internazionali

Institut national de la santé et de la recherche médicale
National and Kapodistrian University of Athens
University of Belgrade
German Centre for Cardiovascular Research
Karolinska Institutet
Charité– Universitätsmedizin Berlin
Assistance publique – Hôpitaux de Paris
Imperial College London
Mathematical Institute of the Serbian Academy of Sciences and Arts
University of Geneva
Berlin Institute of Health
University of Ljubljana
CNRS
Hannover Medical School
Hasselt University
Sorbonne Université
University of A Coruña
University of Göttingen
University of Porto
University of Zurich
Université de Paris
August Pi i Sunyer Biomedical Research Institute
Carol Davila University of Medicine and Pharmacy
King's College London
Maastricht University
Medical University of Vienna
St George's University Hospitals NHS Foundation Trust
University of Barcelona
University of Basel
Vrije Universiteit Brussel

L'Università Telematica San Raffaele Roma, istituita con decreto del Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca dell'8 maggio 2006, è un Ateneo non statale, legalmente riconosciuto, che rilascia titoli di studio equipollenti e con il medesimo valore legale di quelli rilasciati dalle Università tradizionali.

L'offerta didattica è erogata in modalità E-Learning, attraverso l'utilizzo di internet e delle nuove tecnologie digitali. Gli studenti possono pertanto accedere alla piattaforma didattica in qualsiasi momento ed in qualunque luogo, abbattendo ogni vincolo spazio-temporale e offrendo in tal modo la fruizione del materiale didattico anche a coloro che, per ragioni fisiche, geografiche o lavorative, ne sarebbero esclusi.

La lezione ex cathedra viene in sostanza sostituita da lezioni registrate e disponibili online 24ore su 24 e integrata con specifico materiale didattico: slides, materiale illustrativo, problemi e discussioni in linea. Per garantire inoltre un alto livello qualitativo, le lezioni online sono integrate da attività seminariale e di laboratorio.

I Corsi di Studio sono legati ai settori in cui il primato del "Made in Italy" è riconosciuto a livello internazionale: design e moda, alimentazione e gastronomia, nutrizione umana, scienze motorie e sport.

Il rapporto vitale con i settori industriali e sportivi di riferimento garantisce agli studenti una relazione proficua con il mondo produttivo e il mercato del lavoro anche attraverso la possibilità di accedere a stage professionalizzanti nelle realtà più qualificate. Esperti e professionisti del mondo dell'industria e dello sport assicurano un percorso di studio che valorizza l'apprendimento teorico e la formazione pratica.

I Corsi di Studio sono articolati in: I livello, al termine del quale si ottiene la Laurea; II livello, al termine del quale si ottiene la Laurea magistrale; III livello per la formazione post-laurea (master per laureati di II livello e dottorati di ricerca), corsi di perfezionamento. La durata dei Corsi di Studio è misurata in crediti formativi universitari (CFU), pari a 60 per ciascun anno di corso. Sono inoltre previste possibilità di approfondimenti trasversali ai quattro cicli di studi attraverso i master universitari (di I o di II livello), che hanno un carattere prevalentemente professionalizzante.

Scienze Motorie

Il Corso di Studio in Scienze Motorie classe L22 ha come obiettivo principale la formazione culturale, scientifica ed applicativa nel settore delle Scienze Motorie e Sportive.

Obiettivo specifico del corso è quello di formare figure professionali qualificate in relazione alla domanda di formazione ed in particolare la figura professionale dell'esperto nelle Scienze delle attività Motorie e Sportive ex legge 22, che abbia competenze concernenti la comprensione, progettazione, organizzazione, conduzione e gestione di attività motorie e sportive nelle strutture pubbliche e private, a livello individuale e di gruppo, finalizzate allo sviluppo, al mantenimento e al recupero delle capacità motorie e del benessere psicofisico ad esse correlato.

Il percorso di studi è principalmente orientato verso le discipline motorie e sportive afferenti ai settori scientifico-disciplinari specifici (M-EDF/01-M-EDF/02) e prevede già a partire dal primo anno un percorso professionalizzante, affiancando insegnamenti a prevalente contenuto teorico ad insegnamenti ad elevato contenuto pratico.

Il Corso di Studio in Scienze Motorie Curriculum Calcio classe L22, è progettato e strutturato al fine di fornire ai propri laureati competenze integrate relative alla comprensione, progettazione, conduzione e gestione di attività motorie, gestionali, tecniche e sociologiche legate alla disciplina sportiva del calcio, a tutti i livelli.

L'obiettivo del percorso di studio, è quello di formare un professionista in ambito calcistico con adeguata preparazione culturale di base e con le competenze metodologiche necessarie per

condurre, gestire e valutare semplici programmi di attività motoria e sportiva a livello individuale e di gruppo nel calcio.

Il Corso di Studio triennale in scienze motorie curriculum calcio intende orientare lo studente ad una conoscenza professionale del settore specifico, attraverso la conoscenza del settore tecnico, biomedico, psicopedagogico, giuridico, economico ed organizzativo – gestionale, rispondendo dunque ad una necessità di fondare i presupposti culturali e metodologici nella formazione professionale di operatori specializzati, dei dirigenti e dei manager che opereranno a tutti i livelli nel mercato sportivo di riferimento.

Il Corso di Studio in Scienze e tecniche delle attività motorie preventive e adattate LM67 è caratterizzato da un'offerta formativa multidisciplinare e concepita specificamente per rispondere alle esigenze emergenti dall'ambito professionale di riferimento. Lo scopo generale del corso è di fare acquisire e perfezionare conoscenze interdisciplinari e scientifiche nel campo della prevenzione e dell'educazione motoria adattata e di preparare professionisti esperti nella prescrizione e somministrazione di un programma di allenamento personalizzato in funzione delle esigenze fisico-organiche di coloro che intendono svolgere attività motorie in modo sistematico.

L'obiettivo di base del Corso è quello di fare acquisire ai laureati magistrali conoscenze scientifiche avanzate nel campo delle attività motorie dell'uomo, con particolare riguardo alle aree preventiva e adattativa.

Agraria

Il Corso di Studio in Scienze dell'Alimentazione e Gastronomia classe L26, ha come obiettivo primario la formazione culturale, scientifica ed applicativa nel settore agroalimentare e gastronomico.

Il corso si propone di formare una nuova figura professionale in grado di gestire tutti gli aspetti che riguardano la produzione ed il consumo del cibo, da quelli igienico-sanitari a quelli giornalistici e culturali; una figura poliedrica che sappia coniugare le conoscenze tecniche e scientifiche con quelle umanistiche, economiche e giuridiche; un professionista in grado di affrontare con competenza e creatività le sfide del settore alimentare del XXI secolo.

Il Corso di Studio in Scienze della Nutrizione Umana classe LM61 offre una formazione specifica mirata a diventare un professionista nel campo della nutrizione. L'approccio fortemente multidisciplinare che caratterizza il Corso, vuole integrare diversi ambiti conoscitivi, da quello biomedico a quello della nutrizione, per passare alla caratterizzazione degli alimenti e della gestione agroalimentare, al fine di rispondere in maniera esauriente alle crescenti necessità di figure professionali nel settore.

Il percorso in Nutraceutica della Laurea Magistrale LM61 ha come obiettivo quello di fornire una preparazione volta all'acquisizione di conoscenze capacità e competenze nell'ambito dell'alimentazione e nutrizione in una prospettiva funzionale alla nutraceutica.

Particolare attenzione viene quindi posta al tema degli integratori alimentari, alimenti funzionali e medicali e ai nutraceutici. Il laureato magistrale della LM61 – Nutraceutica avrà quindi conoscenze specifiche inerenti il valore nutrizionale degli alimenti, nonché le funzioni terapeutiche e le proprietà dei medesimi; anche l'impatto dei processi di trasformazioni sulle proprietà degli alimenti verrà studiato, oltre agli aspetti fisio-biologici e microbiologici che legano nutrienti e organismo.

Architettura e Design Industriale

Il Corso di Studio in Design classe L4 consiste nel fornire le competenze necessarie ad un profilo professionale che richiede padronanza dei fondamenti teorici e pratici ed ampi livelli di autonomia e responsabilità nei settori “*design oriented*”, caratterizzati da crescente complessità tecnologica ed organizzativa e una sempre crescente competitività. Design italiano come valore,

innovazione e strategia aziendale. Il percorso formativo predilige un approccio multidisciplinare che combina pragmatismo e immaginazione, managerialità e progettualità. Il percorso didattico è in grado di fornire sia concrete esperienze di progetto e conoscenza sia “*case history*” specifiche.

Scienze dell'Amministrazione e dell'Organizzazione

Il Corso di Studio in Scienze dell'Amministrazione e dell'Organizzazione L16 privilegia l'integrazione di una pluralità di discipline finalizzata all'acquisizione di competenze specialistiche e differenziate necessarie per lo studio delle regole di condotta sia della pubblica amministrazione sia delle imprese pubbliche e private, con particolare riferimento alle realtà sanitarie regionali e locali.

Le attività formative sono predisposte affinché i laureati possano conseguire profili impiegabili per la direzione ed il coordinamento dei dipendenti delle pubbliche amministrazioni, per l'implementazione di specifiche politiche pubbliche per lo sviluppo e la valorizzazione del territorio, per l'assistenza nella progettazione e nell'implementazione di iniziative finalizzate allo sviluppo economico e sociale.

L'offerta formativa post-lauream dell'Università Telematica San Raffaele Roma si articola nei percorsi di Alta Formazione dei Dottorati di ricerca, dei Master Universitari di primo e di secondo livello e nei corsi di perfezionamento. I Corsi, nella loro specificità, sono orientati all'acquisizione delle competenze necessarie per l'esercizio delle attività di ricerca presso le Università e/o Enti Pubblici o Privati, per lo svolgimento di funzioni in particolari settori professionali, per rispondere alle diverse esigenze provenienti dal mondo del lavoro e delle professioni.

L'attività scientifica e di ricerca dell'Ateneo comprende i seguenti prodotti della ricerca:

- Pubblicazioni scientifiche nazionali ed internazionali che abbiano rilevanza accademica e diffusione nella comunità scientifica, carattere di scientificità.
- Tutte le pubblicazioni non accademiche con ISBN/ISSN, che si rivolgono ad un pubblico più eterogeneo rispetto a quello accademico.
- Convegni scientifici, organizzati da una comunità scientifica di riferimento o da enti/istituzioni/associazione di professionisti, nonché network universitari e associazioni accademiche che abbiano ad oggetto tematiche scientifiche e la cui discussione avvenga tramite presentazioni di paper (su invito o submission), nonché esposizione di poster, paper o relazioni su invito.
- Partecipazioni a convegni in qualità di relatore e/o di redattore del contributo a convegni nazionali o internazionali organizzati all'interno del proprio ambito scientifico di riferimento, nonché da associazioni di categoria o ordini professionali. Lo scopo di tali convegni è l'aggiornamento continuo e la partecipazione del ricercatore per permettere, attraverso una condivisione del proprio know how, il miglioramento delle conoscenze globali in relazione a determinati ambiti di riferimento.
- e) Convegni/Seminari/Corsi, quale l'attività a cui il ricercatore partecipa in qualità di partecipante, ai fini di un aggiornamento professionale/scientifico per il miglioramento della propria attività di ricerca/didattica attinente all'Ateneo.
- Partecipazione a varie attività nel campo della ricerca, quali ad esempio partecipazione a: editorial board di riviste nazionali/internazionali; scientific board nell'ambito di book series promosse da editori internazionali e per prodotti editoriali; attività di coordinamento nell'ambito di special issues di riviste o book series; attività di referaggio per riviste accademiche e/o per convegni scientifici.

CORSI ECM

Nel 2020, a seguito della emergenza sanitaria Covid-19, le attività di formazione dei corsi ECM sono state sospese e l'Istituto si è concentrato prevalentemente sullo sviluppo di corsi obbligatori nell'ambito della sicurezza del lavoro, maggiormente in modalità di formazione a distanza e indirizzate alla prevenzione e mitigazione del rischio in ambito sanitario.

ATTIVITA' ASSISTENZIALE

L'IRCCS San Raffaele Pisana è una struttura sanitaria specializzata per la riabilitazione. In data 01/02/2005 ha ottenuto il riconoscimento di Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico per la disciplina della riabilitazione motoria e sensoriale. La missione dell'Istituto riguarda l'area della riabilitazione motoria e sensoriale in differenti aree della medicina (Cardiologia, Pneumologia, Neurologia, Ortopedia, Pediatria/disabilità dello sviluppo).

L'attività assistenziale dell'IRCCS San Raffaele Pisana si espleta su 298 posti letto, con le seguenti Unità Operative:

- Riabilitazione Neuromotoria
- Riabilitazione Pediatrica e delle disabilità dello sviluppo
- Riabilitazione Cardiologica
- Riabilitazione Respiratoria

Inoltre, sono presenti due moduli di Medicina Interna, anche a supporto delle Unità operative di riabilitazione nei vari ambiti.

All'interno dell'IRCCS sono attivi i seguenti Laboratori e Servizi:

- Laboratorio di Neurofisiopatologia
- Laboratorio per lo Studio delle Posture e del Movimento (Gait Analysis)
- Laboratorio per lo Studio della Funzionalità Cardiaca
- Laboratorio per lo Studio della Funzionalità Respiratoria
- Laboratorio di Patologia Clinica e Biotecnologie Avanzate
- Laboratorio di Robotica Riabilitativa
- Servizio di Diagnostica per Immagini
- Otorinolaringoiatria
- Terapia Occupazionale
- Endoscopia digestiva
- Rieducazione funzionale

Nei reparti di riabilitazione neuromotoria la grande maggioranza dei pazienti viene ricoverato entro dieci giorni dall'evento acuto (69,51%) e la quasi totalità (96,05%) entro quattro settimane (778/810); da rilevare inoltre che circa il 2,97% (24/808) proviene tra i 31-60 giorni dall'evento acuto poiché procrastinato per motivi clinici.

Il 54,32% (440/810) sono di sesso femminile.

I reparti di riabilitazione neuromotoria ed il Day Hospital utilizzano ed implementano le linee guida italiane per l'assistenza riabilitativa della persona con stroke, con Parkinson, con esiti di protesi di anca e di ginocchio.

Dei pazienti ricoverati per la riabilitazione neuromotoria 657 (81,11%) hanno un'età da 60 anni in poi, di cui 485 (59,88%) un'età maggiore o uguale di 70 anni.

Si riportano a seguire gli outcome al momento del ricovero e alla dimissione.

	Età media	Barthel ingresso media	Barthel dimissione media	% MDC 1 (gg.)
Riab NM1	68.68	31.0	69.8	81,83%
Riab NM2	70.36	37.3	83.0	33,11%
Riab NM3	72.82	34.4	72.1	72,54%
TOT.	70.69	34.4	75.4	62,62%

Nei reparti di cardiologia riabilitativa e riabilitazione respiratoria gli outcome vengono misurati anche con il test del cammino (6 minute walking test) e la Classe BORG. Mentre nella riabilitazione respiratoria si rileva quasi una equa distribuzione (50,84% M e 49,16% F), nella cardiologia riabilitativa il 66,74% è rappresentato da maschi.

Dei pazienti ricoverati per la riabilitazione cardiologica 412 (87,29%) hanno un'età da 60 anni in poi, di cui 298 (63,14%) un'età maggiore o uguale di 70 anni. Dei pazienti ricoverati per la riabilitazione respiratoria 271 (90,64%) hanno un'età da 60 anni in poi, di cui 214 (71,57%) un'età maggiore o uguale di 70 anni.

Nei reparti di riabilitazione cardiologica (ordinaria) la grande maggioranza dei pazienti viene ricoverato entro dieci giorni dall'evento acuto (74,15%) e la quasi totalità (98,73%) entro quattro settimane (466/472); nella riabilitazione respiratoria i pazienti provenienti entro 10 giorni dall'evento acuto sono il 54,18% (162/299), mentre entro 30 giorni sono l'88,29% (264/299) e circa l'8,36% (25/299) proviene tra i 31-60 giorni dall'evento acuto poiché procrastinato per motivi clinici.

Si riportano a seguire gli outcome al momento del ricovero e alla dimissione.

	Età media	Barthel ingresso media	Barthel dimissione media	SMWT ingresso media	SMWT dimissione media
Cardiologia riabilitativa	71.70	76.1	96.8	53.4	267.4
Riabilitazione respiratoria	73.93	53.5	79.5	71.0	182.5

Attività Ambulatoriale

Nell'anno 2020 sono state erogate presso l'IRCCS San Raffaele Pisana 37.776 prestazioni di carattere ambulatoriale (SSR, comprese quelle di Laboratorio analisi pari a 3.866).

Centro Pediatrico per le Disabilità dello Sviluppo

Il Modulo di Riabilitazione Pediatrica e delle Disabilità dello Sviluppo dell'IRCCS San Raffaele ha adottato dal 1997 un modello organizzativo multidisciplinare secondo una prospettiva lifespan:

L'attività assistenziale è ottimizzata attraverso un modello multidisciplinare centrato sulla famiglia, sul bambino prima e sulla persona poi, secondo una prospettiva lifespan, multidimensionale, per promuovere la qualità di vita.

Gli aspetti multidimensionali presi in considerazione in accordo con le linee guida nazionali e internazionali sono rappresentati dalla dimensione:

- biomedica
- motoria
- comunicativo-linguistica
- cognitiva
- per la promozione della salute mentale
- per la promozione dei comportamenti adattativi
- per la valorizzazione dei contesti socio-ambientali

Le disabilità dello sviluppo seguite sono:

- disturbi della coordinazione motoria,
- paralisi cerebrali infantili,
- disabilità intellettiva,

- disturbi del linguaggio e dell'apprendimento,
- disabilità dello sviluppo da deficit sensoriali, visivi, uditivi,
- disturbi dello spettro autistico,
- patologie neuromuscolari, muscoloscheletriche conseguenti a encefalopatie o mielopatie acquisite,
- disabilità multipla complessa.

Per poter rispondere adeguatamente alle esigenze ed agli effettivi fabbisogni dei bambini e della loro famiglia (e successivamente della persona e del suo ambiente), bisogna avere a disposizione conoscenze, know-how specifico medico, scientifico, tecnologico, informatico, tecnico e figure professionali che non necessariamente si trovino nello stesso Istituto. Per poter garantire l'assistenza ed i percorsi diagnostico-terapeutico-riabilitativi sono presenti professionisti delle aree medica e riabilitativa che seguono sia i bambini assistiti in regime di ricovero che in trattamento ambulatoriale.

L'attività si articola attraverso un Reparto di Degenza ordinaria dove in particolare vengono trattati quei bambini o adolescenti in fase post operatoria o dopo interventi di chirurgia ortopedica funzionale o con esiti di interventi di neurochirurgia Infantile. Possono accedere anche bambini che necessitano di periodi di riabilitazione intensiva con un modello multidisciplinare che include il supporto diagnostico ed il monitoraggio clinico e strumentale di alto livello, come neuroimmagini, neurofisiologia elettroencefalografia, potenziali evocati visivi, uditivi e somatosensoriali, laboratorio di Gait Analysis.

L'equipe medica dedicata è composta da una responsabile pediatra/cardiologa-pediatra a tempo pieno, e da una fisiatra ed una neurologa part-time, mentre l'equipe riabilitativa si compone di una coordinatrice e 4 terapeuti della riabilitazione-neuropsicomotricisti dell'età evolutiva, una logopedista part-time ed una psicologa.

Per garantire nel tempo ai pazienti seguiti l'approccio multidisciplinare nella prospettiva lifespan, al Reparto è annessa un'attività ambulatoriale medica specialistica dedicata al follow up che offre visite in convenzione con il SSN per la cardiologia pediatrica (compresi ECG ed ecocardiogramma), la fisioterapia e la neurologia e visite endocrinologiche pediatriche private. A questa si affianca la possibilità per i pazienti di accedere agli altri servizi di diagnostica ed ambulatoriali presenti nell'Istituto.

Per gli aspetti dello sviluppo sono inoltre attivi ambulatori sia per le valutazioni psicologiche dell'area psicoemotiva, cognitiva, comportamentale con un ambulatorio specifico di Neuropsicologia dedicato alla diagnosi e alla certificazione dei DSA, valutazioni logopediche, motorie e psicomotorie, sono attivi anche ambulatori per le terapie riabilitative logopedica, motoria-psicomotoria e di psicoterapia dedicati ai bambini – giovani – adulti con disabilità dello sviluppo.

L'eccellenza assistenziale impone ulteriori sviluppi e miglioramento dei servizi. Per poter garantire questo processo di costante sviluppo e miglioramento, la squadra e le competenze vengono fortificate ed integrate con personaggi di spicco provenienti da altre strutture.

Attività ambulatoriale

Si riporta a seguire il dettaglio delle attività assistenziali del Centro di Riabilitazione in ambito ambulatoriale: nel 2020 vi è stato un totale di 3.535 prestazioni ambulatoriali, mentre nel 2019 hanno avuto accesso pazienti che hanno usufruito di almeno una delle varie attività svolte, per un totale complessivo di 10.193.

Specifica	2019	2020		2019	2020
visite fisiatriche:	530	177	Area psicologica	1989	785
visite neurologiche	661	247	Area logopedica	1798	587
EEG	513		Area neuropsicologica	3393	1337
visite cardiologiche pediatriche	345	231	Area neuropsicomotoria	517	171
ECG	243		Area FKT	58	
Ecocardiogrammi	122		Gait analysis	24	

INDIRIZZI UTILI

Direttore Scientifico	Massimo Fini Via di Val Cannuta, 247 Tel. +39 0652253406 Fax +39 06 52255668 Email: massimo.fini@sanraffaele.it
Direttore Sanitario	Amalia Allocca Via della Pisana, 235 Tel. +39 06 52252337 Email: direzione.sanitaria@sanraffaele.it
Direttore Operativo	Alessio Cicirelli Via della Pisana, 235 Tel. +39 06 52252380 Email: alessio.cicirelli@sanraffaele.it
Presidente Comitato Tecnico Scientifico	Enrico Garaci Via di Val Cannuta, 247 Tel. +39 0652252132 Fax +39 06 52252079 Email: enrico.garaci@sanraffaele.it
Segreteria Scientifica Ufficio Ricerca	Astrid van Rijn Via di Val Cannuta, 247 Tel. +39 06 52253405 Fax +39 06 52255668 Email: astrid.vanrijn@sanraffaele.it
Segreteria Direttore Scientifico	Margot Bastianutti Via di Val Cannuta, 247 Tel. +39 06 52253406 Fax +39 06 52255668 Email: segreteriascientifica@sanraffaele.it
Servizi Amministrativi Ricerca	Guido Poli/Elena Biagini Via di Val Cannuta, 247 Tel. +39 06 52252471 Email: guido.poli@sanraffaele.it elena.biagini@sanraffaele.it
Segreteria Comitato Etico	Lucia Gatta Via di Val Cannuta, 247 Tel. +39 06 66130406 Fax 06/66130407 Email: lucia.gatta@sanraffaele.it
Biblioteca	Lamonaca Palma Via di Val Cannuta, 247 Tel/Fax +39 06 52252466 Email: bibliotecapisana@sanraffaele.it
Grant/Editorial Office	Daniela Pernice Via di Val Cannuta, 247 Tel. +39 06 52253404 Fax +39 06 52255668 Email: daniela.pernice@sanraffaele.it