

INDICE

1. Attività Scientifica

Comitato Scientifico

Pubblicazioni

Linee di Ricerca

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

3.2.2. Linea 2. Clinica della disabilità

3.2.3. Linea 3. Innovazione in medicina e riabilitazione

Ricerca Finalizzata

Altra tipologia di ricerca

Comitato Etico

Convenzioni e Collaborazioni istituzionali nazionali ed internazionali

Università telematica

2. Attività di formazione

Corsi ECM

3. Attività assistenziale

4. Indirizzi utili

ATTIVITA' SCIENTIFICA

COMITATO TECNICO SCIENTIFICO

Il Comitato Tecnico-Scientifico è presieduto dal Professore 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 tutte le condizioni necessarie per il raggiungimento e il mantenimento dell'eccellenza sia scientifica che assistenziale.

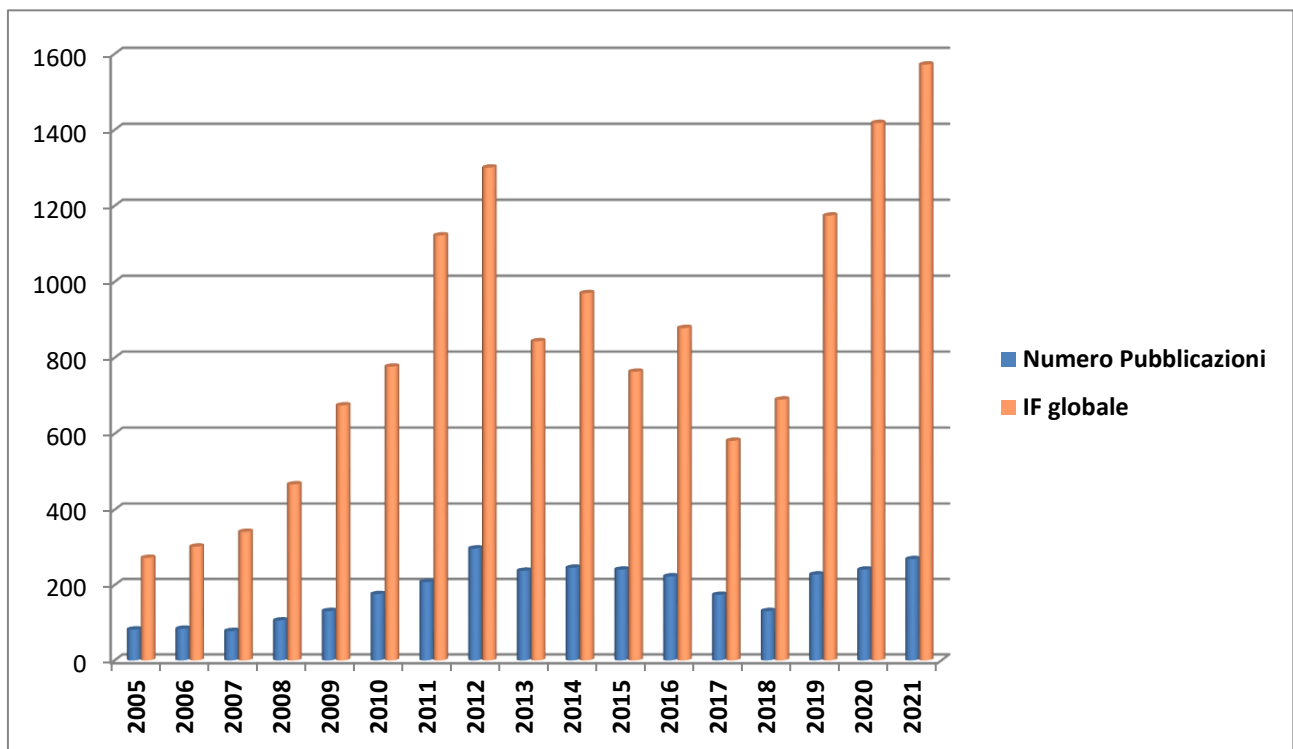
Prof. Enrico Garaci	
Amalia Allocca	Anna Teresa Palamara
Lucio Annunziato	Guido Rasi
Giorgio Bernardi	Giovanni Rezza
Paolo Calabresi	Paolo Maria Rossini
Marcello Celestini	Matteo Antonio Russo
Diego Centonze	Valter Santilli
Massimo Fini	Orazio Schillaci
Marco Franceschini	Fabrizio Stocchi
Fiorella Guadagni	Vilberto Stocchi
Giovanni Muto	Ennio Tasciotti
Giuseppe Novelli	Maurizio Volterrani

PRODUZIONE SCIENTIFICA

Nel 2021 l'attività scientifica dell'IRCCS San Raffaele è documentata da 269 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 2021 è pari a 1572.

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 2005-2021

Ferroni P, Guadagni F, Roselli M.

Risk prediction and new prophylaxis strategies for thromboembolism in cancer.

Cancers (Basel). 2021 Mar 29;13(7):1556.

Banegas-Luna AJ, Peña-García J, Iftene A, Guadagni F, Ferroni P, Scarpato N, Zanzotto FM, Bueno-Crespo A, Pérez-Sánchez H.

Towards the interpretability of Machine Learning predictions for medical applications targeting personalised therapies: a cancer case survey.

Int J Mol Sci. 2021 Apr 22;22(9):4394.

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. 2021;28(16):3158-3172.

Guadagni F, Pedone E, Badalamenti G, Russo A, Bazan V.

Impact of deleterious variants in other genes beyond BRCA1/2 detected in breast/ovarian and pancreatic cancer patients by NGS-based multi-gene panel testing: looking over the hedge.

ESMO Open. 2021 Aug 6;6(4):100235. Epub ahead of print.

Gutzkow KB, Hernández A, Hernández C, Holven KB, Ibero-Baraibar I, Ottestad I, Kadioglu E, Kažimirová A, Kuznetsova E, Ladeira C, Laffon B, Lamonaca P, Lebailly P, Louro H, Mandina Cardoso T, Marcon F, Marcos R, Moretti M, Moretti S, Najafzadeh M, Nemeth Z, Neri M, Novotna B, Orlov I, Paduchova Z, Pastor S, Perdry H, Spremo-Potparević B, Ramadhani D, Riso P, Rohr P, Rojas E, Rossner P, Safar A, Sardas S, Silva MJ, Sirota N, Smolkova B, Staruchova M, Stetina R, Stopper H, Surikova EI, Ulven SM, Ursini CL, Valdiglesias V, Valverde M, Vodicka P, Volkovova K, Wagner KH, Živković L, Dušinská M, Collins AR, Bonassi S.

The hCOMET project: International database comparison of results with the comet assay in human biomonitoring. Baseline frequency of DNA damage and effect of main confounders.

Mutat Res. 2021 Jan-Jun;787:108371. Epub 2021 Feb 6.

Fenech M., Knasmueller S, Knudsen LE, Kirsch-Volders M, Deo P, Franzke B, Bonassi S.

"Micronuclei and disease" special issue: Aims, scope, and synthesis of outcomes.

Bianchetti G, Ciccarone F, Ciriolo MR, De Spirito M, Pani G, Maulucci G.

Label-free metabolic clustering through unsupervised pixel classification of multiparametric fluorescent images.

Anal Chim Acta. 2021 Mar 1;1148:238173. Epub 2020 Dec 31.

MET, Jansen E, Grune T, Gonos ES, Schön C, Bernhardt J, Grubeck-Loebenstien B, Sikora E, Toussaint O, Debacq-Chainiaux F, Capri M, Hervonen A, Hurme M, Slagboom PE, Breusing N, Aversano V, Tagliatesta S, Franceschi C, Blasco MA, Bürkle A, Caiafa P, Zampieri M.

Ageing affects subtelomeric DNA methylation in blood cells from a large European population enrolled in the MARK-AGE study.

Geroscience. 2021 Apr 19. Epub ahead of print.

Castelli S, Ciccarone F, Tavian D, Ciriolo MR.

ROS-dependent HIF1 α activation under forced lipid catabolism entails glycolysis and mitophagy as mediators of higher proliferation rate in cervical cancer cells.

J Exp Clin Cancer Res. 2021 Mar 11;40(1):94.

Desideri E, Ciriolo MR.

Inhibition of JNK increases the sensitivity of hepatocellular carcinoma cells to lysosomotropic drugs via LAMP2A destabilization.

Cell Death Discov. 2021 Feb 8;7(1):29

Desideri E, Ciccarone F, Ciriolo MR, Fratantonio D.

Extracellular vesicles in endothelial cells: from mediators of cell-to-cell communication to cargo delivery tools.

Free Radic Biol Med. 2021 Aug 20;172:508-520.

Giansanti M, De Gabrieli A, Prete SP, Ottone T, Divona MD, Karimi T, Ciccarone F, Voso MT, Graziani G, Faraoni I.

Poly(ADP-Ribose) polymerase inhibitors for arsenic trioxide-resistant acute promyelocytic leukemia: synergistic in vitro antitumor effects with hypomethylating agents or high-dose vitamin C.

J Pharmacol Exp Ther. 2021 Jun;377(3):385-397.

Castelli S, De Falco P, Ciccarone F, Desideri E, Ciriolo MR.

Lipid catabolism and ROS in cancer: a bidirectional liaison.

Cancers (Basel). 2021 Oct 31;13(21):5484.

Malafoglia V, Ilari S, Vitiello L, Tenti M, Balzani E, Muscoli C, Raffaeli W, Bonci A.

The interplay between chronic pain, opioids, and the immune system.

Neuroscientist. 2021 Jul 16:10738584211030493.

Sciaccaluga M, Megaro A, Bellomo G, Ruffolo G, Romoli M, Palma E, Costa C.

An unbalanced synaptic transmission: cause or consequence of the amyloid oligomers neurotoxicity?

Int J Mol Sci. 2021 Jun 1;22(11):5991.

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

The muscle to bone axis (and viceversa): an encrypted language affecting tissues and organs and yet to be codified?

Pharmacol Res. 2021 Jan 13:105427.

Maiuolo J, Muscoli C, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Paone S, Ilari S, Mollace R, Palma E, Mollace V.

Endothelial dysfunction and extra-articular neurological manifestations in rheumatoid arthritis.

Biomolecules. 2021 Jan 10;11(1):81.

M, Oppedisano F, Bosco F, Ruga S, Zito MC, Macrì R, Palma E, **Muscoli C, Mollace V.**

The contribution of gut microbiota-brain axis in the development of brain disorders.

Front Neurosci. 2021 Mar 23;15:616883.

Maiuolo J, Bava I, Carresi C, Gliozzi M, Musolino V, Scarano F, Nucera S, Scicchitano M, Bosco F, Ruga S, Caterina Zito M, Oppedisano F, Macri R, Tavernese A, Mollace R, Mollace V.

The effects of bergamot polyphenolic fraction, cynara cardunculus, and olea europea l. extract on doxorubicin-induced cardiotoxicity.

Nutrients. 2021 Jun 23;13(7):2158.

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

From metabolic syndrome to neurological diseases: role of autophagy.

Front Cell Dev Biol. 2021 Mar 19;9:651021.

Maiuolo J, Carresi C, Gliozzi M, Musolino V, Scarano F, Coppoletta AR, Guarnieri L, Nucera S, Scicchitano M, Bosco F, Ruga S, Zito MC, Macri R, Cardamone A, Serra M, Mollace R, Tavernese A, Mollace V.

Effects of bergamot polyphenols on mitochondrial dysfunction and sarcoplasmic reticulum stress in diabetic cardiomyopathy.

Nutrients. 2021 Jul 20;13(7):2476.

Ilari S, Lauro F, Giancotti LA, Malafoglia V, Dagostino C, Gliozzi M, Condemi A, Maiuolo J, Oppedisano F, Palma E, Tomino C, Salvemini D, Mollace V, Muscoli C.

The protective effect of Bergamot Polyphenolic Fraction (BPF) on chemotherapy-induced neuropathic pain.

Pharmaceuticals (Basel). 2021 Sep 25;14(10):975.

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

Cholesterol homeostasis: researching a dialogue between the brain and peripheral tissues.

Pharmacol Res. 2021 Jan;163:105215.

Scicchitano M, Carresi C, Nucera S, Ruga S, Maiuolo J, Macri R, Scarano F, Bosco F, Mollace R, Cardamone A, Coppoletta AR, Guarnieri L, Zito MC, Bava I, Cariati L, Greco M, Foti DP, Palma E, Gliozzi M, Musolino V, Mollace V.

Icariin protects H9c2 rat cardiomyoblasts from doxorubicin-induced cardiotoxicity: role of Caveolin-1 upregulation and enhanced autophagic response.

Nutrients. 2021 Nov 14;13(11):4070.

Marzolla V, Feraco A, Limana F, Kolkhof P, Armani A, Caprio M.

Class-specific responses of brown adipose tissue to steroidal and nonsteroidal mineralocorticoid receptor antagonists.

J Endocrinol Invest. Epub 2021 Jul 16.

Belli R, Bonato A, De Angelis L, Mirabilii S, Ricciardi MR, Tafuri A, Molfino A, Gorini S, Leigheb M, Costelli P, Caruso M, Muscaritoli M, Ferraro E.

Corrigendum: metabolic reprogramming promotes myogenesis during aging.

Front Physiol. 2021 May 12;12:674698.

Erratum for: Metabolic Reprogramming Promotes Myogenesis During Aging.

Belli R, Bonato A, De Angelis L, Mirabilii S, Ricciardi MR, Tafuri A, Molino A, Gorini S, Leigheb M, Costelli P, Caruso M, Muscaritoli M, Ferraro E.
Front Physiol. 2019 Jul 10;10:897. eCollection 2019.

Greco EA, Feraco A, Marzolla V, Mirabelli M, Cimino L, Armani A, Brunetti A, Caprio M.
Nonsteroidal mineralcorticoid receptor antagonists: novel therapeutic implication in the management of patients with type 2 diabetes.
Curr Opin Pharmacol. 2021 Oct;60:216-225.

Feraco A, Gorini S, Armani A, Camajani E, Rizzo M, Caprio M.
Exploring the role of skeletal muscle in insulin resistance: lessons from cultured cells to animal models.
Int J Mol Sci. 2021 Aug 28;22(17):9327.

Li D, March ME, Fortugno P, Cox LL, Matsuoka LS, Monetta R, Seiler C, Pyle LC, Bedoukian EC, Sánchez-Soler MJ, Caluseriu O, Grand K, Tam A, Aycinena ARP, Camerota L, Guo Y, Sleiman P, Callewaert B, Kumps C, Dheedene A, Buckley M, Kirk EP, Turner A, Kamien B, Patel C, Wilson M, Roscioli T, Christodoulou J, Cox TC, Zackai EH, Brancati F, Hakonarson H, Bhoj EJ.
Pathogenic variants in CDH11 impair cell adhesion and cause Teebi hypertelorism syndrome.
Hum Genet. 2021 Jul;140(7):1061-1076.

Guida V, Calzari L, Fadda MT, Piceci-Sparascio F, Digilio MC, Bernardini L, Brancati F, Mattina T, Melis D, Forzano F, Briuglia S, Mazza T, Bianca S, Valente EM, Salehi LB, Prontera P, Pagnoni M, Tenconi R, Dallapiccola B, Iannetti G, Corsaro L, De Luca A, Gentilini D.
Genome-wide DNA methylation analysis of a cohort of 41 patients affected by Oculo-Auriculo-Vertebral Spectrum (OAVS).
Int J Mol Sci. 2021 Jan 26;22(3):1190.

De Luca C, Picone S, Cassina M, Marziali S, Morlino S, Camerota L, Tamburrini G, Castori M, Paolillo P, Salviati L, Brancati F.
Craniosynostosis is a feature of CHD7-related CHARGE syndrome.
Am J Med Genet A. 2021 Apr 12. Epub ahead of print.

Sferra A, Fortugno P, Motta M, Aiello C, Petrini S, Ciolfi A, Cipressa F, Moroni I, Leuzzi V, Pieroni L, Marini F, Boespflug Tanguy O, Eymard-Pierre E, Danti FR, Compagnucci C, Zambruno G, Brusco A, Santorelli FM, Chiapparini L, Francalanci P, Loizzo AL, Tartaglia M, Cestra G, Bertini E.
Biallelic mutations in RNF220 cause laminopathies featuring leukodystrophy, ataxia and deafness.
Brain. 2021 May 8:awab185. Epub ahead of print.

Accogli A, Wiegand G, Scala M, Cerminara C, Iacomino M, Riva A, Carlini B, Camerota L, Belcastro V, Prontera P, Fernández-Jaén A, Bebek N, Scudieri P, Baldassari S, Salpietro VD, Novelli G, De Luca C, von Stülpnagel C, Kluger F, Kluger GJ, Wohlrab GC, Ramantani G, Lewis-Smith D, Thomas RH, Lai M, Verrotti A, Striano S, Depienne C, Minetti C, Benfenati F, Brancati F, Zara F, Striano P.
Clinical and genetic features in patients with reflex bathing epilepsy.
Neurology. 2021 Aug 10;97(6):e577-e586. Epub 2021 Jun 2.

Alborghetti M, Bellucci G, Gentile A, Calderoni C, Nicoletti F, Capra R, Salvetti M, Centonze D. **Drugs used in the treatment of multiple sclerosis during COVID-19 pandemic: a critical viewpoint.**

Curr Neuropharmacol. 2021 Mar 29. Online ahead of print.

Mandolesi G, Rizzo FR, Balletta S, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Guadalupi L, Nencini M, Moscatelli A, Ryan CP, Licursi V, Dolcetti E, Musella A, Gentile A, Fresegna D, Bullitta S, Caioli S, Vanni V, Sanna K, Bruno A, Buttari F, Castelli C, Presutti C, De Santa F, Finardi A, Furlan R, Centonze D, De Vito F.

The microRNA let-7b-5p is negatively associated with Inflammation and disease severity in multiple sclerosis.

Cells. 2021 Feb 5;10(2):330.

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.

Corrigendum: Inflammation- Associated Synaptic Alterations as Shared Threads in Depression and Multiple Sclerosis.

Front Cell Neurosci. 2021 Jan 26;14:647259. Erratum for: Front Cell Neurosci. 2020 Jun 23;14:169.

Angeloni B, Bigi R, Bellucci G, Mechelli R, Ballerini C, Romano C, Morena E, Pellicciari G, Reniè R, Rinaldi V, Buscarinu MC, Romano S, Ristori G, Salvetti M.

A case of double standard: sex differences in Multiple Sclerosis risk factors.

Int J Mol Sci. 2021 Apr 2;22(7):3696.

Ferraldeschi M, Romano S, Giglio S, Romano C, Morena E, Mechelli R, Annibali V, Ubaldi M, Buscarinu MC, Umeton R, Sani G, Vecchione A, Salvetti M, Ristori G.

Circulating hsa-miR-323b-3p in Huntington's Disease: a pilot study.

Front Neurol. 2021 May 5;12:657973.

Mechelli R, Romano S, Romano C, Morena E, Buscarinu MC, Bigi R, Bellucci G, Reniè R, Pellicciari G, Salvetti M, Ristori G.

MAIT Cells and Microbiota in multiple sclerosis and other autoimmune diseases.

Microorganisms. 2021 May 24;9(6):1132.

Leuti A, Talamonti E, Gentile A, Tiberi M, Matteocci A, Fresegna D, Centonze D, Chiurchiù V.

Macrophage plasticity and polarization are altered in the experimental model of multiple sclerosis. Biomolecules. 2021 Jun 4;11(6):837.

Rizzo FR, Guadalupi L, Sanna K, Vanni V, Fresegna D, De Vito F, Musella A, Caioli S, Balletta S, Bullitta S, Bruno A, Dolcetti E, Stampanoni Bassi M, Buttari F, Gilio L, Mandolesi G, Centonze D, Gentile A. **Exercise protects from hippocampal inflammation and neurodegeneration in experimental autoimmune encephalomyelitis.**

Brain Behav Immun. 2021 Aug 12;98:13-27. Epub ahead of print.

Leschik J, Lutz B, **Gentile A.**

Stress-related dysfunction of adult hippocampal neurogenesis - an attempt for understanding resilience?

Int J Mol Sci. 2021 Jul 8;22(14):7339.

Stampanoni Bassi M, Gilio L, Iezzi E, Moscatelli A, Pekmezovic T, Drulovic J, Furlan R, Finardi A, Mandolesi G, Musella A, Galifi G, Fantozzi R, Bellantonio P, Storto M, Centonze D, Buttari F. **Age at Disease onset associates with oxidative stress, neuroinflammation, and impaired synaptic plasticity in relapsing-remitting multiple sclerosis.**

Front Aging Neurosci. 2021 Sep 10;13:694651.

Bellucci G, Rinaldi V, Buscarinu MC, Reniè R, Bigi R, Pellicciari G, Morena E, Romano C, Marrone A, Mechelli R, Salvetti M, Ristori G.

Multiple Sclerosis and SARS-CoV-2: has the interplay started?

Front Immunol. 2021 Sep 27;12:755333. eCollection 2021

De Vito F, Musella A, Fresegna D, Rizzo FR, Gentile A, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Buttari F, Procaccini C, Colamatteo A, Bullitta S, Guadalupi L, Caioli S, Vanni V, Balletta S, Sanna K, Bruno A, Dolcetti E, Furlan R, Finardi A, Licursi V, Drulovic J, Pekmezovic T, Fusco C, Bruzzaniti S, Hornstein E, Uccelli A, Salvetti M, Matarese G, Centonze D, Mandolesi G.

MiR-142-3p regulates synaptopathy-driven disease progression in multiple sclerosis.

Neuropathol Appl Neurobiol. 2021 Sep 7. Epub ahead of print.

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. 2021 Jan;287:114008.

Li Puma DD, Marocci 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. 2021 Jan;69(1):201-215.

Ricordi C, Pacifici F, Lanzoni G, Palamara AT, Garaci E, Della-Morte D.

Dietary and protective factors to halt or mitigate progression of Autoimmunity, COVID-19 and its associated metabolic diseases.

Int J Mol Sci. 2021 Mar 19;22(6):3134.

Sarshar M, Behzadi P, Scribano D, Palamara AT, Ambrosi C.

***Acinetobacter baumannii*: an ancient commensal with weapons of a pathogen.**

Pathogens. 2021 Mar 24;10(4):387.

Fraternale A, Zara C, De Angelis M, Nencioni L, Palamara AT, Retini M, Di Mambro T, Magnani M, Crinelli R.

Intracellular redox-modulated pathways as targets for effective approaches in the treatment of viral infection.

Int J Mol Sci. 2021 Mar 30;22(7):3603.

Matteucci C, Minutolo A, Balestrieri E, Petrone V, Fanelli M, Malagnino V, Ianetta M, Giovinazzo A, Barreca F, Di Cesare S, De Marco P, Miele MT, Toschi N, Mastino A, Sinibaldi Vallebona P, Bernardini S, Rogliani P, Sarmati L, Andreoni M, Grelli S, Garaci E.

Thymosin alpha 1 mitigates cytokine storm in blood cells from Coronavirus disease 2019 patients.

Open Forum Infect Dis. 2020 Dec 5;8(1):ofaa588.

Prezioso C, Carletti R, Obregon F, Piacentini F, Manicone AM, Soda G, Moens U, Di Gioia C, Pietropaolo V.

Evaluation of Merkel cell polyomavirus DNA in tissue samples from Italian patients with diagnosis of MCC.

Viruses. 2021 Jan 5;13(1):61.

Prezioso C, Van Ghelue M, Moens U, Pietropaolo V.

HPyV6 and HPyV7 in urine from immunocompromised patients.

Virology. 2021 Jan 22;18(1):24.

Balestrieri E, Minutolo A, Petrone V, Fanelli M, Iannetta M, Malagnino V, Zordan M, Vitale P, Charvet B, Horvat B, Bernardini S, Garaci E, di Francesco P, Sinibaldi Vallebbona P, Sarmati L, Grelli S, Andreoni M, Perron H, Matteucci C.

Evidence of the pathogenic HERV-W envelope expression in T lymphocytes in association with the respiratory outcome of COVID-19 patients.

EBioMedicine. 2021 Apr;66:103341. Epub 2021 Apr 15.

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. 2021 Jan 1;209:112921.

Prezioso C, Moens U, Oliveto G, Brazzini G, Piacentini F, Frasca F, Viscido A, Scordio M, Guerrizio G, Rodio DM, Pierangeli A, d'Ettore G, Turriziani O, Antonelli G, Scagnolari C, Pietropaolo V. KI and WU

Polyomavirus in respiratory samples of SARS-CoV-2 infected patients.

Microorganisms. 2021 Jun 9;9(6):1259

Prezioso C, Van Ghelue M, Pietropaolo V, Moens U.

Detection of Quebec polyomavirus DNA in samples from different patient groups.

Microorganisms. 2021 May 18;9(5):1082.

Prezioso C, Pietropaolo V.

BK virus and transplantation.

Viruses. 2021 Apr 22;13(5):733.

Iebba V, Zanotta N, Campisciano G, Zerbato V, Di Bella S, Cason C, Luzzati R, Confalonieri M, Palamara AT, Comar M

Profiling of oral microbiota and cytokines in COVID-19 patients.

Front Microbiol. 2021 Jul 30;12:671813.

Prezioso C, Grimaldi A, Landi D, Nicoletti CG, Brazzini G, Piacentini F, Passerini S, Limongi D, Ciotti M, Palamara AT, Marfia GA, Pietropaolo V.

Risk assessment of progressive multifocal leukoencephalopathy in multiple sclerosis patients during 1 year of ocrelizumab treatment.

Viruses. 2021 Aug 25;13(9):1684.

Lupacchini L, Maggi F, Tomino C, De Dominicis C, Mollinari C, Fini M, Bonassi

S, Merlo D, Russo P.

Nicotine changes airway epithelial phenotype and may increase the SARS-COV-2 infection severity.

Molecules. 2020 Dec 28;26(1):101.

Cardinale A, Saladini S, Lupacchini L, Ruspantini I, De Dominicis C, Papale M, Silvagno F, Garaci E, Mollinari C, Merlo D.

DNA repair protein DNA-PK protects PC12 cells from oxidative stress-induced apoptosis involving AKT phosphorylation.

Mol Biol Rep. 2021 Nov 19.

Picconi B, Galati S.

Progress of clinical neuroscience in movement disorders: technical and methodological developments.

J Neurosci Methods. 2021 Feb 1;349:109034.

Campanelli F, Laricchiuta D, Natale G, Marino G, Calabrese V, Picconi B, Petrosini L, Calabresi P, Ghiglieri V.

Long-term shaping of corticostriatal synaptic activity by acute fasting.

Int J Mol Sci. 2021 Feb 15;22(4):1916.

Cardinale A, Calabrese V, de Iure A, Picconi B.

Alpha-synuclein as a prominent actor in the inflammatory synaptopathy of Parkinson's Disease.

Int J Mol Sci. 2021 Jun 17;22(12):6517.

Tozzi A, Sciacaluga M, Loffredo V, Megaro A, Ledonne A, Cardinale A, Federici M, Bellingacci L, Paciotti S, Ferrari E, La Rocca A, Martini A, Mercuri NB, Gardoni F, Picconi B, Ghiglieri V, De Leonibus E, Calabresi P.

Dopamine-dependent early synaptic and motor dysfunctions induced by α -synuclein in the nigrostriatal circuit.

Brain. 2021 Dec 16;144(11):3477-3491.

Campanelli F, Marino G, Barsotti N, Natale G, Calabrese V, Cardinale A, Ghiglieri V, Maddaloni G, Usiello A, Calabresi P, Pasqualetti M, Picconi B.

Serotonin drives striatal synaptic plasticity in a sex-related manner.

Neurobiol Dis. 2021 Oct;158:105448. Epub 2021 Jul 16.

Natale G, Pignataro A, Marino G, Campanelli F, Calabrese V, Cardinale A, Pelucchi S, Marcello E, Gardoni F, Viscomi MT, Picconi B, Ammassari-Teule M, Calabresi P, Ghiglieri V.

Transcranial magnetic stimulation exerts "Rejuvenation" effects on corticostriatal synapses after partial dopamine depletion.

Mov Disord. 2021 Oct;36(10):2254-2263.

Crittenden JR, Zhai S, Sauvage M, Kitsukawa T, Burguière E, Thomsen M, Zhang H, Costa C, Martella G, Ghiglieri V, Picconi B, Pescatore KA, Unterwald EM, Jackson WS, Housman DE, Caine SB, Sulzer D, Calabresi P, Smith AC, Surmeier DJ, Graybiel AM.

Cal DAG-GEFI mediates striatal cholinergic modulation of dendritic excitability, synaptic plasticity and psychomotor behaviors.

Neurobiol Dis. 2021 Aug 8;158:105473. Epub 2021 Aug 8.

Natale G, Calabrese V, Marino G, Campanelli F, Urciuolo F, de Iure A, Ghiglieri V, Calabresi P, Bossola M, Picconi B.

Effects of uremic toxins on hippocampal synaptic transmission: implication for neurodegeneration in chronic kidney disease.

Cell Death Discov. 2021 Oct 16;7(1):295.

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.

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. 2021;21(7):1183-1195.

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. 2021;21(2):374-384.

Frustaci A, De Luca A, Galea N, Verardo R, Guida V, Carrozzo R, Chimenti C, Frustaci E, Sansone L, Russo MA.

Novel dilated cardiomyopathy associated to Calreticulin and Myo7A gene mutation in Usher syndrome.

ESC Heart Fail. 2021 Jun;8(3):2310-2315.

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 2021;21(7):1196-1218.

Pontemezzo E, Foglio E, Vernucci E, Magenta A, D'Agostino M, Sileno S, Astanina E, Bussolino F, Pellegrini L, Germani A, Russo MA, Limana F.

miR-200c-3p regulates epithelial-to-mesenchymal transition in epicardial mesothelial cells by targeting epicardial follistatin-related protein 1.

Int J Mol Sci. 2021 May 7;22(9):4971.

Russo M et al.

Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition).

Autophagy 2021 Jan;17(1):1-382.

Frustaci A, Francone M, Verardo R, Scialla R, Bagnato G, Alfarano M, Chimenti C, Frustaci E, Sansone L, Russo M.

Pemphigus-associated cardiomyopathy: report of autoimmune myocarditis and review of literature.

ESC Heart Fail 2021 Oct;8(5):3690-3695.

Liverani C, De Vita A, Spadazzi C, Miserochi G, Cocchi C, Bongiovanni A, De Lucia A, La Manna F, Fabbri F, Tebaldi M, Amadori D, **Tasciotti E**, Martinelli G, Frustaci A, Letizia C, Chimenti C, Verardo R, Alfarano M, Scialla R, Russo MA.
Myocardial aldosterone receptor and aquaporin 1 up-regulation is associated with cardiomyocyte remodeling in human heart failure.
Journal of Clinical Medicine. 2021 Oct 22;10(21):4854.

Zinger A, Sushnitha M, Naoi T, Baudo G, De Rosa E, Chang J, Tasciotti E, Taraballi F.
Enhancing inflammation targeting using tunable leukocyte-based biomimetic nanoparticles.
ACS Nano. 2021 Mar 16. Epub ahead of print.

De Vita A, Liverani C, Molinaro R, Martinez JO, Hartman KA, Spadazzi C, Miserochi G, Taraballi F, Evangelopoulos M, Pieri F, Bongiovanni A, Mercatali L, Tasciotti E, Ibrahim T.
Lysyl oxidase engineered lipid nanovesicles for the treatment of triple negative breast cancer.
Sci Rep. 2021 Mar 3;11(1):5107.

Fernandez-Moure JS, Van Eps JL, Scherba JC, Yazdi IK, Robbins A, Cabrera F, Vatsaas C, Moreno M, Weiner BK, Tasciotti E.
Platelet-rich plasma enhances mechanical strength of strattice in rat model of ventral hernia repair.
J Tissue Eng Regen Med. 2021 Jul;15(7):634-647.

Liu L, Bai X, Martikainen MV, Kårlund A, Roponen M, Xu W, Hu G, Tasciotti E, Lehto VP.
Cell membrane coating integrity affects the internalization mechanism of biomimetic nanoparticles.
Nat Commun. 2021 Sep 30;12(1):5726.

Mercatali L, Ibrahim T.
Lineage-specific mechanisms and drivers of breast cancer chemoresistance revealed by 3D biomimetic culture.
Mol Oncol. 2021 Jun 10. Online ahead of print.

Chiappini C, Chen Y, Aslanoglou S, Mariano A, Mollo V, Mu H, De Rosa E, He G, **Tasciotti E**, Xie X, Santoro F, Zhao W, Voelcker NH, Elnathan R.
Tutorial: using nanoneedles for intracellular delivery.
Nat Protoc. 2021 Oct;16(10):4539-4563.

D'Argenio V, Dittfeld L, Lazzeri P, Tomaiuolo R, Tasciotti E. Unraveling the
Balance between genes, microbes, lifestyle and the environment to improve healthy reproduction.
Genes (Basel). 2021 Apr 20;12(4):605.

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. 2021 Jun;67(2):183-189.

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.

Mollace V, Rosano GMC, Anker SD, Coats AJS, Seferovic P, Mollace R, Tavernese A, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Maiuolo J, Macrì R, Bosco F, Chiocchi M, Romeo F, Metra M, Volterrani M.
Pathophysiological basis for nutraceutical supplementation in heart failure: a comprehensive review.

Nutrients. 2021 Jan 17;13(1):E257.

Craenenbroeck EM, Simonenko M, Witte KK, Wozniak A, **Volterrani M**, Jaarsma T.
Measuring physical activity with activity monitors in patients with heartfailure: 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. 2021 Jan;23(1):83-91.

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

Advanced cancer is also a heart failure syndrome: a hypothesis.

Eur J HeartFail. 2021 Jan;23(1):140-144.

Gentile S, Guarino G, Strollo F.

How to treat improper insulin injection- related lipohypertrophy: a 3-year follow-up of a monster case and an update on treatment.

Diabetes Res Clin Pract. 2021 Jan

Anker MS, von Haehling S, **Coats AJS**, 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. 2021 Jan;23(1):145-153.

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

Advanced cancer is also a heart failure syndrome: a hypothesis.

J CachexiaSarcopenia Muscle. 2021 Jun;12(3):533-537.

Seferović PM, Vardas P, Jankowska EA, Maggioni AP, Timmis A, Milinković I, Polovina M, Gale CP, Lund LH, Lopatin Y, Lainscak M, Savarese G, Huculeci R, Kazakiewicz D, Coats AJS; National Heart Failure Societies of the ESC membercountries (see Appendix).

The Heart Failure Association Atlas: Heart Failure Epidemiology and Management Statistics 2019.

Eur J Heart Fail. 2021 Jun;23(6):906-914.

Muscogiuri G, Barrea L, Caprio M, Ceriani F, Chavez AO, El Ghoch M, Frias- Toral E, Mehta RJ, Mendez V, Paschou SA, Pazderska A, Savastano S, Colao A.

Nutritional guidelines for the management of insulin resistance.

Crit Rev FoodSci Nutr. 2021 Apr 2:1-14.

Gentile S, Guarino G, Della Corte T, Marino G, Satta E, Pasquarella M, Romano C, Alfrone C, Strollo F; AMD-OSDI Study Group on Injection Technique, Nefrocenter Research and Nyx Start-Up.

Role of structured education in reducing lypodistrophy and its metabolic complications in insulin-treated people with type 2 Diabetes: a randomized multicenter case-control study.

Diabetes Ther. 2021 May;12(5):1379-1398.

Cittadini A, Salzano A, Iacoviello M, Triggiani V, Rengo G, Cacciatore F, Maiello C, Limongelli G, Masarone D, Perticone F, Cimellaro A, Perrone Filardi P, Paolillo S, Mancini A, **Volterrani M**, Vriz O, Castello R, Passantino A, Campo M, Modesti PA, De Giorgi A, Monte IP, Puzzo A, Ballotta A, D'Assante R, Arcopinto M, Gargiulo P, Sciacqua A, Bruzzese D, Colao A, Napoli R, Suzuki T, Eagle KA, Ventura HO, Marra AM, Bossone E.

Multiple hormonal and metabolic deficiency syndrome predicts outcome in heart failure: the T.O.S.C.A. Registry.

Eur J Prev Cardiol. 2021 Dec 29;28(15):1691-1700.

Moriconi E, Camajani E, Fabbri A, Lenzi A, Caprio M.

Very-low-calorie ketogenic diet as a safe and valuable tool for long-term glycemic management in patients with obesity and type 2 diabetes.

Nutrients. 2021 Feb 26;13(3):758.

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. 2021 Mar 15;7(2):83-85.

Alhakak AS, Teerlink JR, Lindenfeld J, Böhm M, Rosano GMC, Biering-Sørensen T.

The significance of left ventricular ejection time in heart failure with reduced ejection fraction.

Eur J Heart Fail. 2021 Apr;23(4):541-551.

Gentile S, Guarino G, Della Corte T, Marino G, Satta E, Romano C, Alfrone C, Lmberti C, Strollo F; AMD-OSDI Study Group.

Bruising: a neglected, though patient-relevant complication of insulin injections coming to light from a real-life nationwide survey.

Diabetes Ther. 2021 Apr;12(4):1143-1157.

Sliwa K, van der Meer P, Petrie MC, Frogoudaki A, Johnson MR, Hilfiker-Kleiner D, Hamdan R, Jackson AM, Ibrahim B, Mbakwem A, Tschöpe C, Regitz-Zagrosek V, Omerovic E, Roos-Hesselink J, Gatzoulis M, Tutarel O, Price S, Heymans S, Coats AJS, Müller C, Chioncel O, Thum T, de Boer RA, Jankowska E, Ponikowski P, Lyon AR, Rosano G, Seferovic PM, Bauersachs J. **Risk stratification and management of women with cardiomyopathy/heart failure planning pregnancy or presenting during/after pregnancy: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology Study Group on peripartum cardiomyopathy.**

Eur J Heart Fail. 2021 Feb 20. Epub ahead of print.

Mullens W, Auricchio A, Martens P, Witte K, Cowie MR, Delgado V, Dickstein K, Linde C, Vernooij K, Leyva F, Bauersachs J, Israel CW, Lund L, Donal E, Boriani G, Jaarsma T, Berruezo A, Traykov V, Yousef Z, Kalarus Z, Cosedis Nielsen J, 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.

Europace. 2021 Aug 6;23(8):1324-1342.

Maas AHEM, Rosano G, Cifkova R, Chieffo A, van Dijken D, Hamoda H, Kunadian V, Laan E, Lambrinouadaki I, Maclaran K, Panay N, Stevenson JC, van Trotsenburg M, Collins P.

Cardiovascular health after menopause transition, pregnancy disorders, and other gynaecologic conditions: a consensus document from European cardiologists, gynaecologists, and endocrinologists.

Eur Heart J. 2021 Mar 7;42(10):967-984.

Lainscak M, Omersa D, Rosano G, Farkas J, Böhm M.

Pharmacotherapy adherence in patients with heart failure: easier said than done.

Int J Cardiol. 2021 Mar 27:S0167-5273(21)00555-6. Epub ahead of print.

Rosano G, Iacoviello M, Filardi PP.

La "serendipity" degli inibitori del co- trasportatore sodio-glucosio di tipo 2: un nuovo paradigma nello scompenso cardiaco con frazione di eiezione ridotta [Serendipity of sodium-glucose co- transporter 2 inhibitors: a new paradigm in the management of heart failure with reduced ejection fraction].

G Ital Cardiol (Rome). 2021 Apr;22(4):277-283.

De Luca L, Rosano GMC, Spoletini I.

Post-percutaneous coronary intervention angina: From physiopathological mechanisms to individualized treatment.

Cardiol J. 2021 Apr 12. Epub ahead of print.

Volterrani M, Perrone V, Degli Esposti L.

Reply letter regarding the article 'Effects of hyperkalaemia and non-adherence to renin-angiotensin-aldosterone system inhibitor therapy in patients with heart failure in Italy: a propensity- matched study'.

Eur J Heart Fail. 2021 Feb 8. Epub ahead of print.

Vitale C, D'Abate F, Froio A.

Needs of standardisation in reporting a venous lower limb ultrasound exam for the assessment of varicose veins.

Phlebology. 2021 Sep;36(8):665-667.

Pelliccia F, Limongelli G, Rosano GMC, Vitale C, Bossone E, Calabrò P, Gaudio C.

Nuclear factor-kappa B predicts long-term clinical outcome in patients with hypertrophic cardiomyopathy: 10-year follow-up study.

Eur J Prev Cardiol. 2021 Mar 24:zwab047. Epub ahead of print.

Pelliccia F, Rosano GMC, Mehran R.

Corrigendum to "Gender-related differences after acute myocardial infarction: A major global health challenge" [International Journal of Cardiology Volume 311 (2020), 18-19 / DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2020.04.023>].

Int J Cardiol. 2021 Mar 20:S0167-5273(21)00481-2.

Becher PM, Schrage B, Ferrannini G, Benson L, Butler J, Carrero JJ, Cosentino F, Dahlström U, Mellbin L, Rosano GMC, Sinagra G, Stolfo D, Lund LH, Savarese G.

Use of sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors in patients with heart failure and type 2 diabetes mellitus: data from the Swedish Heart Failure Registry.

Eur J Heart Fail. 2021 Jun;23(6):1012-1022.

Becher PM, Schrage B, Ferrannini G, Benson L, Butler J, Carrero JJ, Cosentino F, Dahlström U, Mellbin L, Rosano GMC, Sinagra G, Stolfo D, Lund LH, Savarese G.

Use of sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors in patients with heart failure and type 2 diabetes mellitus: data from the Swedish Heart Failure Registry.

Eur J Heart Fail. 2021 Jun;23(6):1012-1022.

Richards T, Breymann C, Brookes MJ, Lindgren S, Macdougall IC, McMahon LP, Munro MG, Nemeth E, Rosano GMC, Schiefke I, Weiss G.

Questions and answers on iron deficiency treatment selection and the use of intravenous iron in routine clinical practice.

Ann Med. 2021 Dec;53(1):274-285.

Verrelli CM., Tomei P, Caminiti G, Iellamo F, Volterrani M.

Nonlinear heart rate control in treadmill/cycle-ergometer exercises under the instability constraint.

Automatica, Volume 127, May 2021, Article number 109492

Ambrosio G, Leiro MGC, Lund LH, Coiro S, Cardona A, Filippatos G, Ferrari R, Piepoli MF, Coats AJS, Anker SD, Laroche C, Almenar-Bonet L, Poder P, Valero DB, Frisinghelli A, Maggioni AP.

Serum uric acid and outcomes in patients with chronic heart failure through the whole spectrum of ejection fraction phenotypes: analysis of the ESC-EORP. Heart Failure Long-Term (HF LT) Registry.

Eur J Intern Med. 2021 Jul; 89:65-75.

Iellamo F, Caminiti G, Montano M, Manzi V, Franchini A, Mancuso A, Volterrani M.

Prolonged post-exercise hypotension: effects of different exercise modalities and training statuses in elderly patients with hypertension.

Int J Environ Res Public Health. 2021 Mar 20;18(6):3229.

Lombardo M, Franchi A, Biolcati Rinaldi R, Rizzo G, D'Adamo M, Guglielmi V, Bellia A, Padua E, Caprio M, Sbraccia P.

Long-Term iron and vitamin B12 deficiency are present after bariatric surgery, despite the widespread use of supplements.

Int J Environ Res Public Health. 2021 Apr 25;18(9):4541.

Lombardo M, Aulisa G, Marcon D, Rizzo G, Tarsisano MG, Di Renzo L, Federici M, Caprio M, De Lorenzo A.

Association of urinary and plasma levels of Trimethylamine N-Oxide (TMAO) with foods.

Nutrients. 2021 Apr 23;13(5):1426.

Caminiti G, Iellamo F, Mancuso A, Cerrito A, Montano M, Manzi V, Volterrani M.

Effects of 12 weeks of aerobic versus combined aerobic plus resistance exercise training on short-term blood pressure variability in patients with hypertension.

J Appl Physiol (1985). 2021 Apr 1;130(4):1085-1092.

Rosano GMC, Moura B, Metra M, Böhm M, Bauersachs J, Ben Gal T, Adamopoulos S, Abdelhamid M, Bistola V, Čelutkienė J, Chioncel O, Farmakis D, Ferrari R, Filippatos G, Hill L, Jankowska EA, Jaarsma T, Jhund P, Lainscak M, Lopatin Y, Lund LH, Milicic D, Mullens W, Pinto F, Ponikowski P, Savarese G, Thum T, Volterrani M, Anker SD, Seferovic PM, Coats AJS. **Patient profiling in heart failure for tailoring medical therapy. A consensus document of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.**

Eur J Heart Fail. 2021 Jun;23(6):872-881.

Rosano GMC, Vitale C, Maltese G.

Interdisciplinary assessment and diagnostic algorithm: the role of the cardiologist.

Diabetes Res Clin Pract. 2021 May 4;176:108851. Epub ahead of print. PMID: 33957142.

Anker SD, Starling RC, Khan MS, Friede T, Filippatos G, Lindenfeld J, Stephan von Bardeleben R, Coats AJS, Butler J.

Percutaneous mitral valve annuloplasty in patients with secondary mitral regurgitation and severe left ventricular enlargement.

JACC Heart Fail. 2021 Jun;9(6):453-462.

Uchmanowicz I, Vitale C, Hill L, Jaarsma T.

Can we prevent 'frailtyism'?

Eur J Cardiovasc Nurs. 2021 May 31:zvab031. Epub ahead of print.

Molinari F, Feraco A, Mirabilii S, Saladini S, Sansone L, Vernucci E, Tomaselli G, Marzolla V, Rotili D, Russo MA, Ricciardi MR, Tafuri A, Mai A, Caprio M, Tafani M, Armani A.

SIRT5 inhibition induces brown fat-like phenotype in 3T3-L1 preadipocytes.

Cells. 2021 May 7;10(5):1126.

Seferović PM, Tsutsui H, McNamara DM, Ristić AD, Basso C, Bozkurt B, CooperLT Jr, Filippatos G, Ide T, Inomata T, Klingel K, Linhart A, Lyon AR, Mehra MR, Polovina M, Milinković I, Nakamura K, Anker SD, Veljić I, Ohtani T, Okumura T, Thum T, Tschöpe C, **Rosano G**, Coats AJS, Starling RC.

Heart Failure Association of the ESC, Heart Failure Society of America and Japanese Heart Failure Society Position statement on endomyocardial biopsy.

Eur J Heart Fail. 2021 May 19.

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 LH, 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. Europace.

2021 May 25:euaa411. Epub ahead of print.

Ameri P, Bertero E, Maack C, Teerlink JR, Rosano G, Metra M.

Medical treatment of heart failure with reduced ejection fraction: the dawn of a new era of personalized treatment?

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2021 Nov 3;7(6):539-546.

Albrecht A, Porthun J, Eucker J, Coats AJS, von Haehling S, Pezzutto A, Karakas M, Riess H, Keller U, Landmesser U, Haverkamp W, Anker SD, Anker MS.

Spontaneous non-sustained ventricular tachycardia and premature ventricular contractions and their prognostic relevance in patients with cancer in routine care.

Cancers (Basel). 2021 May 12;13(10):2303.

Savarese G, Bodegard J, Norhammar A, Sartipy P, Thuresson M, Cowie MR, Fonarow GC, Vaduganathan M, Coats AJS.

Heart failure drug titration, discontinuation, mortality and heart failure hospitalization risk: a multinational observational study (US, UK and Sweden).

Eur J Heart Fail. 2021 Jun 15. Epub ahead of print

Perrone MA, Volterrani M, Manzi V, Barchiesi F, Iellamo F.

Heart rate variability modifications in response to different types of exercise training in athletes.

J Sports Med Phys Fitness. 2021 Oct;61(10):1411-1415.

Annino G, Manzi V, Buselli P, Ruscello B, Franceschetti F, Romagnoli C, Cotelli F, Casasco M, Padua E, Iellamo F.

Acute effects of whole-body vibrations on the fatigue induced by multiple repeated sprint ability test in soccer players.

J Sports Med Phys Fitness. 2021 Jun 22. Online ahead of print.

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

Subgroup analyses in randomized clinical trials: value and limitations review #3 on important aspects of randomized clinical trials in cardiovascular pharmacotherapy.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2021 Jun 28;pvab048. Online ahead of print.

Herrington WG, Savarese G, Haynes R, Marx N, Mellbin L, Lund LH, Dendale P, Seferovic P, Rosano G, Staplin N, Baigent C, Cosentino F.

Cardiac, renal, and metabolic effects of sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors: a position paper from the European Society of Cardiology ad-hoc task force on sodium- glucose co-transporter-2 inhibitors.

Eur J Heart Fail. 2021 Aug;23(8):1260-1275.

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. 2021 Feb;23(2):321-323.

Coats AJS.

Exergaming for heart failure: an idea so good it just ought to work.

Eur J Heart Fail. 2021 Jan;23(1):125-126.

Anker SD, Atherton J, Böhm M, Butler J, Drazner MH, Michael Felker G, Filippatos G, Fiuzat M, Fonarow GC, Gomez-Mesa JE, Heidenreich P, Imamura T, Jankowska EA, Januzzi J, Khazanie P, Kinugawa K, Lam CSP, Matsue Y, Metra M, Ohtani T, Francesco Piepoli M, Ponikowski P, Rosano GMC, Sakata Y, Seferović P, Starling RC, Teerlink JR, Vardeny O, Yamamoto K, Yancy C, Zhang J, Zieroth S.

Universal definition and classification of heart failure: a report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition of Heart Failure: Endorsed by the Canadian Heart Failure Society, Heart Failure Association of India, Cardiac Society of Australia and New Zealand, and Chinese Heart Failure Association.

Eur J Heart Fail. 2021 Mar;23(3):352-380.

Stollo F, Vernikos J.

Ageing-like metabolic and adrenal changes in microgravity: state of the art in preparation for Mars. Neurosci Biobehav Rev. 2021 Jul;126:236-242.

Ferrari R, Pavasini R, Censi S, Squeri A, Rosano G.

The New ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes: the good and the not so good.

Curr Probl Cardiol. 2021 Mar;46(3):100554.

Nuzzi V, Merlo M, Specchia C, 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, Oriecuia C, Peveri G, Pozzi A, Provenziale G, Sarullo F, Tomasoni D, Ameri P, Gnechi M, Leonardi S, Agostoni P, Carugo S, Danzi GB, Guazzi M, La Rovere MT, Mortara A, Piepoli M, Porto I, Volterrani M, Senni M, Metra M, Sinagra G.

The prognostic value of serial troponin measurements in patients admitted for COVID-19.

ESC Heart Fail. 2021 Oct;8(5):3504-3511.

Bayes-Genis A, Januzzi JL, Richards AM, Arfsten H, de Boer RA, Emdin M, González A, Jaarsma T, Jhund PS, Mueller C, Núñez J, Rossignol P, Milinkovic I, Rosano GMC, Coats A, Seferovic P. **The 'Peptide for Life' Initiative: a call for action to provide equal access to the use of natriuretic peptides in the diagnosis of acute heart failure across Europe.**

Eur J Heart Fail. 2021 Sep;23(9):1432-1436.

Elliott P, Cowie MR, Franke J, Ziegler A, Antoniadis C, Bax J, Bucciarelli-Ducci C, Flachskampf FA, Hamm C, Jensen MT, Katus H, Maisel A, McDonagh T, Mittmann C, Muntendam P, Nagel E, Rosano G, Twerenbold R, Zannad F.

Development, validation, and implementation of biomarker testing in cardiovascular medicine state-of-the-art: proceedings of the European Society of Cardiology- Cardiovascular Round Table.

Cardiovasc Res. 2021 Apr 23;117(5):1248-1256.

Rosano GMC, Vitale C, Savarese G.

Sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors in heart failure.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. Volume 7, Issue 3, May 2021, Pages e9–e10

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

Implications of atrial fibrillation on the clinical course and outcomes of hospitalized COVID-19 patients: results of the Cardio-COVID-Italy multicentre study.

Eurpace. 2021 Oct 9;23(10):1603-1611.

Lombardo M, Bellia C, Aulisa G, Pratesi A, Perrone MA, Padua E, 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 gastroenterology, 67(2), 183-189.

McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, Burri H, Butler J, Čelutkienė J, Chioncel O, Cleland JGF, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Farmakis D, Gilard M, Heymans S, Hoes AW, Jaarsma T, Jankowska EA, Lainscak M, Lam CSP, Lyon AR, McMurray JJV, Mebazaa A, Mindham R, Muneretto C, Francesco Piepoli M, Price S, **Rosano GMC**, Ruschitzka F, Kathrine Skibelund A; ESC Scientific Document Group.

2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure.

Eur Heart J. 2021 Sep 21;42(36):3599-3726.

Manolis Aj, Boden We, Collins P, Dechend R, Kallistratos Ms, Lopez Sendon J, Poulimenos L E, Ambrosio G, Rosano G.

State of the art approach to managing angina and ischemia: tailoring treatment to the evidence.

Eur J Intern Med. 2021 Oct;92:40-47.

Seferovic P, Ruschitzka F, Metra M, Anker S, Filippatos G, Altenberger J, Adamopoulos S, Barak Y, Chioncel O, de Jonge N, Elliston J, Frigerio M, Goncalvesova E, Gotsman I, Grupper A, Hamdan R, Hammer Y, Hasin T, Hill L, Itzhaki Ben Zadok O, Abuhazira M, Lavee J, Mullens W, Nalbantgil S, Piepoli MF, Ponikowski P, Potena L, Ristic A, Ruhparwar A, Shaul A, Tops LF, Tsui S, Winnik S, Jaarsma T, Gustafsson F.

Guidance on the management of left ventricular assist device (LVAD) supported patients for the non-LVAD specialist healthcare provider: executive summary.

Eur J Heart Fail. 2021 Oct;23(10):1597-1609.

Marzullo P, Bettini S, Menafrà D, Aprano S, Muscogiuri G, Barrea L, Savastano S, Colao A, Obesity Programs of nutrition, Education, Research and Assessment (OPERA) group.

Spot-light on microbiota in obesity and cancer.

Int J Obes (Lond). 2021 Aug 6. Epub ahead of print.

Rosano GMC, Jankowska EA, Anker SD, Lund LH, Savarese G.

Phenotyping heart failure patients for iron deficiency and use of intravenous iron therapy: data from the Swedish Heart Failure Registry.

Eur J Heart Fail. 2021 Sep 3. doi: 10.1002/ejhf.2338. Epub ahead of print.

Ben Avraham B, Crespo-Leiro MG, Filippatos G, Gotsman I, Seferovic P, Hasin T, Potena L, Milicic D, Coats AJS, Rosano G, Ruschitzka F, Metra M, Anker S, Altenberger J, Adamopoulos S, Barac YD,

Chioncel O, De Jonge N, Elliston J, Frigeiro M, Goncalvesova E, Grupper A, Hamdan R, Hammer Y, Hill L, Itzhaki Ben Zadok O, Abuhazira M, Lavee J, Mullens W, Nalbantgil S, Piepoli MF, Ponikowski P, Ristic A, Ruhparwar A, Shaul A, Tops LF, Tsui S, Winnik S, Jaarsma T, Gustafsson F, Ben Gal T.

HFA of the ESC Position paper on the management of LVAD supported patients for the non LVAD specialist healthcare provider Part 1: Introduction and at the non-hospital settings in the community.

ESC Heart Fail. 2021 Dec;8(6):4394-4408.

Milicic D, Ben Avraham B, Chioncel O, Barac YD, Goncalvesova E, Grupper A, Altenberger J, Frigeiro M, Ristic A, De Jonge N, Tsui S, Lavee J, Rosano G, Crespo-Leiro MG, Coats AJS, Seferovic P, Ruschitzka F, Metra M, Anker S, Filippatos G, Adamopoulos S, Abuhazira M, Elliston J, Gotsman I, Hamdan R,

Hammer Y, Hasin T, Hill L, Itzhaki Ben Zadok O, Mullens W, Nalbantgil S, Piepoli MF, Ponikowski P, Potena L, Ruhparwar A, Shaul A, Tops LF, Winnik S, Jaarsma T, Gustafsson F, Ben Gal T.

Heart Failure Association of the European Society of Cardiology position paper on the management of left ventricular assist device- supported patients for the non-left ventricular assist device specialist healthcare provider: Part 2: at the emergency department.

ESC Heart Fail. 2021 Dec;8(6):4409-4424.

Sokolski M, Trenson S, Sokolska JM, D'Amario D, Meyer P, Poku NK, Biering-Sørensen T, Højbjerg Lassen MC, Skaarup KG, Barge-Caballero E, Pouleur AC, Stolfo D, Sinagra G, Ablasser K, Muster V, Rainer PP, Wallner M, Chiodini A, Heiniger PS, Mikulicic F, Schwaiger J, Winnik S, Cakmak HA, Gaudenzi M, Mapelli M, Mattavelli I, Paul M, Cabac-Pogorevici I, Bouleti C, Lilliu M, Minoia C, Dauw J, Costa J, Celik A, Mewton N, Montenegro CEL, Matsue Y, Loncar G, Marchel M, Bechlioulis A, Michalis L, Dörr M, Prihadi E, Schoenrath F, Messroghli DR, Mullens W, Lund LH, Rosano GMC, Ponikowski P, Ruschitzka F, Flammer AJ.

Heart failure in COVID-19: the multicentre, multinational PCHF-COVICAV registry.

ESC Heart Fail. 2021 Dec;8(6):4955-4967.

Savarese G, Lund LH, Rosano GMC, Coats AJ.

New trial evidence and guidelines on heart failure-news from the European Society of Cardiology Congress 2021.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2021 Nov 3;7(6):e89-e90.

Oppedisano F, Mollace R, Tavernese A, Gliozzi M, Musolino V, Macrì R, Carresi C, Maiuolo J, Serra M, Cardamone A, Volterrani M, Mollace V.

PUFA supplementation and heart failure: effects on fibrosis and cardiac remodeling.

Nutrients. 2021 Aug 26;13(9):2965.

Gustafsson F, Ben Avraham B, Chioncel O, Hasin T, Grupper A, Shaul A, Nalbantgil S, Hammer Y, Mullens W, Tops LF, Elliston J, Tsui S, Milicic D, Altenberger J, Abuhazira M, Winnik S, Lavee J, Piepoli MF, Hill L, Hamdan R, Ruhparwar A, Anker S, Crespo-Leiro MG, Coats AJS, Filippatos G, Metra M, Rosano G, Seferovic P, Ruschitzka F, Adamopoulos S, Barac Y, De Jonge N, Frigerio M, Goncalvesova E, Gotsman I, Itzhaki Ben Zadok O, Ponikowski P, otena L, Ristic A, Jaarsma T, Ben Gal T.

HFA of the ESC position paper on the management of LVAD-supported patients for the non-LVAD specialist healthcare provider Part 3: at the hospital and discharge.

ESC Heart Fail. 2021 Dec;8(6):4425-4443

Barrea L, Vetrani C, Caprio M, El Ghoch M, Frias-Toral E, Mehta RJ, Mendez V, Moriconi E, Paschou SA, Pazderska A, Savastano S, Colao A, Muscogiuri G.

Nutritional management of type 2 diabetes in subjects with obesity: an international guideline for clinical practice.

Crit Rev Food Sci Nutr. 2021 Sep 23:1-13. Online ahead of print.

Di Bartolo P, Eckel RH, Strollo F, Gentile S.

Hundred-year experience with insulin and lipohypertrophy: an unresolved issue.

Diabetes Research and Clinical Practice, 2021 Aug;178:108924.

Arcari L, Ciolina F, Cacciotti L, Danti M, Camastra G, Manzo D, Musarò S, Pironi B, Marazzi G, Santini C, Ansalone G, Sbarbati S.

Semiquantitative chest CT severity score predicts failure of noninvasive positive-pressure ventilation in patients hospitalized for COVID-19 pneumonia.

J Cardiothorac Vasc Anesth. 2021 Sep 11:S1053-0770(21)00823-5. Epub ahead of print.

Rosano GMC, Allen LA, Abdin A, Lindenfeld J, O'Meara E, Lam CSP, Lancellotti P, Savarese G, Gottlieb SS, Teerlink J, Wintrich J, Böhm M.

Drug layering in heart failure: phenotype-guided initiation.

JACC Heart Fail. 2021 Nov;9(11):775-783.

Rosano G, Jankowska EA, Ray R, Metra M, Abdelhamid M, Adamopoulos S, Anker SD, Bayes-Genis A, Belenkov Y, Gal TB, Böhm M, Chioncel O, Cohen-Solal A, armakis D, Filippatos G, González A, Gustafsson F, Hill L, Jaarsma T, Jouhra F, Lainscak M, Lambrinou E, Lopatin Y, Lund LH, Milicic D, Moura B, Mullens W, Piepoli MF, Ponikowski P, Rakisheva A, Ristic A, Savarese G, Seferovic P, Senni M, Thum T, Tocchetti CG, Van Linthout S, Volterrani M, Coats AJS.

COVID-19 vaccination in patients with heart failure: a position paper of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2021 Nov;23(11):1806-1818.

Pelliccia F, Pasceri V, Marazzi G, Cacciotti L, Placanica A, Gragnano F, Niccoli G, Palmerini T, Tanzilli G, Speciale G, Granatelli A, Calabrò P, Crea F, Gaudio C. **Predictive ability of longitudinal changes in PRECISE-DAPT score in patients on dual antiplatelet therapy: The RE-SCORE multicentre prospective registry.**

Eur J Prev Cardiol. 2021 Oct 13;28(12):e36-e38.

McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, Burri H, Butler J, Čelutkienė J, Chioncel O, Cleland JGF, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Farmakis D, Gilard M, Heymans S, Hoes AW, Jaarsma T, Jankowska EA, Lainscak M, Lam CSP, Lyon AR, McMurray JJV, Mebazaa A, Mindham R, Muneretto C, Francesco Piepoli M, Price S, Rosano GMC, Ruschitzka F, Kathrine Skibellund A; ESC Scientific Document Group.

Corrigendum to: 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC.

Eur Heart J. 2021 Oct 14;ehab670. Erratum for: Eur Heart J. 2021 Sep 21;42(36):3599-3726. PMID: 34649282.

Metra M, Mullens W, **Rosano G**, Slawik J, Wintrich J, Böhm M.

'Time is prognosis' in heart failure: time-to-treatment initiation as a modifiable risk factor.

ESC Heart Fail. 2021 Oct 16. doi: 10.1002/ehf2.13646. Epub ahead of print.

Hobbs FR, Hussain RI, Vitale C, Pinto YM, Bueno H, Lequeux B, Pauschinger M, Obermeier M, Ferber PC, Gustafsson F; PREFER investigators.

Prospective Evaluation of natriuretic peptide-based reFERRal of patients with chronic heart failure in primary care (PREFER): a real-world study.

Open Heart. 2021Oct;8(2):e001630.

Moriconi E, Camajani E, Fabbri A, Lenzi A, Caprio M. Reply to Berk et al.

Comment on "Moriconi et al. very-low-calorie ketogenic diet as a safe and valuable tool for long-term glycemic management in patients with obesity and type 2 diabetes. <i>Nutrients</i> 2021, <i>13</i>, 758".

Nutrients. 2021 Oct 18;13(10):3639.

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, Per Kjeldsen K, 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. 2021 Sep 21;7(5):453-459.

Goharani R, Vahedian-Azimi A, Pourhoseingholi MA, Amanpour F, Rosano GMC, Sahebkar A. **Survival to intensive care unit discharge among in-hospital cardiac arrest patients by applying audiovisual feedback device.**

ESC Heart Fail. 2021 Dec;8(6):4652-4660.

Seferovic PM, Piepoli M, Polovina M, Milinkovic I, Rosano GMC, Coats AJS.

ESC/HFA Quality of Care Centres: the ultimate frontier in unifying heart failure management.

Eur Heart J. 2021 Dec 28;43(1):11-13.

Seferović PM, Polovina M, Adlbrecht C, Bělohávek J, Chioncel O, Goncalvesová E, Milinković I, Grupper A, Halmosi R, Kamzola G, Koskinas KC, Lopatin Y, Parkhomenko A, Pöder P, Ristić AD, Šakalytė G, Trbušić M, Tundybayeva M, Vrtovec B, Yotov YT, Miličić D, Ponikowski P, Metra M, Rosano G, Coats AJ.

Navigating between Scylla and Charybdis: challenges and strategies for implementing guideline-directed medical treatment in heart failure with reduced ejection fraction.

Eur J Heart Fail. 2021 Dec;23(12):1999-2007.

Martino A, Rebecchi M, Sette A, Cicogna F, Politano A, Sgueglia M, de Ruvo E, Volterrani M, Calo' L. **Ivabradine versus bisoprolol in the treatment of inappropriate sinus tachycardia: a long-term follow-up study.**

J Cardiovasc Med(Hagerstown). 2021 Dec 1;22(12):892-900.

Di Bartolo P, Eckel RH, Strollo F, Gentile S.

Hundred-year experience with insulin and lipohypertrophy: an unresolved issue.

Diabetes Res Clin Pract. 2021 Aug;178:108924. Epub 2021 Jun 18.

Gentile S, Guarino G, Della Corte T, Marino G, Fusco A, Corigliano G, Colarusso S, Piscopo M, Improta MR, Corigliano M, Martedi E, Oliva D, Russo V, Simonetti R, Satta E, Romano C, Vaia S, Strollo F; AMD-OSDI Study Group on Injection Techniques; Nefrocenter Network and Nyx Start-up Study Group.

Lipohypertrophy in elderly insulin-treated patients with type 2 diabetes.

Diabetes Ther. 2021 Jan;12(1):107-119.

Guarino G, Della Corte T, Strollo F, Gentile S; Nefrocenter Research Study Group.

Polycaptil gel retard in adult subjects with the metabolic syndrome: efficacy, safety, and tolerability compared to metformin.

Diabetes Metab Syndr. 2021 May-Jun;15(3):901-907.

Monda VM, Porcellati F, Strollo F, Fucili A, Monesi M, Satta E, Gentile S.

Possible preventative/rehabilitative role of gliflozins in OSA and T2DM. A systematic literature review-based hypothesis.

Adv Ther. 2021 Aug;38(8):4195-4214.

Gentile S, Guarino G, Della Corte T, Marino G, Satta E, Pasquarella M, Romano C, Alfrone C, Giordano L, Loiacono F, Capace M, Lamberti R, Strollo F; AMD-OSDI Study Group on Injection Technique; Nefrocenter Research and Nyx Start-Up Study Group.

The durability of an intensive, structured education-based rehabilitation protocol for best insulin injection practice: The ISTERP-2 Study.

Diabetes Ther. 2021 Sep;12(9):2557-2569.

Zago M, Condoluci C, Manzia CM, Pili M, Manunza ME, Galli M.

Multi-segmental postural control patterns in down syndrome.

Clin Biomech (Bristol, Avon). 2021 Feb;82:105271. Epub 2021 Jan 11.

Piccinini L, Cimolin V, Storm F, Di Girolamo G, Biffi E, Galli M, Condoluci C.

Quantification of the effects of robotic-assisted gait training on upper and lower body strategy during gait in diplegic children with Cerebral Palsy using summary parameters.

Comput Methods Biomech Biomed Engin. 2021 Jun 14:1-8. Epub ahead of print.

Kida, E., Walus, M., Albertini, G., & Golabek, A. A. (2021).

Long-term voluntary running modifies the levels of proteins of the excitatory/inhibitory system and reduces reactive astrogliosis in the brain of Ts65Dn mouse model for down syndrome.

Brain Research, 1766 doi:10.1016/j.brainres.2021.147535

Vernieri F, Altamura C, Brunelli N, Costa CM, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, Favoni V, Pierangeli G, Lovati C, Aguggia M, d'Onofrio F, Doretto A, Di Fiore P, Finocchi C, Rao R, Bono F, Ranieri A, Albanese M, Cevoli S, Barbanti P; GARLIT Study Group.

Galcanezumab for the prevention of high frequency episodic and chronic migraine in real life in Italy: a multicenter prospective cohort study (the GARLIT study).

J Headache Pain. 2021 May 3;22(1):35. doi: 10.1186/s10194-021-01247-1. PMID: 33941080; PMCID: PMC8091153.

Barbanti P, Fofi L, Grazi L, Vernieri F, Camarda C, Torelli P, Cevoli S, Russo A, Bono F, Finocchi C, Rao R, Messina S, De Simone R, Vanacore N, Bonassi S; IRON Study Group.

Clinical features, disease progression, and use of healthcare resources in a large sample of 866 patients from 24 headache centers: A real-life perspective from the Italian chRONic migrainE (IRON) project.

Headache. 2021 Jun 14. Epub ahead of print.

Barbanti P, Aurilia C, Cevoli S, Egeo G, Fofi L, Messina R, Salerno A, Torelli P, Albanese M, Carnevale A, Bono F, D'Amico D, Filippi M, Altamura C, Vernieri F; EARLY Study Group.

Long-term (48 weeks) effectiveness, safety, and tolerability of erenumab in the prevention of high-frequency episodic and chronic migraine in a real world: results of the EARLY 2 study.

Headache. 2021 Jul 26. doi: 10.1111/head.14194. Epub ahead of print.

Study Group.

HEADWORK questionnaire: why do we need a new tool to assess work-related disability in patients with migraine?

Headache. 2020 Feb;60(2):497-504. Epub 2020 Jan 13

Di Lorenzo C, Ballerini G, Barbanti P, Bernardini A, D'Arrigo G, Egeo G, Frediani F, Garbo R, Pierangeli G, Prudenzeno MP, Rebaudengo N, Semeraro G, Sirianni G, Valente M, Coppola G, Cervenka MC, Spera G.

Applications of ketogenic diets in patients with headache: clinical recommendations.

Nutrients. 2021 Jul 5;13(7):2307.

Altamura C, Cevoli S, Brunelli N, Aurilia C, Fofi L, Egeo G, Barbanti P, Vernieri F; GARLIT Study Group collaborators.

When should we consider chronic patients as non-responders to monoclonal antibodies targeting the CGRP pathway?

J Neurol. 2021. Epub ahead of print.

Laffon B, Bonassi S, Costa S, Valdiglesias V.

Genomic instability as a main driving factor of unsuccessful ageing: potential for translating the use of micronuclei into clinical practice.

Mutat Res. 2021 Jan-Jun;787:108359. Epub 2020 Nov 27.

Asanov M, Bonassi S, Proietti S, Minina VI, Tomino C, El-Zein R.

Genomic instability in chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer: a systematic review and meta-analysis of studies using the micronucleus assay.

Mutat Res. 2021 Jan-Jun;787:108344.

Crocco M, Calvi A, Gandullia P, Malerba F, Mariani A, Di Profio S, Tappino B, Bonassi S. **Assessing health-related quality of life in children with coeliac disease: the Italian version of CDDUX.**

Nutrients. 2021 Feb 2;13(2):485.

Dhillon VS, Deo P, Bonassi S, Fenech M.

Lymphocyte micronuclei frequencies in skin, haematological, prostate, colorectal and esophageal cancer cases: a systematic review and meta-analysis.

Mutat Res. 2021 Jan-Jun;787:108372.

Valencia-Quintana R, López-Durán RM, Milić M, **Bonassi S**, Ochoa-Ocaña MA, Uriostegui-Acosta MO, Pérez-Flores GA, Gómez-Olivares JL, Sánchez-Alarcón J.

Assessment of cytogenetic damage and cholinesterases' activity in workers occupationally exposed to pesticides in Zamora-Jacona, Michoacan, Mexico.

Int J Environ Res Public Health. 2021 Jun 10;18(12):6269.

Ilari S, Vitiello L, Russo P, Proietti S, Milić M, Muscoli C, Cardaci V, Tomino C, Bonassi G, Bonassi S.

Daily vegetables intake and response to COPD Rehabilitation. The role of oxidative stress, inflammation and DNA damage.

Nutrients. 2021 Aug 14;13(8):2787.

Della-Morte D, Pacifici F, Ricordi C, Massoud R, Rovella V, Proietti S, Iozzo M, Lauro D, Bernardini S, Bonassi S, Di Daniele N.

Low level of plasminogen increases risk for mortality in COVID-19 patients.

Cell Death Dis. 2021 Aug 5;12(8):773.

Bonassi S, Ceppi M, Møller P, Azqueta A, Milić M, Monica N, Brunborg G, Godschalk R, Koppen G, Langie SAS, Teixeira JP, Bruzzone M, Da Silva J, Benedetti D, Cavallo D, Ursini CL, Giovannelli L, Moretti S, Riso P, Del Bo' C, Russo P, Dobrzyńska M, Goroshinskaya IA, Surikova EI, Staruchova M, Barančokova M, Volkovova K, Kažimirova A, Smolkova B, Laffon B, Valdiglesias V, Pastor S, Marcos R, Hernández A, Gajski G, Spremo-Potparević B, Živković L, Boutet-Robinet E, Perdry H, Lebailly P, Perez CL, Basaran N, Nemeth Z, Safar A, Dusinska M, Collins A; hCOMET project.

DNA damage in circulating leukocytes measured with the comet assay may predict the risk of death.

Sci Rep. 2021 Aug 18;11(1):16793.

Bonassi S, Ceppi M, Møller P, Azqueta A, Milić M, Neri M, Brunborg G, Godschalk R, Koppen G, Langie SAS, Teixeira JP, Bruzzone M, Da Silva J, Benedetti D, Cavallo D, Ursini CL, Giovannelli L, Moretti S, Riso P, Del Bo' C, Russo P, Dobrzyńska M, Goroshinskaya IA, Surikova EI, Staruchova M, Barančokova M, Volkovova K, Kažimirova A, Smolkova B, Laffon B, Valdiglesias V, Pastor S, Marcos R, Hernández A, Gajski G, Spremo-Potparević B, Živković L, Boutet-Robinet E, Perdry H, Lebailly P, Perez CL, Basaran N, Nemeth Z, Safar A, Dusinska M, Collins A; hCOMET project.

Author Correction: DNA damage in circulating leukocytes measured with the comet assay may predict the risk of death.

Sci Rep. 2021 Sep 20;11(1):19043. Erratum for: Sci Rep. 2021 Aug 18;11(1):16793.

Olanow CW, 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. 2021;11(1):177-186.

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. 2021 Jan;28(1):349-354.

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. 2021 Mar 5;31(4):2220-2237.

Ferri R, Babiloni C, Karami V, Triggiani AI, Carducci F, Noce G, Lizio R, Pascarelli MT, Soricelli A, Amenta F, Bozzao A, Romano A, Giubilei F, Del Percio C, Stocchi F, Frisoni GB, Nobili F, Patanè L, Arena P.

Stacked autoencoders as new models for an accurate Alzheimer's disease classification support using resting-state EEG and MRI measurements.

Clin Neurophysiol. 2021 Jan;132(1):232-245.

Stocchi F, Vacca L, Grassi A, Torti M.

An evaluation of the efficacy and value of CVT-301 for the treatment of Parkinson's disease.

Expert Opin Pharmacother. 2021 Jun;22(8):965-972.

Babiloni C, Arakaki X, Azami H, Bennys K, Blinowska K, Bonanni L, Bujan A, Carrillo MC, Cichocki A, de Frutos-Lucas J, Del Percio C, Dubois B, Edelmayer R, Egan G, Epelbaum S, Escudero J, Evans A, Farina F, Fargo K, Fernández A, Ferri R, Frisoni G, Hampel H, Harrington MG, Jelic V, Jeong J, Jiang Y, Kaminski M, Kavcic V, Kilborn K, Kumar S, Lam A, Lim L, Lizio R, Lopez D, Lopez S, Lucey B, Maestú F, McGeown WJ, McKeith I, Moretti DV, Nobili F, Noce G, Olichney J, Onofrij M, Osorio R, Parra-Rodriguez M, Rajji T, Ritter P, Soricelli A, Stocchi F, Tarnanas I, Taylor JP, Teipel S, Tucci F, Valdes-Sosa M, Valdes-Sosa P, Weiergräber M, Yener G, Güntekin B.

Measures of resting state EEG rhythms for clinical trials in Alzheimer's disease: Recommendations of an expert panel.

Alzheimers Dement. 2021 Apr 15. Epub ahead of print.

Vacca L, Proietti S, Bravi D, Radicati FG, Stocchi F.

Effectiveness of an herbaceous derivatives, PHGG, plus sodium hyaluronate in the treatment of chronic constipation in patients with Parkinson's disease: a pilot study.

Neurol Sci. 2021 Jun 4. Epub ahead of print.

Jost ST, Visser-Vandewalle V, Rizos A, Loehrer PA, Silverdale M, Evans J, Samuel M, Petry-Schmelzer JN, Sauerbier A, Gronostay A, Barbe MT, Fink GR, Ashkan K, Antonini A, Martinez-Martin P, Chaudhuri KR, Timmermann L, Dafsari HS; EUROPAR and the International Parkinson and Movement Disorders Society Non-Motor Parkinson's Disease Study Group.

Non-motor predictors of 36-month quality of life after subthalamic stimulation in Parkinson disease.

NPJ Parkinsons Dis. 2021 Jun 8;7(1):48.

Abbruzzese G, Barone P, Lopiano L, Stocchi F.

The current evidence for the use of Safinamide for the treatment of Parkinson's disease.

Drug Des Devel Ther. 2021 Jun 10;15:2507-2517.

Babiloni C, Ferri R, Noce G, Lizio R, Lopez S, Lorenzo I, Tucci F, 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.

Resting state Alpha electroencephalographic rhythms are differently related to aging in cognitively unimpaired seniors and patients with Alzheimer's disease and amnesic Mild Cognitive Impairment.

J Alzheimers Dis. 2021 Jun 12. Epub ahead of print.

Olanow CW, Poewe W, Rascol O, Stocchi F.

On-demand therapy for OFF episodes in Parkinson's Disease.

Mov Disord. 2021 Aug 7. Epub ahead of print.

Tinazzi M, Geroïn C, Erro R, Marcuzzo E, Cuoco S, 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, 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. 2021 May;28(5):1752-1758.

Cosentino G, Avenali M, Schindler A, Pizzorni N, Montomoli C, Abbruzzese G, Antonini A, Barbiera F, Benazzo M, Benarroch EE, Bertino G, Cereda E, Clavè P, Cortelli P, Eleopra R, Ferrari C, Hamdy S, Huckabee ML, Lopiano L, Marchese Ragona R, Masiero S, Michou E, Occhini A, Pacchetti C, Pfeiffer RF, Restivo DA, Rondanelli M, Ruoppolo G, Sandrini G, Schapira AHV, Stocchi F, Tolosa E, Valentino F, Zamboni M, Zangaglia R, Zappia M, Tassorelli C, Alfonsi E.

A multinational consensus on dysphagia in Parkinson's disease: screening, diagnosis and prognostic value.

J Neurol. 2021 Aug 21. Epub ahead of print.

Güntekin B, Aktürk T, Arakaki X, Bonanni L, Del Percio C, Edelmayer R, Farina F, Ferri R, Hanoğlu L, Kumar S, Lizio R, Lopez S, Murphy B, Noce G, Randall F, Sack AT, Stocchi F, Yener G, Yıldırım E, Babiloni C.

Are there consistent abnormalities in event-related EEG oscillations in patients with Alzheimer's disease compared to other diseases belonging to dementia?

Psychophysiology. 2021 Aug 30:e13934. Epub ahead of print.

Tinazzi M, Pilotto A, Morgante F, Marcuzzo E, Cuoco S, Ceravolo R, Mazzucchi S, Padovani A, Romito LM, Eleopra R, Nicoletti A, Dallochio C, Arbasino C, Bono F, Magro G, Demartini B, Gambini O, Modugno N, Olivola E, Bonanni L, Zanolin E, Albanese A, Ferrazzano G, Tessitore A, Lopiano L, Calandra-Buonaura G, Petracca M, Esposito M, Pisani A, Manganotti P, Tesolin L, Teatini F, Defazio G, Ercoli T, Stocchi F, Erro R, Zappia M, Geroïn C.

Functional gait disorders: demographic and clinical correlations.

Parkinsonism Relat Disord. 2021 Aug 25;91:32-36. Epub ahead of print.

Hauser RA, Hattori N, Fernandez H, Isaacson SH, Mochizuki H, Rascol O, Stocchi F, Li J, Mori A, Nakajima Y, Ristuccia R, LeWitt P.

Efficacy of istradefylline, an adenosine A2A receptor antagonist, as adjunctive therapy to Levodopa in Parkinson's disease: a pooled analysis of 8 phase 2b/3 trials.

J Parkinsons Dis. 2021 Sep 1. Epub ahead of print.

Poewe W, Stocchi F, Arkadir D, Ebersbach G, Ellenbogen AL, Giladi N, Isaacson SH, Kieburtz K, LeWitt P, Olanow CW, Simuni T, Thomas A, Zlotogorski A, Adar L, Case R, Oren S, Fuchs Orenbach S, Rosenfeld O, Sasson N, Yardeni T, Espay AJ; BeyoND study group.

Subcutaneous Levodopa infusion for Parkinson's disease: 1-year data from the open-label BeyoND Study.

Mov Disord. 2021 Sep 8. Epub ahead of print.

Schindler A, Pizzorni N, Cereda E, Cosentino G, Avenali M, Montomoli C, Abbruzzese G, Antonini A, Barbiera F, Benazzo M, Benarroch E, Bertino G, Clavè P, Cortelli P, Eleopra R, Ferrari C, Hamdy S, Huckabee ML, Lopiano L, Marchese-Ragona R, Masiero S, Michou E, Occhini A, Pacchetti C, Pfeiffer RF, Restivo DA, Rondanelli M, Ruoppolo G, Sandrini G, Schapira A, Stocchi F, Tolosa E, Valentino F, Zamboni M, Zangaglia R, Zappia M, Tassorelli C, Alfonsi E.

Consensus on the treatment of dysphagia in Parkinson's disease.

J Neurol Sci. 2021 Nov 15;430:120008.

Babiloni C, Noce G, Ferri R, Lizio R, Lopez S, Lorenzo I, Tucci F, Soricelli A, Zurrón M, Díaz F, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Buttinelli C, Giubilei F, Cipollini V, Marizzoni M, Güntekin B, Yıldırım E, Hanoğlu L, Yener G, Gündüz DH, Onorati P, Stocchi F, Vacca L, Maestú F, Frisoni GB, Del Percio C.

Resting state Alpha electroencephalographic rhythms are affected by sex in cognitively unimpaired seniors and patients with Alzheimer's disease and amnesic Mild Cognitive Impairment: a retrospective and exploratory study.

Cereb Cortex. 2021 Oct 6; bhab348. Online ahead of print.

San-Martin R, Fraga FJ, Del Percio C, Lizio R, Noce G, Nobili F, Arnaldi D, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoğlu L, Taylor JP, McKeith I, Stocchi F, Ferri R, Onofri M, Lopez S, Bonanni L, Babiloni C.

Classification of patients with Alzheimer's disease and Dementia with Lewy Bodies using resting EEG selected features at sensor and source levels: a proof-of-concept study.

Curr Alzheimer Res. 2021;18(12):956-969.

Olanow CW, Stocchi F, Peckham EL, De Pandis MF, Sciarappa K, Navia B.

Dose optimization of apomorphine sublingual film for treating "OFF" episodes in Parkinson's disease.

Parkinsonism Relat Disord. 2021 Oct 28;93:27-30.

Molteni F, Guanziroli E, Goffredo M, Calabrò RS, Pournajaf S, Gaffuri M, Gasperini G, Filoni S, Baratta S, Galafate D, Le Pera D, Bramanti P, Franceschini M, On Behalf Of Italian Eksogait Study Group.

Gait recovery with an overground powered exoskeleton: a randomized controlled trial on subacute stroke subjects.

Brain Sci. 2021 Jan 14;11(1):E104.

Iodice F, Cassano V, Rossini PM.

Direct and indirect neurological, cognitive, and behavioral effects of COVID-19 on the healthy elderly, mild-cognitive-impairment, and Alzheimer's disease populations.

Neurol Sci. 2021 Feb;42(2):455-465. Epub 2021 Jan 7.

Ravizzotti E, Vercelli S, Pellicciari L, Furmanek MP, Zagnoni G, Piscitelli D.

Reliability and validity of the trunk control measurement scale among children and adolescents with Cerebral Palsy in Tanzania.

Percept Mot Skills. 2021 Apr;128(2):731-745.

Iodice F, Romoli M, Giometto B, Clerico M, Tedeschi G, Bonavita S, Leocani L, Lavorgna L; Digital Technologies, Web and Social Media Study Group of the Italian Society of Neurology. **Stroke and digital technology: a wake-up call from COVID-19 pandemic.**

Neurol Sci. 2021 Mar;42(3):805-809.

Di Lorenzo F, Ercoli T, Cuffaro L, Barbato F, Iodice F, Tedeschi G, Bombaci A; SlgN.

COVID-19 impact on neurology training program in Italy.

Neurol Sci. 2021 Mar;42(3):817-823.

Di Lorenzo F, Ercoli T, Cuffaro L, Barbato F, Iodice F, Tedeschi G, Bombaci A; SlgN.

COVID-19 impact on neurology training program in Italy.

Neurol Sci. 2021 Mar;42(3):817-823.

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

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

Am J Phys Med Rehabil. 2021 May 1;100(5):483-491.

Damiani C, Pournajaf S, Goffredo M, Proietti S, Denza G, Rosa B, Franceschini M, Casale R.

Community ambulation in people with lower limb amputation: an observational cohort study.

Medicine (Baltimore). 2021 Jan 22;100(3):e24364.

Scalise V, Brindisino F, Pellicciari L, Minnucci S, Bonetti F.

Carpal tunnel syndrome: a national survey to monitor knowledge and operating methods.

Int J Environ Res Public Health. 2021 Feb 18;18(4):1995.

Cecchi F, Cassio A, Lavezzi S, Scarponi F, Gatta G, Montis A, Bernucci C, Franceschini M, Bargellesi S, Paolucci S, Taricco M.

Redefining a minimal assessment protocol for stroke rehabilitation: the new "Protocollo di Minima per l'Ictus" - PMIC2020.

Eur J Phys Rehabil Med. 2021 May 27. Epub ahead of print.

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 Jul;58(7):768-777. Epub 2020 Jan 29.

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

Functional gait recovery after a combination of conventional therapy and overground robot-assisted gait training is not associated with significant changes in muscle activation pattern: an EMG preliminary study on subjects subacute post stroke.

Brain Sci. 2021 Apr 1;11(4):448.

Tomino C, Ilari S, Solfrizzi V, Malafoglia V, Zilio G, Russo P, Proietti S, Marcolongo F, Scapagnini G, Muscoli C, Rossini PM.

Mild Cognitive Impairment and Mild Dementia: The Role of Ginkgo biloba (EGb 761®)

Pharmaceuticals (Basel). 2021 Apr 1;14(4):305.

D'Atri A, Scarpelli S, Gorgoni M, Truglia I, Lauri G, Cordone S, Ferrara M, Marra C, Rossini PM, De Gennaro L.

EEG alterations during wake and sleep in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease.

iScience. 2021 Apr 1;24(4):102386.

Romano P, Pournajaf S, Ottaviani M, Gison A, Infarinato F, Mantoni C, De Pandis MF, Franceschini M, Goffredo M.

Sensor network for analyzing upper body strategies in Parkinson's disease versus normative kinematic patterns.

Sensors (Basel). 2021 May 31;21(11):3823.

Grossi E, Caminada E, Goffredo M, Vescovo B, Castrignano T, Piscitelli D, Valagussa G, Franceschini M, Vanzulli F.

Patterns of restricted and repetitive behaviors in autism spectrum disorders: a cross-sectional video recording study. Preliminary report.

Brain Sci. 2021 May 21;11(6):678.

Gimigliano F, Liguori S, Moretti A, Toro G, Rauch A, Negrini S; other members of the Technical Working Group, Iolascon G.

Correction to: 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. 2021 Mar 1;22(1):7. Erratum for: J Orthop Traumatol. 2020 Nov 14;21(1):20.

Piscitelli D, Ferrarello F, Ugolini A, Verola S, Pellicciari L.

Measurement properties of the Gross Motor Function Classification System, Gross Motor Function Classification System-Expanded & Revised, Manual Ability Classification System, and Communication Function Classification System in cerebral palsy: a systematic review with meta-analysis.

Dev Med Child Neurol. 2021 Nov;63(11):1251-1261.

De Francesco S, Galluzzi S, Vanacore N, Festari C, Rossini PM, Cappa SF, Frisoni GB, Redolfi A.

Norms for automatic estimation of hippocampal atrophy and a step forward for applicability to the Italian population.

Front Neurosci. 2021 Jun 28;15:656808.

Fried PJ, Santarnecchi E, Antal A, Bartres-Faz D, Bestmann S, Carpenter LL, Celnik P, Edwards D, Farzan F, Fecteau S, George MS, He B, Kim YH, Leocani L, Lisanby SH, Loo C, Luber B, Nitsche MA,

Paulus W, Rossi S, Rossini PM, Rothwell J, Sack AT, Thut G, Ugawa Y, Ziemann U, Hallett M, Pascual-Leone A.

Training in the practice of noninvasive brain stimulation: recommendations from an IFCN committee.

Clin Neurophysiol. 2021 Mar;132(3):819-837.

Ricciardi D, Casagrande S, Iodice F, Orlando B, Trojsi F, Cirillo G, Clerico M, Bozzali M, Leocani L, Abbadessa G, Miele G, Tedeschi G, Bonavita S, Lavorgna L; Digital Technologies, Web, Social Media Study Group of the Italian Society of Neurology.

Myasthenia gravis and telemedicine: a lesson from COVID-19 pandemic.

Neurol Sci. 2021 Dec;42(12):4889-4892.

Calabrò RS, Morone G, Naro A, Gandolfi M, Liotti V, D'aurizio C, Straudi S, Focacci A, Pournajaf S, Aprile I, Filoni S, Zanetti C, Leo MR, Tedesco L, Spina V, Chisari C, Taveggia G, Mazzoleni S, Smania N, Paolucci S, Franceschini M, Bonaiuti D.

Robot-assisted training for upper limb in stroke (ROBOTAS): an observational, multicenter study to identify determinants of efficacy.

J Clin Med. 2021 Nov 11;10(22):5245.

Calabrò RS, Morone G, Naro A, Gandolfi M, Liotti V, D'aurizio C, Straudi S, Focacci A, Pournajaf S, Aprile I, Filoni S, Zanetti C, Leo MR, Tedesco L, Spina V, Chisari C, Taveggia G, Mazzoleni S, Smania N, Paolucci S, Franceschini M, Bonaiuti D.

Robot-assisted training for upper limb in stroke (ROBOTAS): an observational, multicenter study to identify determinants of efficacy.

J Clin Med. 2021 Nov 11;10(22):5245.

Pellicciari L, Chiarotto A, Giusti E, Crins MHP, Roorda LD, Terwee CB.

Psychometric properties of the patient-reported outcomes measurement information system scale v1.2: global health (PROMIS-GH) in a Dutch general population.

Health Qual Life Outcomes. 2021 Sep 27;19(1):226.

Di Iorio R, Rossi S, Rossini PM.

One century of healing currents into the brain from the scalp: from electroconvulsive therapy to repetitive transcranial magnetic stimulation for neuropsychiatric disorders.

Clin Neurophysiol. 2021 Nov 11;133:145-151.

Costa C, Vecchio F, Romoli M, Miraglia F, Cesarini EN, Alù F, Calabresi P, Rossini PM.

Cognitive decline risk stratification in people with late-onset epilepsy of unknown etiology: an electroencephalographic connectivity and graph theory pilot study.

J Alzheimers Dis. 2021 Nov 22. Epub ahead of print.

Cracchiolo M, Panarese A, Valle G, Strauss I, Granata G, Iorio RD, Stieglitz T, Rossini PM, Mazzoni A, Micera S.

Computational approaches to decode grasping force and velocity level in upper-limb amputee from intraneural peripheral signals.

J Neural Eng. 2021 Apr 6;18(5).

Scarlata S, Finamore P, Laudisio A, Cardaci V, Ramaccia M, D'Alessandro F, Pedone C, Antonelli Incalzi R, Cesari M.

Association between frailty index, lung function, and major clinical determinants in chronic obstructive pulmonary disease.

Aging Clin Exp Res. 2021 Aug;33(8):2165-2173.

Scarlata S, Cardaci V, Santangelo C, Matarese M, Cesari M, Antonelli Incalzi R.

Distancing measures in COVID-19 pandemic: loneliness, more than physical isolation, affects health status and psycho-cognitive wellbeing in elderly patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease.

COPD. 2021 Jun 28:1-6.

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 brainnetworks' modulations.

Brain Res Bull. 2021 Feb;167:33-36.

Miraglia F, Tomino C, Vecchio F, Gorgoni M, De Gennaro L, Rossini PM.

The brain network organization during sleep onset after deprivation.

Clin Neurophysiol. 2021 Jan;132(1):36-44.

Ribaldi F, Altomare D, Jovicich J, Ferrari C, Picco A, Pizzini FB, Soricelli A, Mega A, Ferretti A, Drevelegas A, Bosch B, Müller BW, Marra C, Cavaliere C, Bartrés-Faz D, Nobili F, Alessandrini F, Barkhof F, Gros-Dagnac H, Ranjeva JP, Wiltfang J, Kuijser J, Sein J, Hoffmann KT, Roccatagliata L, Parnetti L, Tsolaki M, Constantinidis M, Aiello M, Salvatore M, Montalti M, Caulo M, Didic M, Bargallo N, Blin O, Rossini PM, Schonknecht P, Floridi P, Payoux P, Visser PJ, Bordet R, Lopes R, Tarducci R, Bombois S, Hensch T, Fiedler U, Richardson JC, Frisoni GB, Marizzoni M.

Accuracy and reproducibility of automated white matter hyperintensities segmentation with lesion segmentation tool: A European multi-site 3T study.

Magn Reson Imaging. 2021 Feb;76:108-115.

Gott J, Bovy L, Peters E, Tzioridou S, Meo S, Demirel Ç, Esfahani MJ, Oliveira PR, Houweling T, Orticoni A, Rademaker A, Bootink D, Varatheeswaran R, van Hooijdonk C, Chaabou M, Mangiaruga A, van den Berge E, Weber FD, Ritter S, Dresler M.

Virtual reality training of lucid dreaming.

Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2021 Feb;376(1817):20190697.

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

Brain sources' activity in resting state before a visuo-motor task.

J Neural Eng. 2021 Mar 17;18(3).

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

Human brain networks in physiological and pathological aging: reproducibility of EEG graph theoretical analysis in cortical connectivity.

Brain Connect. 2021 Dec 24. Online ahead of print.

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

Entropy modulation of electroencephalographic signals in physiological aging.

Mech Ageing Dev. 2021 Mar 22;196:111472.

Hatlestad-Hall C, Bruña R, Syvertsen MR, Erichsen A, Andersson V, Vecchio F, Miraglia F, Rossini PM, Renvall H, Taubøll E, Maestú F, Haraldsen IH.

Source- level EEG and graph theory reveal widespread functional network alterations in focal epilepsy.

Clin Neurophysiol. 2021 Apr 30;132(7):1663-1676.

Gott J, Bovy L, Peters E, Tzioridou S, Meo S, Demirel Ç, Esfahani MJ, Oliveira PR, Houweling T, Orticoni A, Rademaker A, Bootink D, Varatheeswaran R, van Hooijdonk C, Chaabou M, Mangiaruga A, van den Berge E, Weber FD, Ritter R, Dresler M.

Virtual reality training of lucid dreaming: VR training of lucid dreaming. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2021 Feb;376(1817):20190697.

Vecchio F, Miraglia F, Alú F, Orticoni A, Judica E, Cotelli M, Rossini PM.

Contribution of graph theory applied to EEG data analysis for Alzheimer's Disease versus vascular dementia diagnosis.

Alzheimers Dis. 2021;82(2):871-879.

Räty S, Borrmann C, Granata G, Cárdenas-Morales L, Schoenfeld A, Sailer M, Silvennoinen K, Holopainen J, De Rossi F, Antal A, Rossini PM, Tatlisumak T, Sabel BA.

Non-invasive electrical brain stimulation for vision restoration afterstroke: an exploratory randomized trial (REVIS).

Restor Neurol Neurosci. 2021;39(3):221-235.

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.

Author correction: morphological neural computation restores discrimination of naturalistic textures in trans-radial amputees.

Sci Rep. 2021 Aug 11;11(1):16662.

Erratum for: Sci Rep. 2020 Jan 16;10(1):527.

Vecchio F, Miraglia F, Alù F, Valle G, Mazzoni A, Oddo C, Micera S, Rossini PM.

Brain network modulation in transradial amputee with finger perception restored through biomimetic intraneural stimulation.

Neurol Sci. 2021 Dec;42(12):5369-5372.

D'Atri A, Gorgoni M, Scarpelli S, Cordone S, Alfonsi V, Marra C, Ferrara M, Rossini PM, De Gennaro L.

Relationship between cortical thickness and EEG alterations during sleep in the Alzheimer's disease.

Brain Sci. 2021 Sep 4;11(9):1174.

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

Performance prediction in a visuo-motor task: the contribution of EEG analysis.

Cognitive Neurodynamics. <https://doi.org/10.1007/s11571-021-09713-x>

Miraglia F, Vecchio F, Pellicciari MC, Cespon J, Rossini PM. Brain Networks

Modulation in young and old subjects during transcranial direct current stimulation applied on prefrontal and parietal cortex.

Int J Neural Syst. 2021 Oct 15;2150056. Epub ahead of print.

Vecchio F.

Aging and brain connectivity by graph theory.

Aging (Albany NY). 2021 Nov 2;undefined(undefined). Epub ahead of print.

Vecchio F, Pappalettera C, Miraglia F, Alù F, Orticoni A, Judica E, Cotelli M, Pistoia F, Rossini PM.

Graph theory on brain cortical sources in Parkinson's disease: the analysis of 'Small World' organization from EEG.

Sensors (Basel). 2021 Oct 31;21(21):7266.

Maggi F, Rosellini A, Spezia PG, Focosi D, Macera L, Lai M, Pistello M, de Iure A, Tomino C, Bonassi S, Russo P.

Nicotine upregulates ACE2 expression and increases competence for SARS-CoV-2 in human pneumocytes.

ERJ Open Res. 2021 Apr 12;7(2):00713-2020.

Pagnesi M, Inciardi RM, Lombardi CM, Agostoni P, Ameri P, Barbieri L, Bellasi A, Camporotondo R, Canale C, Carubelli V, Carugo S, Catagnano F, Vecchia LAD, Danzi GB, Di Pasquale M, Gaudenzi M, Giovinazzo S, Gnecci 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, Sarullo F, Sinagra G, Tedino C, Tomasoni D, Volterrani M, Zaccone G, Senni M, Metra M.

Determinants of the protective effect of glucocorticoids on mortality in hospitalized patients with COVID-19: Insights from the Cardio-COVID-Italy multicenter study.

Int J Infect Dis. 2021 May 27;108:270–273.

Romano P, Pournajaf S, Ottaviani M, Gison A, Infarinato F, Mantoni C, De Pandis MF, Franceschini M, Goffredo M.

Sensor network for analyzing upper body strategies in Parkinson's Disease versus normative kinematic patterns.

Sensors (Basel). 2021 May 31;21(11):3823.

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

Functional gait recovery after a combination of conventional therapy and overground robot-assisted gait training is not associated with significant changes in muscle activation pattern: an emg preliminary study on subjects subacute post stroke.

Brain Sci. 2021 Apr 1;11(4):448

Marcolongo F, Ottaviani M, Romano P, Bonassi S, Garramone A, Infarinato F, Russo P, Tamburrano A, Tomino C, Prinzi G.

The role of resilience and coping among Italian healthcare workers during the COVID-19 pandemic.

Med Lav . 2021 Dec 23;112(6):496-505.

PARTECIPAZIONI A EVENTI SCIENTIFICI

- . Picconi B, Corso ECM, **Le Demenze: Attualità e Prospettive**, Novembre 2021.
- . Bonassi S. e Russo P, **Corso COVID-19: separare i fatti dai miti**, Febbraio 2021
- . Russo P . XVII Congresso Nazionale Società Italiana di Tabaccologia, **Nicotina, ACE2 & infezione da SARS-Cov-2**, Ottobre 2021
- . Bonassi S. 83° Congresso Nazionale di Medicina del Lavoro SIML, **L'uso dei marcatori genetici negli studi di popolazione**, Settembre 2021
- . Bonassi S. Egyptian Society of Environmental Mutagenesis, Seminario **Use of Biomarkers of DNA damage and genomic instability in Human population studies**, Febbraio 2021
- . Bonassi S. Invited speaker 51 ALAG Latin American Association of Genetics, **The extent of DNA damage measured with the Comet assay and the risk of death**, Santiago (Chile) Ottobre 2021
- . Bonassi S. Brazilian Association of Mutagenesis and Environmental Genomics (MutaGen-Brasil) Annual meeting, **DNA damage, the Comet assay and the risk of death**, San Paolo (Brasile) Dicembre 2021
- . Franceschini M. International Congress of Physical and Rehabilitation Medicine (ISPRM 2021), **Rehabilitation With EEG**, Giugno 2021
- . Goffredo M. International Neurorehabilitation Robotics 2021 (INRS 2021 - RehabWeek 2021), **Monitoring Patient Progress during Upper Limb Exoskeleton assisted Stroke Rehabilitation: Analysis of Built in Data**, Settembre 2021
- . Pournajaf S. International Neurorehabilitation Robotics 2021 (INRS 2021 - RehabWeek 2021), **Clinical and neurophysiological effects of upper limb robot-assisted rehabilitation on motor recovery in patients with subacute stroke: a study protocol of a single-blind randomized controlled trial**, Settembre 2021
- . Franceschini M. Congresso Società Italiana di Medicina Fisica e Riabilitativa SIMFER 2021, **Action Observation nei Pazienti con Stroke: Aspetti Clinici e Neurofisiologici**, Milano Ottobre 2021
- . Aurilia C. WCN 2021 XXV World Congress of Neurology Virtual, **Long term effectiveness, safety and tolerability of erenumab in the prevention of high-frequency episodic and chronic migraine in real-world: the EARLY 2 study**,
- . Aurilia C. World Congress of Neurology Virtual WCN 2021 XXV, **Long term (48-weeks) effectiveness, safety and tolerability of erenumab in the prevention of high-frequency episodic and chronic migraine in real-world: the EARLY 2 study**, Ottobre 2021.
- . Aurilia C. Headache Case Report Meeting. Casi Clinici. **Anticorpi monoclonali nell'emicrania**, Roma, novembre 2021
- . Egeo G. **Cefalea e COVID-19 dalla fisiopatologia alla terapia e oltre.... valore prognostico**, Roma luglio 2021.
- . Caprio M. Endocrine Society Virtual Meeting, **Cardiovascular outcomes in patients with T2D treated with GLP1 receptor agonists and SGLT-2 inhibitors**, marzo 2021
- . Caprio M. Endocrine Society Virtual Meeting, **When should you order advanced lipoprotein testing?**, marzo 2021

- . Caprio M. 14° Congresso Nazionale SIAMS, **Dieta chetogenica e benessere maschile: goals metabolici, riproduttivi e sessuali**, Bologna ottobre 2021
- . Caprio M. Chetogenic Diet Academy, **Dieta chetogenica e cardiomiopatie**, Bologna, Novembre 2021
- . Caprio M. Congresso Nazionale SINut, **Dieta chetogenica, obesità e cardiomiopatie**, Novembre 2021
- . Caprio M. Webinar SIE, sezione Lombardia, **Le basi biochimiche della chetogenesi**, Settembre 2021
- . Caprio M. OPERA, **Liraglutide: effetti antinfiammatori nella NAFLD**, Napoli, Settembre 2021
- . Caprio M. 35° Congresso Nazionale SIIA, Simposio congiunto SIIA-SIE, **Tiroide e cuore**, Bologna, ottobre 2021
- . Caprio M. Meeting Internazionale di Cardionefrologia, **Diabete mellito e rischio cardiovascolare: come prevenirlo?**, Roma, novembre 2021
- . Caprio M. XX Congresso Nazionale SIMDO, **Dieta chetogenica: un'arma formidabile nella gestione della persona obesa**, XX Congresso Nazionale SIMDO, Palermo, ottobre 2021
- . Caprio M. Congresso SINSEB "Le diete lowcarb nello sport", **Le diete chetogeniche in cardiologia**, Milano, dicembre 2021
- . Feraco A. 41° Congresso Nazionale SIE, **Pharmacological inhibition of SIRT5 induces brown fat-like phenotype in 3T3-L1 and mouse primary preadipocytes**, Roma, luglio 2021
- . Marzolla V. X Congresso Nazionale SIO, **Class-specific responses of brown adipose tissue to finerenone and spironolactone in a mouse model of diet-induced obesity**, Marina di S. Vincenzo (LI), 27-29 ottobre 2021
- . Stocchi F. XI Corso di Aggiornamento Malattia di Parkinson "Non Solo Parkinson", **Problematiche gastrointestinali e gestione farmacologica delle fluttuazioni motorie e non motorie**, Parma, settembre, 2021
- . Stocchi F. Scuola Superiore dei Disturbi del Movimento, Modulo 2 (Accademia LIMPE-DISMOV) Sessione Teorica, **Le nuove terapie farmacologiche**, Torino, Ottobre 2021
- . Stocchi F. GONE 2nd Edition – Go On Neurology Expertis, **L'approccio al paziente iniziale tra presente e futuro**, Venezia Ottobre 2021
- . Stocchi F. Restoring Brain Health, **Aderenza terapeutica in neurologia**, Milano, novembre 2021
- . Stocchi F. Parkinson Napoli V Edizione "Parkinson e Attualità", **Parkinson e terapie modificanti il decorso**, Napoli, dicembre 2021
- . Stocchi F. 7° Congresso Nazionale Accademia LIMPE-DISMOV, Moderatore: SESSIONE PLENARIA 5 AUDITORIUM , Come potrebbe cambiare lo scenario della malattia di Parkinson nei prossimi dieci anni; Relatore: **La terapia: dalla terapia sintomatica a quelle curative**, Bologna, Dicembre 2021
- . Vacca L. 7° Congresso Nazionale Accademia LIMPE-DISMOV, "Targeting tau: trials clinici e nuovi approcci terapeutici", Bologna, Dicembre 2021
- . Guadagni F. Webinar su "European Actions to fight Cancer: a new EU approach to prevention, treatment and care", **The use of Artificial Intelligence in the European Project REVERT - targeted therapy for advanced colorectal cancer patients**, Aprile 2021
- . Guadagni F. Presentazione del progetto REVERT nell'ambito del Joint RSCN-CORAL "How do we beat cancer equally with Data Analytics?", Giugno 2021

- . Guadagni F. XXIII Congresso Nazionale AIOM 2021, Virtual Edition , **Analisi multi-omiche, machine learning e big data: come cambia il disegno dei trials clinici**, Ottobre 2021
- . Guadagni F. Relazione su invito nell'ambito dell'evento divulgativo per la **Presentazione dei risultati finali del progetto di ricerca CD.PRO-CON** (POR FESR CAMPANIA 2014/2020 - O.S. 1.1), Napoli, novembre 2021
- . Guadagni F. Umanizzazione in Medicina, **Applicazione dell'intelligenza Artificiale per la valutazione del benessere del paziente**, Roma, novembre 2021
- . Volterrani M. 1° convegno nazionale DI MALATTIE RARE CARDIO-RESPIRATORIE: Dispnea e dintorni, **Iperkalemia**, Milano, Febbraio 2021
- . Volterrani M. Webinar La gestione del paziente scompensato con carenza marziale: dati dallo studio Affirm-AHF, Marzo 2022
- . Volterrani M. Virtual Edition: Forum sullo scompenso cardiaco: cosa cambia nel trattamento dello scompenso dopo i recenti trials, **Il trattamento del paziente scompensato con cardiopatia ischemica cronica**, Marzo 2022
- . Volterrani M. Virtual Edition: Congresso La Gestione moderna dello scompenso cardiaco-Responsabile scientifico e relatore, **Digital health: implicazioni della gestione nello scompenso cardiaco**, Luglio 2022
- . Volterrani M. Digital Congress Mediterranean Cardiology Meeting 2021, **Carenza marziale nello scompenso cardiaco: risultati nello studio AFFIRM- AHS**, Luglio 2021
- . Volterrani M. HIMSS21 & Health 2.0 European Health Conference, **Non-Communicable Diseases: The Great Catch Up** ,Helsinki, Luglio 2021
- . Volterrani M. Webinar: Grey Zones in Heart Failure- Opinione degli Esperti sulle Linee Guida 2021, **Heart Rate as key player for optimal HF management**, Ottobre 2022
- . Volterrani M. HFA Clinical Trial in Heart Failure Course 2021, **Role of an interim analysis in HF: when to stop and not to stop a trial early forefficacy, safety, or futility?**, Ottobre 2021
- . Volterrani M. Master Universitario di II livello in Terapia Intensiva Cardiologica del Policlinico A. Gemelli di Roma, **Interventi riabilitativi in UTIC**, Roma, Ottobre 2021
- . Volterrani M. XLII Congresso Nazionale SIFO Società Italiana Farmacia Ospedaliera, **Potassio e RAASI: una relazione pericolosa?**, Roma, Ottobre 2021
- . Volterrani M. Corso MAZARA CUORE 2021. Avamposto del Mediterraneo. 5a Edizione, "UPDATE IN CARDIOLOGIA", **Iron deficiency: Un nuovo target terapeutico nello scompenso cardiaco**, Mazara del Vallo, Novembre 2021
- . Volterrani M. Giornate cardiologiche partenopee - VIII Edizione – Dai fattori di rischio allo scompenso cardiaco l'asse cardio-nefro-metabolico, **I farmaci per il trattamento della iperpotassiemia e l'impatto nello scompenso cardiaco**, Napoli, Novembre 2021
- . Volterrani M. 4° CONGRESSO REGIONALE AICPR -Associazione Italiana di Cardiologia Clinica. Preventiva e Riabilitativa - Incontro di Riabilitazione Cardiologica e Prevenzione delle Malattie Cardiovascolari Specialisti a confronto, **Diabete e scompenso cardiaco: nuove prospettive di trattamento**, Reggio Calabria, Novembre 2021
- . Prezioso C, Brazzini G, Grimaldi A, Landi D, Rodio DM, Ciotti M, Palamara AT, Marfia GA, Pietropaolo V. 17th International Symposium on NeuroVirology **Risk assessment of Progressive**

- Multifocal Leukoencephalopathy in Ocrelizumab-treated Multiple Sclerosis patients**, Giugno 2021 (virtual).
- . De Angelis Marta, Checconi Paola, Amatore Donatella, De Chiara Giovanna, Palamara Anna Teresa, Nencioni Lucia. 49° Virtual SIM 2021. **CoV-2 infected patients**, Settembre 2021.
 - . 23rd International Conference on PARIS REDOX 2021-Oxidative Stress Reduction, Redox Homeostasis & Antioxidants, 13-15/10/2021, Virtual Interactive Congress. **REDOX-MODULATING AGENTS IN THE TREATMENT OF VIRAL INFECTIONS**.
 - . Ambrosi C. Congresso AMCLI. **La spettrometria di massa nella ricerca traslazionale: il caso Acinetobacter baumannii**, Rimini, Febbraio-Marzo 2021
 - . Gentile A. XXIX Congresso Associazione Italiana di Neuroimmunologia (AINI), **Exercise ameliorates synaptic dysfunctions and peripheral and central immune alterations in experimental Multiple Sclerosis**, Verona, Settembre 2021
 - . Mechelli R. XXIX Congresso Associazione Italiana di Neuroimmunologia (AINI), **“Candidate interactomes” analysis of GWAS data supports the Multiple Sclerosis-Epstein Barr virus association, The MS-associated EBNA2 alleles show functional relevance in virus-host interaction in a cellular model of infection**, Verona, Settembre 2021
 - . Mechelli R. 15th Congress of the International Society of Neuroimmunology (ISNI), Poster: **Interactome-based analysis of GWAS data delineates the mechanisms involved in multiple sclerosis-Epstein Barr virus association**, Francia, Novembre 2021
 - . Fresegna D. 19th SINS Virtual Congress, Poster: **Pro-resolving lipid mediators RvD3 and LXB4 ameliorate clinical symptoms and reduce neuroinflammation in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)**, Brescia, Settembre 2021
 - . Guadalupi L. 19th SINS Virtual Congress, **Exercise protects from hippocampal inflammation and neurodegeneration in experimental Multiple Sclerosis**, Brescia, Settembre 2021
 - . Guadalupi L. Brayn Conference, 4th Brainstorming Research Assembly For Young Neuroscientists, **Exercise protects from hippocampal inflammation and neurodegeneration in experimental Multiple Sclerosis**, Pisa, Ottobre 2021
 - . Musella A. 19th SINS Virtual Congress, **Nutritional overload worsens EAE severity by promoting synaptic damage and neuroinflammation**, Brescia, Settembre 2021
 - . Ilari S, Lauro F, Giancotti LA, Malafoglia V, Dagostino C, Gliozzi M, Condemi A, Maiuolo J, Oppedisano F, Palma E, Tomino C, Salvemini D, Mollace V, Muscoli C. 20° Congresso Nazionale della Società Italiana di Tossicologia (SITOX), Poster: **L'effetto protettivo della frazione polifenolica del bergamotto (BPF) nel dolore neuropatico indotto dai chemioterapici**, Bologna 2021
 - . Malafoglia V. Congresso Nazionale FederDolore-SICD, **Biomarkers nella terapia del dolore**, Bologna 2021
 - . Ilari S. La fibromialgia una patologia a confine tra psiche e soma. Accesso alle cure durante la diffusione del virus COVID-19. **L'identificazione di biomarcatori di dolore ed il loro impiego per una corretta diagnosi di fibromialgia**, Roma 2021
 - . Vitale C. Evento ECM: Il trattamento non conservativo nel paziente con malattia venosa cronica, **Introduzione**, FAD sincrona, Febbraio 2021

- . Vitale C. Evento ECM: Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, **Ruolo della ultrasonografia nella diagnosi di malattia polidistrettuale e presentazione della piattaforma educativa** - FAD sincrona, Aprile 2021
- . Vitale C. Evento ECM: Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, **Corso pratico di ultrasonografia vascolare**, Corso residenziale, Luglio 2021
- . Vitale C. Evento ECM: Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, **Il management del paziente complesso con malattia polidistrettuale**, Corso residenziale, Luglio 2021
- . Vitale C. Evento ECM: Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, **Il paziente complesso con malattia polidistrettuale – real life experience**, Corso residenziale, Luglio 2021
- . Vitale C. Evento ECM: Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, **Tavola rotonda: il paziente complesso con malattia polidistrettuale**, Corso residenziale, Luglio 2021
- . Vitale C. Evento ECM: Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, **Discussione su argomenti precedentemente trattati**, Corso residenziale, Luglio 2021
- . Rosano G. Congresso HFA/ESC “Expert opinion on heart failure management: drugs” - Heart Failure 2021 **Start together and up-titrate according to patient profiles**, Online Congress, Giugno 2021
- . Rosano G. HFA/ESC webinar, **Guideline-directed treatment of heart failure**, Settembre 2021
- . Rosano G. HFA/ESC webinar, **How to optimise RAASi therapy in patients with hyperkalaemia**, Dicembre 2021
- . Rosano G. 82° Congresso Nazionale SIC, **Patient profiling to implement guidelines in clinical practice**, Dicembre 2021
- . Rosano G. 82° Congresso Nazionale SIC, **ACE inibitori/sartani, beta bloccanti, anti-mineralcorticoidi e ivabradina: ruolo nel management del paziente con SCC**, Dicembre 2021
- . Rosano G. 82° Congresso Nazionale SIC, **Quando l’iperkaliemia impedisce l’implementazione di terapie efficaci**, Dicembre 2021
- . Rosano G. Evento ECM: **Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale**, FAD sincrona, Aprile 2021
- . Rosano G. Evento ECM: **Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, Il trattamento farmacologico dell’ipercolesterolemia nei pazienti con malattia cardiovascolare**, FAD sincrona, Maggio 2021
- . Rosano G. Evento ECM: **Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, I vantaggi del trattamento farmacologico con PCSK9I**, FAD sincrona, Maggio 2021
- . Rosano G. Evento ECM: **Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, Corso pratico di ultrasonografia vascolare**, Corso residenziale: Luglio 2021
- . Rosano G. Evento ECM: **Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, Introduzione**, Corso residenziale: Luglio 2021
- . Rosano G. Evento ECM: **Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, Il management del paziente complesso con malattia polidistrettuale – real life experience**, Corso residenziale: Luglio 2021
- . Rosano G. Evento ECM: **Il colesterolo: uno dei principali responsabili della malattia aterosclerotica polidistrettuale, Discussione su argomenti precedentemente trattati**, Corso residenziale: Luglio 2021

PREMI E RICONOSCIMENTI

Area di Epidemiologia Clinica e Molecolare

Nel Luglio 2021 Stefano Bonassi ha ricevuto dalla European Society of Environmental Mutagenesis and Genomics (WWW.EEMGS.EU) il premio Frits Sobels. Il premio viene assegnato annualmente a ricercatori Europei che abbiano contribuito significativamente, nel corso della loro carriera, all'avanzamento della ricerca in campo ambientale, tossicologico e genetico. Stefano Bonassi è stato premiato per gli studi nell'ambito dell'epidemiologia molecolare.

Area di ricerca di Robotica Riabilitativa

Marco Franceschini:

- Associate Editor per European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine
- Membro della Giuria della Conferenza nazionale di consenso la riabilitazione assistita da robot e dispositivi elettromeccanici per le persone con disabilità di origine neurologica ("Cicerone") promossa da SIMFER e SIRN
- Faculty member della 3° European R2S2 Robotic Rehabilitation Summer School (2021) "Pediatric rehabilitation activities with the use of technologically advanced and robotic equipment"

Michela Goffredo:

- Partecipante del gruppo di lavoro "1 - Classificazioni dei dispositivi" della Conferenza nazionale di consenso la riabilitazione assistita da robot e dispositivi elettromeccanici per le persone con disabilità di origine neurologica ("Cicerone") promossa da SIMFER e SIRN.
- Faculty member della 3° European R2S2 Robotic Rehabilitation Summer School (2021) "Pediatric rehabilitation activities with the use of technologically advanced and robotic equipment".

Sanaz Pournajaf:

- Faculty member della 3° European R2S2 Robotic Rehabilitation Summer School (2021) "Pediatric rehabilitation activities with the use of technologically advanced and robotic equipment".

Area di Riabilitazione Cardiovascolare Telemedicina e e-Health

- Policlinico Umberto I, Prof. Francesco Fedele e Prof. Carlo Gaudio: attività di ricerca in ambito cardiovascolare - Ipertensione polmonare
- St. George's Hospital, London, Prof. Juan-Carlos Kaski: attività di ricerca in ambito cardiovascolare - Angina micorvascolare, scompenso cardiaco, studio della funzionalità vascolare
- Brompton Hospital, London, Prof. Peter Collins: attività di ricerca in ambito cardiovascolare Angina microvascolare

- IRCCS Clinica del Lavoro e della Riabilitazione - Fondazione Salvatore Maugeri, Dott.ssa Simonetta Scalvini, Dott. Michele Vitacca: attività di ricerca in ambito cardiovascolare
- IRCCS S. Donato Milanese, Dott. Roberto Tramarin: attività di ricerca in ambito cardiovascolare
- IRCCS S. Raffaele Milano, Prof. Alberto Margonato e Prof. Alberto Cappelletti: attività di ricerca in ambito cardiovascolare

Area di Ricerca Riabilitazione Cardiovascolare, Telemedicina, e-Health

Giuseppe Rosano:

- President elect Heart Failure Association of the European Society of Cardiology
- Fellow of the Hellenic Society of Heart Failure

Area di ricerca Biobanca – Biotecnologie Avanzate e Biomarker Discovery

Fiorella Guadagni:

- Consultant to Laboratory of Tumor Immunology and Biology – Center for Cancer Research – National Cancer Institute - National Institute of Health (NIH) - U.S. Department of Health and Human Services.
- Membro del Comitato di Indirizzo Corso di Laurea in “Digital Health and Bioinformatic Engineering”, Dipartimento di Ingegneria dell’Informazione ed Elettrica e Matematica Applicata (DIEM), Università di Salerno
- Referente dell’IRCCS San Raffaele nel Tavolo Biobanche degli IRCCS della Rete Cardiologica.
- Referente dell’IRCCS San Raffaele nel Working Group 3 – EMR interazione tra Cartella Clinica Elettronica e programmi di gestione di dati clinici a fini di ricerca nell’ambito del progetto Health Big Data
- Referente dell’IRCCS San Raffaele nel Tavolo Catalogo Materiale Biologico degli IRCCS (Ministero della Salute)

Laboratorio Microbiologia delle Patologie cronico-degenerative

Carla Prezioso:

- Nell’ambito del concorso per il conferimento dei “PREMI GIOVANI DSPMI 2020-2021” indetto dal Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive (DSPMI), Università degli Studi “La Sapienza”, borsa premio per le attività di ricerca svolte nell’ambito del DSPMI (Roma, 9 giugno 2021).

Laboratorio di Immunopatologia Sinaptica

Alessandra Musella:

- Membro del Comitato Scientifico dell’associazione Brayn, Brainstorming Research Assembly for Young Neuroscientists

Laboratorio di Neurofisiologia Sperimentale

Barbara Picconi:

- Nell'ambito dell'istituzione degli Istituti Virtuali IRCCS Nazionali, di Task Leader dell'Istituto Virtuale Parkinson organizzando le attività di ricerca preclinica di 12 tra i più importanti IRCCS Nazionali Italiani nell'ambito delle malattie neurodegenerative e per la raccolta dati dai principali modelli sperimentali in vitro ed in vivo di malattia di Parkinson.

Laboratorio di Patologia Molecolare, Cellulare e Ultrastrutturale

Marco Tafani:

Guest Editor per Cancers (MDPI). 1) Expert Grant Referee per il Ministero della Salute e per Hong Kong Research Grant Council e National Science Centre, Poland.2) Reviewer le seguenti riviste scientifiche: Autophagy, Cell Death and Disease, PLoS One, Journal of Cellular Physiology, Brain Research, Cancer Science. 3) Editor per Cancer Research Journal, Science Publishing Group.

Sansone Luigi:

Reviewer le seguenti riviste scientifiche: Journal of cellular Physiology; BioFactors; Ageing research reviews; European journal of cell biology; medical science monitor, Antioxidant.

Federica Limana:

- Reviewer per: Agence Nationale della Recherche (ANR) France, National Science Center in Poland, Università Sapienza di Roma; European Journal of Heart Failure, Scientific Reports, Pharmacological Research, Journal of Molecular Medicine, Theranostics, Journal of Cellular Physiology, International Journal of Cardiology, Journal of Cellular and Molecular Medicine, Stem Cells, Journal of Cell Death & Disease, Frontiers in Immunology.
- Editor per Plos ONE, Stem Cell Therapy and Research e Pharmacology & Therapeutics.

Matteo Antonio Russo:

- Editor per: Immunity and Aging, Functional Neurology, Neuroscience and Medicine, J. of Carcinogenesis and Mutagenesis, J. of Cancer Science and Therapy, Prevention and Research, The Scientific World Journal, Open Journal of Pathology, Pathology Discovery, European Medical Journal. Reviewer per: ARS, Cancer Res, Oncogene, Biomedicine & Pharmacotherapy, Frontiers in Biosciences, Histopathology, J Molecular Medicine, J Biological regulators and homeostatic agents.

STRUTTURA ORGANIZZATIVA IRCCS SAN RAFFAELE PISANA

L'assetto organizzativo del network San Raffaele 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 <u>Connectivity</u> 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 Freseigna, 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.

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

D. Obiettivi globali

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

E. Risultati attesi e misurabili nel triennio

- Identificazione di nuovi marcatori di diagnosi e di progressione traslazionale per le malattie disabilitanti.
- Identificazione di nuovi modelli nutrizionali e farmacologici preclinici specifici per la riabilitazione nelle malattie disabilitanti.

- Identificazione di modelli integrati genotipo-fenotipo-ambiente favorenti/sfavorenti il risultato riabilitativo.

Linea 2: Clinica della disabilità.

A. Descrizione

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

B. Premessa/Background

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

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

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

C. Razionale

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

D. Obiettivi globali

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

E. Risultati attesi e misurabili nel triennio

- Messa a punto di nuovi e più efficaci sistemi di valutazione clinica e tecnologica.

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

Linea 3: Innovazione in medicina e riabilitazione.

A. Descrizione

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

B. Premessa/Background

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

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

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

C. Razionale

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

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 BIOBANCA – BIOTECNOLOGIE AVANZATE E BIOMARKER DISCOVERY

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 diagnostico-terapeutico-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 poter mettere a punto e validare nuovi strumenti decisionali di supporto ai professionisti sanitari per la pianificazione del management clinico di pazienti con malattie croniche complesse.

Il progetto, in coerenza con i programmi Nazionali e Comunitari, dedica una forte attenzione alla digitalizzazione dei settori della salute e della ricerca biomedica attraverso la conversione delle nuove conoscenze/tecnologie in processi e servizi innovativi, che offrano opportunità ai

professionisti sanitari per una migliore pianificazione del management clinico e, al tempo stesso, contribuiscano al miglioramento della vita dei cittadini.

I campioni biologici di pazienti con fattori di rischio o patologie croniche disabilitanti sono adeguatamente preservati nella BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM). Le procedure di processazione e stoccaggio dei campioni biologici sono state strutturate in base a protocolli standard di riferimento e sono diversificate a seconda dei campioni che vengono trattati. In particolare, la 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.

A fine di implementare il patrimonio informativo del Data Lake della BioBIM e, in ultima analisi, sviluppare soluzioni integrate per il processo decisionale medico, si è resa necessaria l'implementazione delle tecnologie da utilizzare per le sorgenti dati non strutturate. Negli ultimi anni, infatti, si è assistito in ambito sanitario ad un processo di dematerializzazione della produzione documentale; se in una prima fase l'obiettivo è stato principalmente quello di digitalizzare il contenuto delle cartelle cliniche in formato cartaceo per ottenere una copia informatizzata delle stesse (Electronical Medical Records – EMR), col tempo l'attenzione si è spostata sulla possibilità di gestire cartelle cliniche nativamente digitali (Electronical Health Records – EHR). Spesso però l'utilizzo di EHR è paragonabile a un repository, dove i dati e le informazioni vengono inserite in forma testuale e spesso descrittiva, mentre la parte relativa ad esami e valori sono caricati tramite referti provenienti dalla diagnostica. Ne consegue che, accanto ad informazioni organizzate in campi strutturati (per esempio nel caso di valori dei parametri vitali rilevati a intervalli regolari o scale di performance clinica), persistano informazioni non strutturate né standardizzate, che le rende in gran parte inaccessibili ai fini statistici e/o richiede una consultazione più o meno generale o puntuale, e quindi onerosa, da parte del clinico.

Per superare questa contraddizione nel contesto di questo progetto, si è deciso di ricorrere alle tecniche di Intelligenza Artificiale (AI) utili alla comprensione del testo e della semantica dello stesso, relativamente ai campi testuali contenuti nel diario clinico. A tal fine, è stata avviata una estrazione dati mediante tecniche di AI sulle cartelle cliniche di alcuni pazienti che avevano fornito il consenso informato scritto a partecipare al progetto BioBIM. In particolare, è stata effettuata una estrazione dati mediante tecniche di Natural Language Processing (NLP) e Deep Learning (DL) attraverso l'implementazione di una pipeline semantica atta alla comprensione e alla disambiguazione del testo, calata nel dominio clinico. La componente principale di questa tecnica – composta, tra l'altro, dalla lemmatizzazione, tokenizzazione ed eliminazione delle stopword – è stata basata su un modello di apprendimento automatico (ML) addestrato per l'estrazione dal testo non strutturato delle cartelle di entità nominali cliniche (NER – Named Entity Recognition) di varia natura: malattie, sintomi, medicinali, posologie, dati sensibili. L'arricchimento operato mediante queste analisi ha consentito di identificare entità e concetti e finalizzarli alla classificazione dei pazienti, ad analisi statistiche e all'information fusion clinico, con un impatto tecnologico innovativo legato all'implementazione delle metodologie e strumenti di data management. Per la validazione del sistema, sono stati condotti alcuni “use cases” disegnati al fine di definire alcuni modelli panel fixed effects per individuare:

a) l'effetto delle terapie di nutrizione artificiale sul livello dello stato di salute. Il caso d'uso ha previsto l'estrazione delle informazioni sulla nutrizione artificiale (enterale o parenterale - dato

contenuto in forma testuale nel diario clinico) e la loro correlazione con l'indice di Karnofsky (una scala numerica di performance clinica indicativa dello stato di salute del paziente) il cui dato strutturato è presente in una sezione dedicata nella cartella clinica.

b) La correlazione tra lo stato di ansia/depressione (misurato attraverso la scala ESAS - Edmonton Symptom Assessment System) in relazione alla terapia farmacologica (benzodiazepine e antidepressivi) e/o al supporto psicologico.

Un terzo caso d'uso ha previsto l'estrazione e la rielaborazione basata su tecniche NLP/DL dei dati relativi agli aspetti emotivi e relazionali inerenti alla dimensione psicologica in concomitanza a fattori esterni (esempio, visite dei famigliari) in un'analisi finalizzata alla comprensione e miglioramento del benessere del paziente.

I dati ottenuti hanno dimostrato non solo la possibilità di estrarre dati testuali dal diario clinico e di metterli in correlazione con dati strutturati presenti all'interno della cartella clinica digitalizzata, ma anche la possibilità di estrarre conoscenza sulla dimensione psicologica del paziente e i bisogni ad essa correlati. I risultati conseguiti sono stati presentati nel corso del Convegno su "Umanizzazione in Medicina" tenutosi a Roma il 25 novembre 2021 e saranno oggetto di una pubblicazione scientifica attualmente in fase di sottomissione.

Grazie alla possibilità di ampliamento della casistica, offerta dalla Banca Biologica Interistituzionale Multidisciplinare (Progetto BioBIM) dell'Istituto, e alle numerose collaborazioni attive nell'ambito di progetti Nazionali ed Europei, si prevede di ampliare gli studi in corso allo scopo di implementare nuovi strumenti per il management clinico, la realizzazione di percorsi diagnostico-terapeutici assistenziali e/o nell'applicazione di programmi terapeutici/riabilitativi individuali in pazienti con patologie croniche complesse.

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 dell'Area di Ricercera, si ipotizza che i pazienti con emicrania abbiano un maggior rischio di eventi vascolari cerebrali. In passato è stato dimostrato che la presenza di polimorfismi della 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 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, Roma. 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)). E' 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 nella nostra razza. 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 complessivamente 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 patients (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.

Lo studio dimostra un'associazione tra alcuni aplotipi relativi a SOD e LTA e presenza di WMHs in pazienti affetti da emicrania come a conferma che in questi pazienti ci sia più frequentemente un pattern pro-infiammatorio o pro-ossidativo nei pazienti che presentano le lesioni cerebrali rispetto a quelli che non ne hanno.

Laboratorio di Neurobiologia Molecolare e Cellulare

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

Oggi le malattie neurodegenerative come il morbo di Alzheimer e la malattia di Parkinson vengono diagnosticate clinicamente mediante l'utilizzo di test cognitivi neuropsicologici, approcci basati su neuroimaging (MRI e PET) e punture lombari al fine di rilevare i biomarcatori dai campioni di liquido cerebrospinale (CSF) raccolti. La PET risulta essere un metodo a bassa invasività, ma i cui costi elevati rappresentano il suo limite principale. D'altra parte, la raccolta dei campioni di liquido cerebrospinale, oltre a richiedere tempistiche lunghe, è un approccio particolarmente invasivo. Nel laboratorio di neurobiologia si sfrutta la tecnologia microfluidica, combinata con metodi di chimica diretta per la riprogrammazione di fibroblasti cutanei in neuroni (Neuroni chimicamente indotti, ciNs) come una nuova strategia per il rilevamento rapido su piccola scala di marcatori neuropatologici (β -amiloide, fosfo-TAU, α -sinucleina) di diverse malattie neurodegenerative.

Infatti, i ricercatori hanno constatato che i ciNs su chip esprimono i tipici marcatori neuronali tra cui Tubulina β III e MAP2 e, soprattutto, mostrano la presenza di proteine aggregate, e di mitocondri danneggiati, solo quando derivati da colture di fibroblasti di pazienti, rispetto ai soggetti sani.

Il presente progetto si propone:

1. La preparazione di chip per microfluidica in polidimetilsilossano (PDMS).
2. La 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. L'applicazione del transdifferenziamento chimico in sistemi di microfluidica (chip), dei protocolli identificati come più efficaci nella riprogrammazione cellulare.
4. La caratterizzazione funzionale dei ciNs derivati dai nuovi protocolli mediante tecniche elettrofisiologiche e di microscopia elettronica.

Le grandi potenzialità di questa tecnologia sono rappresentate dalla messa a punto di 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). Si candida, inoltre, ad offrire la possibilità di una sperimentazione farmaceutica senza l'uso di animali.

I fibroblasti umani sono stati mantenuti in DMEM integrato con 10% di siero fetale bovino, GlutaMAX 1mM, amminoacidi non essenziali 0,1mM e penicillina/streptomina a 37°C CO₂ al 5%. Astrociti primari sono stati isolati da cervelli di topi neonati 1 giorno dopo la nascita. Gli esperimenti sugli animali sono stati condotti in conformità con le normative istituzionali nazionali in materia (protocollo nr.90/2016-PR). Le cellule di glia, al 3-4 passaggio, sono state piastrate in piastre da 24 pozzetti contenenti vetrini copri oggetto (12mm) precedentemente rivestiti di Matrigel diluito in DMEM/F12 (1:40). In larga-scala, in genere vengono piastrate 200.000 cellule gliali per generare un monostrato uniforme da utilizzare per la semina di fibroblasti indotti chimicamente il mezzo di induzione neuronale, costituito da DMEM/F12 (1:1) integrato con 1% N-2, 2% B-27, 40ng/mL GDNF, 20ng/mL fattore di crescita 1 insulina simile, 1mM GlutaMAX e 100M cAMP. In piccola-scala, i fibroblasti umani vengono coltivati su chip rivestito con Matrigel a 80 cellule/mm². Per 24h le cellule sono mantenute in mezzo per fibroblasti, al termine delle quali il mezzo viene completamente sostituito con il mezzo di induzione neuronale.

Sia a larga sia a piccola scala i cambiamenti nella morfologia delle cellule differenzianti nelle varie fasi di induzione sono stati osservati mediante microscopia a contrasto di fase.

Le cellule sono state fissate per 10min in paraformaldeide al 4% in PBS contenete saccarosio al 4%, permeabilizzate con Triton X-100 allo 0,2% in PBS per 3 minuti, lavate 3 volte per 5 minuti con PBS. Tutti gli anticorpi sono stati diluiti in PBS contenete 3% di albumina di siero bovino e 0,05% di Tween-20 e incubati 1h a 37°C. Sono stati utilizzati i seguenti anticorpi primari (60 min, 37°C): TUB III (1:500, MAB1637 Rb, Millipore, Burlington, MA, USA e topo NB110-57611, Novus Biologicals, Littleton, CO, USA), TAU (1:200, coniglio MAB10417, Millipore, Burlington, MA, USA), MAP2 (1:250, coniglio AB5622, Millipore, Burlington, MA, USA) e (topo M4403, Sigma-Aldrich, Milano, Italia), NeuN (1 :250, ABN78 coniglio, Millipore, Burlington, MA, USA), Synapsin I (1:250, AB1543 Rb, Millipore, Burlington, MA, USA), DCX (1:300, sc-8066 capra, Santa Cruz), - Amiloide 4G8 (1:200, SIG39220 topo, Millipore, Burlington, MA, USA), -Amiloide 1-40/42 (1:200, AB5076 coniglio, Millipore, Burlington, MA, USA), GFAP (1:500, AB5804 coniglio, Sigma-Aldrich, Milano, Italia), - Sinucleina (1:250, sc-12767 topo, Santa Cruz, Dallas, TX, USA), fosfo-TAU T205 (1:200, ab4841 coniglio, Abcam, Cambridge, Regno Unito), fosfo-TAU S396 (1:200, sc-101815 coniglio, Santa Cruz, Dallas, TX, USA), TDP43 (1:200, 6H6E12 topo, Proteintech). Dopo l'incubazione e il risciacquo degli anticorpi primari, i coprioggetti sono stati incubati con anticorpi secondari marcati con un fluoroforo: IgG anti-topo, anti-coniglio o anti-capra alexa-488, -555 o -647 (Molecular Probes, Millipore, Burlington, MA, USA) , che sono stati utilizzati in diverse combinazioni a seconda degli anticorpi primari. I nuclei con colorazione di contrasto Hoechst 33258 o con propidio ioduro dopo il trattamento con RNasi. I vetrini coprioggetto sono stati montati nel supporto antifade Prolong Glass e i campioni sono stati osservati per la prima volta con un microscopio a fluorescenza Nikon Eclipse 80i, dotato di un sistema VideoConfocal (ViCo).

I ciNs di controllo, AD e PD a 17 DIV piastrati su glia murina, sono fissati in gluteraldeide 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 procede 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, sono tagliati con ultramicrotomo ottenendo sezioni da 70nm. Le sezioni ottenute vengono colorate ed infine osservate al microscopio elettronico a trasmissione (JEOL1400P).

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).

Mediante l'utilizzo di questa metodica si è constatato, in microscopia a fluorescenza, che su chip i ciNs esprimono i tipici marcatori neuronali tra cui Tubulina β III e MAP2 e doublecortina (DCX); inoltre, è stata osservata la presenza di proteine aggregate, quali la Beta-Amiloide e Alfa-Sinucleina in ciNs di pazienti AD e PD, oltre alla forma iperfosforilata della proteina Tau. Con l'utilizzo della microscopia elettronica a trasmissione si è visto un significativo aumento di mitocondri danneggiati (fissione, fusione) nei ciNs dei pazienti AD e PD rispetto a quelli sei soggetti sani.

E' stato così dimostrato che i neuroni chimicamente riprogrammati su dispositivi microfluidici rappresentano uno strumento non invasivo, conveniente e ad alto rendimento per la diagnosi di malattie neurodegenerative come AD e PD, fornendo così una procedura preziosa per la scoperta di nuovi biomarcatori, studi sui meccanismi patogenetici e la futura progettazione di strategie terapeutiche personalizzate.

Il progetto di ricerca procederà anche nel 2022.

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.

I risultati che si auspicano i ricercatori di raggiungere mediante elettrofisiologia sono relativi alla possibilità di evidenziare una capacità funzionale dei ciNs in microfluidica e di poter verificare una diversa funzionalità tra ciNS in soggetti sani, rispetto a pazienti AD, PD. Grazie alla microscopia elettronica a scansione vedere differenze morfologiche, (neuriti, spine, bottoni neurali) tra ciNS dei pazienti AD e PD e dei soggetti sani.

Studio del ruolo antiapoptotico del complesso DNA-PK in un modello neuronale sottoposto a stress ossidativo

Lo stress ossidativo può indurre danno cellulare dovuto alla formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) un gruppo di molecole ad emivita breve che possono determinare danni al DNA e influire sulla via di risposta al danno del DNA (DDR). Le forme più gravi e pericolose di lesione sono le rotture al doppio filamento del DNA (DSBs), e vengono 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 anti-apoptotico nella risposta cellulare allo stress ossidativo. Nel nostro progetto di ricerca, è stato indagato il ruolo della DNA-PK durante lo stress ossidativo e se questo suo ruolo risulti indipendente dalla sua funzione di riparazione del DNA. Per questo scopo ci si è avvalsi di un modello di stress ossidativo H₂O₂-mediato in cellule di feocromocitoma di ratto (cellule PC12), una nota linea cellulare neuronale, spesso utilizzata nello studio degli effetti dello stress ossidativo. 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 rimane ancora da chiarire il meccanismo molecolare con cui la DNA-PK agisce in risposta allo stress ossidativo.

L'obbiettivo che ci si è posti è 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 proliferanti e differenziate, per osservare l'effetto del complesso della DNA-PK in seguito alla formazione di ROS e separarlo dal suo ruolo di riparazione dei DSBs.

I dati del Laboratorio dimostrano chiaramente che l'espressione e l'attività del complesso DNA-PK sono stimolati dallo stress ossidativo.

I ricercatori hanno dimostrato che:(i) il trattamento con H₂O₂ delle cellule PC12 induce una sovraespressione dei livelli delle proteine del complesso DNA-PK; (ii) l'inibizione dell'attività chinasi della DNA-PK, mediante l'utilizzo del inibitore selettivo per la DNA-PK NU7026, provoca un aumento dell'apoptosi senza influenzare la riparazione del DNA; (iii) 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 Not Homologous End Joining (NHEJ), l'inibizione dell'attività del DNA-PK provoca un accumulo di danni al DNA che porterà alla morte cellulare; (v) 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.

Cultura e trattamento cellulare

Cellule PC12 sono state coltivate in terreno RPMI 1640 (invitrogen) integrato con 10% di siero di cavallo (HS, Euroclone), 5% di siero bovino fetale (Euroclone), 2 mM L-glutammina (BioWest), 100 unità/ml di penicillina e 100 µg/ml di streptomina (BioWest). Le cellule sono state coltivate su piastre per colture tissutali da 100 mm e 35 mm di diametro (Falcon™, BD Biosciences) e mantenute in un incubatore a 37 °C, atmosfera satura di acqua e 5% CO₂. All'80-90% di confluenza delle cellule (fattore di divisione 1:4), le cellule sono state staccate mediante tripsina (0,025% tripsina-EDTA). Le cellule sono state raccolte dopo la tripsinizzazione e centrifugate.

Per indurre la differenziazione neuronale, sono state coltivate cellule PC12 su Matrigel nel mezzo RPMI-1640 integrato con 5% HS, 2% FBS e contenente penicillina-streptomina 100 ng/ml, NGF (fattore di crescita dei nervi di topo 2,5 S grado I, Alomone Labs) per 7-9 giorni. Il terreno è stato sostituito ogni 2 giorni. L'H₂O₂ è stata validata testando diverse concentrazioni come modello di danno da stress ossidativo. La vitalità cellulare è stata valutata per determinare la concentrazione ottimale di H₂O₂. Nel modello, 0,3 mM H₂O₂ era considerata la migliore concentrazione per esperimenti ossidativi. L'inibitore della DNA-PK NU7026 (Calbiochem) è stato diluito a 7,1 mM e utilizzato per il trattamento cellulare a concentrazione finale 10 µM. L'insulina è stata acquistata da Sigma-Aldrich e utilizzata a concentrazione finale di 100 nM per diverse incubazioni (10–30 min).

Le concentrazioni degli estratti proteici derivanti da culture cellulari sono stati sottoposti determinati mediante il kit acido bicinconinico (Micro BCA, Pierce). Gli estratti proteici di uguale concentrazione sono stati bolliti per 5 minuti in Tampone Laemmli (50 mM Tris-HCl, pH 6,8, 2% SDS, 10% glicerolo, 0,1% blu di bromofenolo, 50 mM DTT) e separati per SDS-PAGE (5% poliacrilammide per DNA-PKcs, 10% per Ku70, Ku86, AKT β-actina e β-tubulina). Le proteine successivamente sono state trasferite, mediante un campo elettrico, su membrane di nitrocellulosa (Hybond™ C-extra, Amersham Biosciences, Regno Unito limitato) a 16h a 30 V costanti a 4 ° C per la DNA-PKcs e 100 V costanti per 1 h a 4 ° C per le altre proteine analizzate. Le membrane sono state bloccate 1 h a temperatura ambiente (RT) con 10% (p/v) di latte in soluzione TBS-T (tampone bloccante, 0,1% Tween20 in NaCl 1,3 M, KCl 200 mM, Tris-HCl 250 mM, pH 7,5) e incubate per una notte a 4 ° C con anticorpi primari e poi con l'appropriato anticorpo secondario coniugato, con perossidasi di rafano per 1 h a temperatura ambiente. Le bande immunoreattive sono state rilevate dal sistema di chemiluminescenza (EuroClone). Sono stati utilizzati i seguenti anticorpi primari: Mouse anti-DNA-PKcs Ab-4 1:400 (NeoMarkers MS- 423-P); Goat anti-Ku70 1:400 (Santa Cruz Biotechnology sc-1486); Goat anti-Ku86 1:500 (Biotecnologia di Santa Cruz sc-1484); Rabbit anti AKTtotale 1:1000 (Cell Signaling CST-9272); Rabbit anti-AKT pospho Ser-473 1:1000 (Cell Segnalazione CST-9271 S); Rabbit anti-AKT pospho Thr-3081:1000 (segnalazione cellulare CST-9275 S); Mouse anti-β-Actina 1:1000 (Sigma A3853); Mouse anti-β-tubulina 1:1000 (Sigma T8328); Mouse anti-γH2AX 1:1000 (Millipore (Ser139), clone JBW301); Rabbit anti-Caspase3 1:1000 (Segnalazione cellulare CST-9662); Rabbit anti-PARP-1 1:1000 (Cell Segnalazione CST-9542); Rabbit anti-ERKtotale 1:1000 (Cell Segnalazione CST-9102) e Rabbit anti phospho-ERK

(p42 e p44) 1:1000 (Cell Signaling CST-9101) in TBS-T contenente 2 o 5% di latte per 2 h o per tutta la notte a 4 °C. Dopo tre lavaggi da 10 minuti in TBS-T, le membrane sono state ibridate per 1 ora a temperatura ambiente con gli anticorpi coniugati: anti-Mouse IgG 1:100.000 (715-035-151) e anti-Rabbit IgG 1:100.000 (711-035-152) (Jackson ImmunoResearch), IgG anti-Goat 1:500.000 (sc-2768) (Santa Cruz Biotechnologie) sono stati usati come anticorpi secondari, diluiti in TBS-T contenente il 2% di latte e lavato accuratamente con TBS-T. Le bande sono state scansionate e l'analisi densitometrica è stata eseguita utilizzando il software ImageQuant (GE Healthcare). Le proteine caricate sono state normalizzate rispetto ad anti- β -Actina o β -tubulina.

L'analisi di immunofluorescenza è stata eseguita su cellule PC12 proliferanti e differenziate cresciute su vetrini coprioggetto rivestiti di matrigel, fissate con tampone fosfato contenente 4% paraformaldeide e permeabilizzate con 0,2% Triton X-100 per poi essere processate. Anti-MAP2 (1:500, Sigma) e anti- γ H2AX 1:500 (Millipore (Ser139), clone JBW301) sono stati usati come anticorpi primari mediante incubazione di 1 h a 37 °C in 1X PBS contenente lo 0,05% di Tween 20 e 3% BSA, seguita da un'incubazione di 30 minuti a 37 gradi centigradi con anticorpi secondari (Alexa 488, Alexa 568, Molecular sonde). I nuclei sono stati colorati con Hoechst e i campioni sono stati montati su vetrini e immersi in un montante di glicerolo anti-dissolvenza. Per il rilevamento delle cellule apoptotiche, sono stati contati i nuclei picnotici e calcolata la percentuale sul numero totale di celle/campo (obiettivo 10X). Immagini sono state acquisite con un Eclipse 80i Nikon Fluorescence Microscopio (Nikon Instruments, Amsterdam, Paesi Bassi).

Ciclo cellulare e apoptosi mediante analisi al FACS

Per l'analisi del ciclo cellulare le cellule PC12 sono state dissociate meccanicamente e risospese in tampone di Nicoletti, contenente 0,1% citrato di sodio, 10 mM NaCl, 0,1% Triton X-100, 200 mg/mL di ioduro di propidio (PI) e 200 mg/mL di RNasi A. Dopo 30 minuti di incubazione a temperatura ambiente le cellule sono state acquisite con un citometro a flusso FACSCanto (BD Biosciences).

Poichè è stato precedentemente 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 ossidativo, provocano la morte delle cellule neuronali mediante la soppressione della funzione anti-apoptotica della DNA-PK, contribuendo al processo neurodegenerativo.

Laboratorio di Biochimica dell'Invecchiamento

Identificazione di determinanti cellulari e molecolari di malattia o di risposta alle terapie in pazienti affetti da patologie degenerative

La funzionalità del sistema nervoso centrale è garantita dal mantenimento dell'omeostasi metabolica e funzionale dei tessuti periferici. In particolare, il bilanciamento energetico/metabolico sistemico è garantito da organi come il fegato e il tessuto adiposo; quest'ultimo, insieme ai muscoli e soprattutto al sistema immunitario, è anche coinvolto in processi regolatori di segnalazione mediati da citochine e vescicole circolanti. 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, in particolare fegato e tessuto adiposo, è stato fortemente associato al corretto funzionamento anche del sistema nervoso centrale, grazie alla secrezione di segnali metabolici e citochimici. L'identificazione e la

caratterizzazione dei meccanismi cellulari alla base della comunicazione tra sistema nervoso centrale e 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, sia genetiche che associate all'invecchiamento.

Il progetto intende studiare i fattori coinvolti nei processi di invecchiamento e neurodegenerazione, focalizzando l'attenzione sulla regolazione dello stress ossidativo, del metabolismo e dell'epigenetica.

Si intende studiare inoltre le alterazioni dell'omeostasi del tessuto adiposo ed epatico con ricadute metaboliche sulla bioenergetica, stress ossidativo e infiammazione di tessuti periferici.

Lo studio intende individuare nuovi meccanismi fisiopatologici per ampliare le prospettive terapeutiche/diagnostiche 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.

Cellule e trattamenti: Sono utilizzate cellule di preadipociti bianchi (3T3-L1) e bruni (T37i), mioblasti murini (C2C12), linee macrofagiche murine e umane (Raw264.7; THP-1), linee microgliali (BV2) e cellule immortalizzate (HuS-E/2, Hek293) e trasformate (HepG2, Hep3B, HeLa) 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, e con il funzionamento di organelli coinvolti nei processi metabolici, in particolare mitocondri e lisosomi.

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, LAMP2, 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.

Gli adattamenti metabolici delle cellule sono fondamentali oltre che per i processi fisiopatologici in risposta alla disponibilità di nutrienti, anche per rispondere all'esposizione a farmaci, tra cui quelli usati per la riabilitazione a livello cellulare. Sede principale di regolazione metabolica è il mitocondrio, dove convergono tutti i tipi di catabolismo delle biomolecole in condizioni aerobiche. In particolare, l'utilizzo dei lipidi è strettamente legato a linee cellulari trasformate sottoposte ad aumento del catabolismo lipidico. E' stato dimostrato che la risposta cellulare e metabolica che ne consegue è direttamente collegata alla produzione di ROS. Un aumento di specie reattive dell'ossigeno (ROS) in determinati contesti può essere percepito come una carenza di ossigeno attivando quindi una risposta pseudo-ipossica mediata da HIF1alfa che tende a ristabilire l'omeostasi andando a diminuire la fonte stessa di ROS attraverso la degradazione selettiva dei mitocondri tramite autofagia (mitofagia) (Castelli S. et al J Exp Clin Cancer Res.; Castelli S. et al. Cancers). La rimozione controllata di organelli malfunzionanti così come di aggregati proteici che possono indurre tossicità (molto spesso riscontrati nelle patologie neurodegenerative vincolato a vie metaboliche mitocondriali e per questo motivo fortemente connesso con quei meccanismi che governano il giusto equilibrio tra la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) mitocondriali e le difese antiossidanti. Le specie reattive dell'ossigeno, se non ben tamponate, concorrono a determinare l'insorgere di patologie metaboliche, neurodegenerative e favoriscono

l'invecchiamento. La caratterizzazione dei processi che stanno alla base della regolazione lisosomiale risultano quindi fondamentali per riuscire a controllare l'omeostasi cellulare. In tale contesto abbiamo identificato che la via di segnalazione della chinasi JNK è coinvolta nella stabilità dei lisosomi contribuendo a mantenere elevati i livelli della proteina strutturale lisosomiale LAMP2a (Desideri E. et al. Cell Death Discov.). Altri studi hanno permesso di identificare/proporre alcune strategie che possono contribuire a migliorare la diagnosi di disfunzioni mitocondriali attraverso microscopia a fluorescenza (Bianchetti G. et al. Anal Chim Acta) o facilitare il delivery di farmaci verso le cellule endoteliali attraverso l'ingegnerizzazione delle vescicole extracellulari (Desideri E et al. Free Radic Biol Med.). In quest'ultimo caso va sottolineata l'importanza dell'endotelio come tessuto target in quanto rappresenta il veicolo sistemico di ossigeno e nutrienti per cui fondamentale per garantire il corretto funzionamento di organi periferici e centrali oltre ad essere frequentemente alterato durante l'invecchiamento. Un altro evento che si riscontra tipicamente con l'invecchiamento è la maggiore suscettibilità alle infezioni soprattutto a causa di una diminuita competenza del sistema immunitario. Un nostro studio ha identificato il ruolo di fattori di risposta allo stress guidati dal regolatore cardine HSF1 in seguito ad infezioni con il Poliomavirus BK, che si associa a sviluppo di tumore renale (Baldelli S. Oxid Med Cell Longev). In ultimo, data la forte connessione che esiste tra i cambiamenti epigenetici e l'alterazione trascrizionale nonché l'instabilità genomica tipici dell'invecchiamento, i nostri studi hanno permesso di identificare come in individui anziani e nel modello di invecchiamento precoce di sindrome di Down le regioni subtelomeriche, responsabili della stabilità terminale dei cromosomi vanno incontro ad un aumento di metilazione, che risulta molto meno accentuato nella progenie di individui centenari (Bacalini MG, et al Geroscience). In questo contesto, lo studio di molecole che possono favorire i processi di ipometilazione e in generale che possano contrastare processi epigenetici aberranti sono di fondamentale importanza per il disegno di nuove frontiere terapeutiche anti-aging e contro patologie neurodegenerative e neoplastiche (Giansanti M. et al. J Pharmacol Exp Ther).

Laboratorio di Citofluorimetria

Il sistema immunitario nella restitutio ad integrum: fenotipo e attività di linfociti, granulociti e monocito/macrofagi in corso di riabilitazione

Il sistema immunitario comprende organi, tessuti e cellule deputate alla difesa dell'organismo da patogeni, da trasformazioni maligne e in generale da ogni tipo di danno. Le differenti popolazioni leucocitarie svolgono ruoli diversi nelle varie fasi dell'infiammazione (attivazione- amplificazione- rimozione del patogeno- risoluzione), e l'aumento o la diminuzione di una particolare popolazione può avere un effetto positivo o negativo sul recupero della funzionalità del tessuto colpito. In particolare, le popolazioni che sono principalmente oggetto di questo studio sono: linfociti T e B (coinvolti nella progressione e nello spegnimento dell'infiammazione), monociti/macrofagi (coinvolti nell'infiammazione e nei meccanismi di rigenerazione tissutale), e dei granulociti (in particolare, gli eosinofili, primariamente coinvolti nelle patologie respiratorie croniche). Le analisi sono condotte su campioni di sangue non coagulato, che vengono marcati con anticorpi diretti contro molecole di superficie o intracellulari, e che sono coniugati a fluorocromi che ne permettono la rilevazione citofluorimetrica.

L'ipotesi alla base di questo progetto è che variazioni nella frequenza di specifiche popolazioni leucocitarie, individuate di volta in volta a seconda dei dati presenti in letteratura per ogni condizione patologica presa in esame, possano essere correlate alla risposta del paziente alle

terapie riabilitative e possano quindi rappresentare un fattore prognostico utile al medico nella definizione dei percorsi riabilitativi da intraprendere.

L'obiettivo del progetto è quello di valutare lo stato del sistema immunitario in corso di terapie riabilitative o preventive. In particolare, sono valutati:

- L'espressione dei recettori per gli oppioidi endogeni sulla membrana di cellule del sistema immunitario, in corso di fibromialgia (in collaborazione con il laboratorio di fisiologia e farmacologia del dolore).
- L'immunofenotipo di linfociti T, B e NK e di monociti di pazienti con emicrania episodica ad alta frequenza, in terapia chetogenica. La dieta chetogenica, che permette di ridurre in poco tempo il tessuto adiposo, potrebbe avere effetti rilevanti anche sull'infiammazione e sul tipo di linfociti circolanti (effettori o regolatori) (in collaborazione con il laboratorio di endocrinologia cardiovascolare e con l'Area Dolore Neuropatico e Cefalee)
- La risposta linfocitaria specifica contro la proteina Spike di Sars-Cov2 indotta dalla vaccinazione ad mRNA
- La composizione dell'infiltrato infiammatorio nelle alte vie aeree di pazienti con Broncopneumopatia cronica ostruttiva a rischio di infezione da patogeni opportunisti, in corso di riabilitazione respiratoria (in collaborazione con il laboratorio di microbiologia delle patologie degenerative e con la UO di riabilitazione respiratoria).

I prelievi ematici o di fluidi biologici arrivano al centro ricerche identificati con un codice alfa numerico. Le procedure di marcatura del campione sono effettuate secondo metodi standard e seguendo le indicazioni del produttore dei kit utilizzati. In particolare, per l'analisi del fenotipo gli anticorpi marcati con fluorocromi sono aggiunti direttamente a 50ul di sangue non coagulato e incubati per 15 minuti a temperatura ambiente. Successivamente si aggiunge una soluzione di lisi ipertonica che elimina gli eritrociti, lasciando integri i leucociti. Il campione così trattato è pronto per l'analisi citofluorimetrica. Per lo studio dell'infiltrato leucocitario infiammatorio nell'espettorato di pazienti con BPCO, il campione viene trattato con una soluzione di lisi per digerire la componente mucosa e lasciare le cellule intatte in sospensione. Per lo studio della risposta alla vaccinazione, le cellule mononucleate del sangue periferico saranno separate mediante centrifugazione su gradiente di densità e in parte utilizzate per l'esecuzione di un test in vitro (produzione di citochine in risposta alla stimolazione con peptidi derivanti da Spike) in parte saranno marcati direttamente con un peptide derivante da spike per l'identificazione delle popolazioni cellulari B specifiche per il virus Sars-Cov2. Sia la presenza della suddetta popolazione cellulare B sia la produzione di citochine saranno valutate tramite citofluorimetria.

- Lo studio dell'espressione dei recettori per gli oppioidi endogeni ha permesso di osservare che, nei pazienti analizzati, la popolazione di linfociti B che esprime il recettore MOR è inversamente correlata all'intensità di dolore provato dai pazienti. Lo studio è attualmente in corso per valutare se l'espressione dei recettori Mu nelle sottopopolazioni B, e per valutare il ruolo dei recettori per gli oppioidi endogeni nell'attività citotossica mediata dai linfociti NK. Anche questa parte dello studio è svolta utilizzando tecniche citofluorimetriche. Lo studio si svolge in collaborazione con il laboratorio di Fisiologia e farmacologia del dolore.
- Per lo studio del fenotipo linfocitario nei pazienti con emicrania in regime alimentare chetogenico sono stati analizzati i campioni ematici di pazienti arruolati nello studio "EMIKETO". Al 31/12/2021 sono stati analizzati campioni a diversi time points da 56 soggetti arruolati, per i quali è stata valutata la formula linfocitaria (T-B-NK) con particolare attenzione ai diversi tipi di linfociti T (naive, memory, Thelper, Tkiller, T regolatori).
- Per lo studio della risposta immunitaria alla vaccinazione ad mRNA contro Sars-Cov2 sono stati arruolati all'inizio del 2021 28 soggetti, tra i lavoratori sanitari, che avevano

completato il ciclo primario di vaccinazione (due dosi). Come gruppo di controllo sono stati reclutati 25 soggetti non ancora vaccinati e con un'anamnesi negativa per COVID. Il protocollo ha previsto l'esecuzione di due prelievi di sangue periferico ad 1 e 7 mesi dopo il completamento del ciclo vaccinale, per l'analisi della persistenza nel tempo di popolazioni cellulari B e T specifiche per il virus Sars-Cov2. I risultati ottenuti hanno mostrato che nell'86% per cento dei soggetti vaccinati dopo 7 mesi è identificabile una popolazione di linfociti B specifica per Spike, e che l'83% e il 79% degli individui vaccinati mostrava una risposta specifica verso Spike da parte dei linfociti T C4+ e CD8+, rispettivamente, dimostrando l'efficacia a lungo termine di questo nuovo tipo di vaccinazione.

- Per lo studio dell'infiltrato infiammatorio nell'espettorato di pazienti con BPCO (studio PATO-ESCAPE; in collaborazione con il Laboratorio di Microbiologia delle patologie cronico-degenerative) sono stati arruolati 5 pazienti dei quali sono stati analizzato l'espettorato e il sangue periferico per la ricerca di eosinofili attivati, linfociti T regolatori, neutrofili e monociti attivati. Lo studio è in fase di arruolamento e continuerà per tutto il 2022.

Analisi delle sottopopolazioni linfocitarie in pazienti con ictus ischemico: immunofenotipo e correlazione con l'outcome riabilitativo

Le malattie cardiovascolari rappresentano la prima causa di morte nel mondo; un terzo delle morti per patologie cardiovascolari è causato da ictus. L'ictus, che nella maggior parte dei casi (>80%) è ischemico, rappresenta una delle maggiori cause di disabilità acquisita. Diversi studi in modelli murini e in uomo hanno indicato un coinvolgimento del sistema immunitario nel danno al sistema nervoso centrale, ma ancora non c'è un trasferimento di queste conoscenze nella pratica clinica. Esiste un'associazione tra meccanismi dell'infiammazione acuta e lo stroke. La presenza di derivati della parete batterica come LPS determina l'attivazione del Toll like Receptor 4, espresso non solo su cellule immunitarie ma anche su piastrine e cellule endoteliali, contribuendo all'innescamento della cascata coagulativa. Per quanto riguarda l'infiammazione cronica, l'esempio più lampante di associazione tra infezioni, infiammazione cronica e stroke è dato dall'aterosclerosi. Ci sono diverse evidenze che mettono in relazione la presenza di biomarcatori dell'infiammazione (come CRP, IL-6, Lp-PLA2, SSA e ICAM-1) con l'aumento del rischio di ictus. Le cellule del sistema immunitario contribuiscono alla patogenesi dello stroke. L'equilibrio tra Th17 e T regolatorie è importante per controllare l'effetto deleterio dell'infiammazione in corso di ischemia. L'evento ischemico influisce sulla composizione del sistema immunitario, infatti dopo pochi giorni dall'insorgenza dell'ictus ischemico si osservano linfopenia e riduzione del volume della milza, funzionalità ridotta dei monociti, aumento delle citochine anti-infiammatorie e apoptosi dei linfociti.

L'ipotesi alla base di questo studio è che diversi fenotipi immunitari possano essere associati ad una migliore o peggiore risposta alla terapia riabilitativa. Se così fosse, un'analisi relativamente semplice da prelievo ematico potrebbe fornire al clinico informazioni utili ad instaurare una più efficace terapia riabilitativa, diversa a seconda dell'immunofenotipo riscontrato.

Obiettivo primario: valutazione dell'esistenza di una correlazione tra immunofenotipo ed outcome riabilitativo alla dimissione in pazienti sottoposti a trattamento riabilitativo intensivo dopo ictus ischemico.

Obiettivo secondario: definire in vitro l'esistenza di un meccanismo citotossico diretto dei linfociti su cellule neuronali e gliali.

I principali risultati attesi sono:

1. Identificazione di sottopopolazioni linfocitarie la cui frequenza possa essere associata alla risposta riabilitativa

2. Identificazione in vitro di meccanismi di danno cellulare neuronale mediati dai linfociti T dei pazienti.

Sono inclusi nello studio i pazienti con stroke ischemico afferenti al reparto di Riabilitazione Neuromotoria dell'IRCCS San Raffaele. I pazienti, dopo firma del consenso informato, sono sottoposti a prelievo di sangue venoso all'ammissione e alle dimissioni dal reparto. I campioni sono incubati con anticorpi diretti contro marcatori di lineage cellulare, coniugati con fluorocromi, secondo protocolli standard, e poi sono acquisiti ed analizzati al citofluorimetro LSR Fortessa X-20. Al 31/12/21 sono stati reclutati 29 pazienti ricoverati per ictus ischemico. Per questi pazienti è previsto un prelievo all'accettazione e un prelievo alle dimissioni. Sul prelievo viene effettuata una marcatura per identificare le principali popolazioni linfocitarie (T, B, NK) e due sottopopolazioni di linfociti Thelper (Th17 e Tregolatorie), il cui bilancio, se a favore dei linfociti Th17, è associato ad una prognosi peggiore. I risultati preliminari mostrano che, in seguito ai due mesi di ricovero per riabilitazione neuromotoria, la media della percentuale di linfociti CD4 diminuisce, e aumentano i linfociti NK. E' interessante notare una diminuzione dei linfociti Th17 che passano da un valore medio di 0.08% (sui CD4+) ad un valore di 0.02%. Questo potrebbe indicare un effetto antiinfiammatorio della terapia riabilitativa in pazienti con stroke ischemico.

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 eosinofila.. 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 certo fenotipo degli eosinofili possa essere associato ad una migliore o peggiore risposta alla terapia riabilitativa. Se queste ipotesi dovessero rivelarsi corrette, si otterrebbero dei nuovi marcatori di prognosi, che possano costituire per il medico uno strumento utile ad impostare una terapia personalizzata.

Obiettivo PRIMARIO dello studio:

Valutare la presenza di alterazioni del fenotipo degli eosinofili in corso di BPCO durante le esacerbazioni e in remissione.

Obiettivi SECONDARI dello studio:

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 prova

ad associare il fenotipo degli eosinofili alla risposta alla terapia riabilitativa. I pannelli molecolari identificati possono essere utilizzati come strumenti prognostici per identificare rapidamente pazienti che possano beneficiare di una terapia riabilitativa specifica.

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) sarà 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 sono incubati con o senza LPS, in presenza di BFA. Al termine dell'incubazione è effettuata 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 saranno acquisiti e analizzati al citofluorimetro Fortessa.

Nel corso del 2022 si prevede l'arruolamento di altri 6 pazienti con BPCO ricoverati per esacerbazione e di 10 pazienti con BPCO stabili, afferenti all'ambulatorio per visite di controllo. I prelievi di sangue ottenuti dai pazienti arruolati saranno analizzati per verificare la presenza di eosinofili attivati prima e dopo il trattamento riabilitativo.

Laboratorio di Fisiologia e farmacologia del dolore

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'iperalgisia, 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'iperalgisia (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 e identificare biomarcatori prognostici o terapeutici di dolore, per lo sviluppo di una mirata terapia in grado di sviluppare un programma personalizzato di riabilitazione.

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 è acetilato, identificando la sirtuina 3 (SIRT3) come enzima chiave nella regolazione del proteoma mitocondriale.

Si è 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 acuto e cronico utilizzando agenti farmacologici consolidati e innovativi (antiossidanti) per alleviare lo stress ossidativo correlato alla produzione di ROS.

Inoltre, ad oggi, la terapia con gli oppiacei è al centro di un lungo dibattito, a causa del loro duplice ruolo nell'alleviare il dolore cronico e allo stesso tempo indurre tolleranza e dipendenza. Il trattamento con gli 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.

Recentemente è stato osservato come un'eccessiva risposta infiammatoria svolga un ruolo chiave nella patofisiologia del dolore cronico e come diversi oppioidi o la diversa somministrazione di oppioidi inducano vari effetti sul sistema immunitario, quali la stimolazione immunitaria, 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).

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, che coinvolgerà sia animali che uomo, 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.
- Coinvolgere proteine target cellulari nel dolore cronico utilizzando agenti farmacologici consolidati e innovativi (antiossidanti) per alleviare lo stress ossidativo correlato alla produzione di ROS.
- Analizzare a livello qualitativo e quantitativo i recettori oppioidi sulla membrana dei linfociti di sangue periferico di animali e uomo, per valutare se possano essere identificati come marker idonei per lo sviluppo del dolore cronico.

I risultati attesi dallo studio sosterranno l'ipotesi secondo la quale la nitratura di proteine chiave, e la carbonilazione delle sirtuine, coinvolte nella regolazione dell'omeostasi della trasmissione del segnale, siano gli elementi chiave dell'azione citotossica dei radicali liberi, durante lo sviluppo ed il mantenimento del dolore sia acuto che cronico.

Risultati significativi dell'approccio tecnologico utilizzato e della ipotesi sostenuta potrebbero identificare nuovi pathways, che possono essere sfruttati, per esempio, nel trattamento con gli oppioidi o per la gestione del dolore di varia natura. L'ampia implicazione delle scoperte suggerisce che la nitrificazione 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 sarà utile a valutarne la loro possibile funzione di biomarcatori al fine di identificare una terapia personalizzata in pazienti che soffrono di dolore, utile anche per una migliore gestione del programma riabilitativo.

Il 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 utilizzato 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 ci si intende contribuire alla scoperta di nuovi approcci terapeutici che saranno finalizzati al miglioramento della qualità della vita e non solo per il trattamento di una specifica malattia.

Studio preclinico

Gli animali sono sottoposti a somministrazione di carragenina/oxaliplatino/paclitaxel, 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 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, sono associati analisi biochimiche per la misurazione dell'attività di enzimi target e per l'identificazione di biomarcatori periferici. Inoltre, viene esaminata la correlazione temporale tra la produzione dei prodotti della perossidazione lipidica, quali la malondialdeide (MDA), la nitrificazione e disattivazione di proteine target, come MnSOD, GLT1, GS.

Studio clinico

Vengono reclutati pazienti con diversa tipologia di dolore cronico con un'età superiore a 18 in grado di firmare il consenso informato. Sono esclusi dallo studio i pazienti che al momento dell'arruolamento sono in trattamento con oppioidi a causa degli effetti che essi potrebbero avere sui recettori oppioidi e sull'attività dei linfociti. Tutti i pazienti affetti da patologie con dolore cronico e le persone senza dolore vengono sottoposti ad una serie di esami clinici. Vengono, inoltre, proposti questionari sulle caratteristiche socio-demografiche, sulla durata del dolore, sulla presenza di altre patologie e sui trattamenti in corso a cui pazienti sono sottoposti. Il dolore clinico viene valutato tramite una scala numerica di valutazione (NRS) 0-10, con 0 per "nessun dolore" e 10 per "il peggior dolore immaginabile".

Viene prelevato il sangue periferico dei pazienti reclutati e le cellule mononucleate di sangue periferico (PBMC) vengono isolate mediante centrifugazione in gradiente di densità su Ficoll e

incubate con diversi anticorpi coniugati con fluorocromo, specifici per cellule B e natural killer (NK), in combinazione con l'anticorpo anti- μ Opioid Receptor (MOR).

Si provvede quindi a:

- Valutare il ruolo della sirtuina 1 e 5 associato all'azione degli antiossidanti naturali e sintetici nei diversi modelli di dolore acuto e cronico in animali.
- Validare la modulazione dei recettori oppioidi sulla membrana dei linfociti B e NK analizzando i pazienti con fibromialgia e osteoartrite ad un anno dalla prima valutazione.

E' stato dimostrato l'effetto protettivo dell'estratto polifenolico del bergamotto (BPF) nel dolore neuropatico indotto dai chemioterapici. In particolare, si è osservato che la somministrazione di BPF, 15 minuti prima dell'iniezione intraperitoneale di paclitaxel, ha migliorato le condizioni di dolore neuropatico, valutate misurando l'allodinia meccanica e l'iperalgia termica. Inoltre, si è osservato che la somministrazione di BPF è stata in grado di inibire la nitratura di MnSOD, responsabile dell'omeostasi del superossido, GS e GLT-1, responsabili della segnalazione glutamatergica. La prevenzione degli effetti nocivi dei ROS mediante l'impiego di antiossidanti naturali ha prevenuto lo sviluppo della neuropatia inibendo la condizione iperalgesica mediata da modificazioni post-trasduzionali dei residui tirosinici del sistema antiossidante endogeno e del sistema glutamatergico a livello del midollo spinale.

Infine, si è osservato come un'elevata assunzione di verdure, senza alcun intervento specifico, porta i pazienti con BPCO ad una maggiore probabilità di rispondere con successo alla riabilitazione. In particolare, si è dimostrato che 3 settimane di riabilitazione polmonare, in pazienti che con alto consumo di verdura, sono probabilmente troppo brevi per rivelare un miglioramento dello stress ossidativo e una riduzione del danno al DNA, ma sono abbastanza lunghe un miglioramento dello stato infiammatorio del paziente.

I risultati attesi da questo studio sosterranno l'ipotesi che la nitratura di proteine selettive e la carbonilazione delle sirtuine coinvolte nella regolazione dell'omeostasi siano un elemento chiave per l'azione citotossica dei radicali liberi durante lo sviluppo e il mantenimento del fenomeno del dolore cronico. Inoltre, lo studio della modulazione del recettore μ oppioide sulle cellule B e NK sia un metodo valido per la misurazione del dolore, aiutando a stabilire un approccio innovativo per un percorso terapeutico e riabilitativo su misura programma.

In sintesi, il progetto propone una soluzione innovativa con potenziale riduzione dei costi sociali sanitari. Un punto importante dello studio consiste nell'identificazione di nuovi target che potrebbero migliorare la conoscenza sull'iperalgia e l'allodinia indotta dal dolore cronico. Riducendo al minimo il dolore cronico non trattabile, riducendo la sofferenza e compromettendo la qualità della vita, ci si aspetta una riduzione dei costi sulla gestione del dolore nel sistema di assistenza sanitaria e nel supporto sociale.

Questo progetto intende gettare le basi per una comprensione più completa dei pathway(s) coinvolti nel dolore cronico, aprendo allo stesso tempo un nuovo percorso terapeutico. Una migliore conoscenza dei meccanismi alla base del dolore significa maggiore capacità diagnostica, identificazione dei migliori pazienti "responsive-to-treatment" e possibilità di trovare nuovi bersagli terapeutici.

Laboratorio di Immunopatologia Sinaptica

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

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

L'obiettivo principale della ricerca è quello di studiare i meccanismi molecolari e cellulari alla base dell'interazione tra sistema immunitario e nervoso nella patologia della Sclerosi Multipla. In particolare, l'interesse dei ricercatori del laboratorio 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'encefalomielite autoimmune sperimentale (EAE) e il modello Cuprizone, e modelli chimerici ex vivo di SM. Gli obiettivi che i ricercatori si prefiggono di raggiungere sono i seguenti:

- Obiettivo 1: Identificare i fattori di rischio coinvolti nella progressione della SM, sia valutando le correlazioni tra le diverse caratteristiche cliniche e demografiche dei pazienti SM (con particolare attenzione ai livelli delle molecole infiammatorie nel liquido cerebrospinale, CSF), che analizzando il ruolo di fattori solubili rilasciati dalle cellule immunitarie (linfociti, microglia), quali citochine, fattori neurotrofici e microRNA, nella sinaptopatia infiammatoria e nella plasticità sinaptica nei modelli murini e chimerici di SM. L'ipotesi è che tali fattori solubili, circolanti nel liquido cerebrospinale dei pazienti SM e/o alterati nel cervello di topi EAE, 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: Valutare l'effetto neuroprotettivo di alcuni farmaci immunomodulanti/immunosoppressori, che passando la BBB, analizzando il loro ruolo nella sinaptopatia infiammatoria nel SNC. Obiettivo della ricerca è 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: Lo stile di vita può influenzare il decorso clinico della SM. L'esercizio fisico è

infatti 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. Anche una corretta alimentazione può migliorare determinati aspetti della patologia e la comunità scientifica è sempre più interessata ad indagare il suo specifico ruolo sul decorso clinico della malattia. Ad oggi i meccanismi cellulari e molecolari alla base dell'effetto benefico di un corretto stile di vita nei pazienti affetti da SM sono ancora poco chiari. Tramite l'utilizzo dei modelli murini di SM si studia l'effetto benefico dell'esercizio fisico e dell'alimentazione sulla sinaptopatia e processi di demielinizzazione in varie aree cerebrali.

- Obiettivo 5: Studio dell'interazione virus-ospite nelle malattie neurodegenerative, con particolare riferimento al virus di Epstein Barr (EBV), uno dei fattori ambientali maggiormente associati con la sclerosi multipla (SM). Nello specifico l'obiettivo è di esplorare il possibile ruolo di EBV nella SM ed in altre patologie neurodegenerative - come il morbo di Parkinson – andando a i) valutare il ruolo delle varianti virali come fattori di rischio in popolazioni di pazienti e controlli; ii) prendere in considerazione l'eventuale ruolo delle varianti virali come fattori predittori di risposta ai trattamenti modificanti il decorso di malattia; iii) valutare con particolare attenzione il ruolo dei genotipi virali nell'interazione con la cellula ospite anche tramite lo studio di altre varianti genomiche del virus oltre a quelle già analizzate.

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

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

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 cuprizonone 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 vengono incubati 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 applicati 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 field potential per studiare le correnti spontanee GABA-ergiche, glutammatergiche e per studiare fenomeni di plasticità sinaptica (LTP, LTD) (Mandolesi et al., 2017; Gentile et al., 2017; Nisticò et al., 2013).

F. IMMUNOISTOCIMICA ED IBRIDAZIONE IN SITU. Fettine di cervello derivate da tessuto fissato o fresco vengono processate per effettuare esperimenti di immunofluorescenza (target specifici,

marker infiammatori) o in situ (microRNA). Imaging confocale o tramite bright field viene eseguito per acquisizione ed analisi delle immagini (Mandolesi et al. 2013, 2017).

G. BIOLOGIA MOLECOLARE: L'analisi quantitativa di micro-RNA circolanti in fluidi biologici o presenti nel tessuto nervoso o immunitario viene eseguita tramite la tecnica della Real TIME PCR (RT-PCR). Analogamente, si studia l'espressione dell'mRNA di marcatori di interesse nel tessuto nervoso di topi EAE trattati e non trattati tramite la tecnica della RT-PCR (Mandolesi et al., 2017).

H. BIOCHIMICA: La quantificazione di molecole di interesse nel tessuto nervoso viene eseguita tramite la tecnica del WESTERN BLOT o ELISA. La quantificazione di molecole solubili nel liquido cerebrospinale di pazienti o rilasciati da cellule del sistema immunitario in coltura viene eseguita tramite LUMINEX o ELISA assay.

I. ISOLAMENTO LINFOCITI: Linfociti T e B vengono isolati da milze di topi EAE o dal sangue di pazienti SM per effettuare studi di elettrofisiologia su fettine di cervello di topo (Mandolesi et al., 2013; 2017)

J. TEST COMPORTAMENTALI ED ESERCIZIO FISICO: Open Field Test (OFT); Elevated Plus Maze (EPM); Light-Dark Test (LDT); Murble Burying; Tail Suspension Test (TST); Forced Swim Test (FST). Nest Building test; Rotarod performance test; Grip Strength Test. Per stimolare l'esercizio, i topi verranno 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 di questo anno abbiamo ottenuto:

Obiettivo 1:

Al fine di indagare la relazione tra i microRNA e la patogenesi della SM, in collaborazione con il Dipartimento di Medicina dei Sistemi dell'Università degli Studi di Roma Tor Vergata, è stato condotto uno studio, sul microRNA let-7b-5p. In questo studio è stato osservato che in un'ampia coorte 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 e 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 (Mandolesi et al., 2021).

Parallelamente allo studio del microRNA let-7b-5p, sono in corso degli studi sul ruolo del miR-142-3p nella sinaptopatia infiammatoria a livello dello striato. Lo striato è infatti un'area cerebrale particolarmente colpita nel modello EAE e in precedenti lavori è stato dimostrato 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. Poiché 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, ci si è chiesti se il TNF possa indurre le suddette alterazioni glutammatergiche tramite una up-regolazione dei livelli di miR-142-3p. Al momento, tramite tecniche di biologia molecolare ed elettrofisiologiche, si sta indagando il coinvolgimento di questo potenziale nuovo asse regolatorio – TNF-miR142-3p-coinvolto nella sinaptopatia infiammatoria striatale analogamente a quanto osservato nel cervelletto di topi EAE (De Vito et al., in stesura).

Infine, in collaborazione con il Dipartimento di Medicina dei Sistemi dell'Università degli Studi di Roma Tor Vergata, sono stati indagati i potenziali fattori di rischio per la progressione della malattia nei pazienti affetti da sclerosi multipla recidivante-remittente (SM-RR). Nello specifico è stato valutato che un'età d'esordio avanzata è associata ad una progressione di malattia indipendente dall'attività di ricaduta (PIRA). In 266 pazienti con SM-RR sono state analizzate le associazioni tra età di esordio, caratteristiche cliniche, livelli di lattato nel liquido cerebrospinale (CSF) e quella di diverse molecole infiammatorie. Nello studio è emersa un'associazione inversa tra l'età avanzata e l'attività infiammatoria, intesa sia come clinica che radiologica, della malattia. I pazienti più anziani mostravano inoltre un aumento dei livelli di lattato nel liquido cerebrospinale e di molecole pro-infiammatorie. Infine, la stimolazione magnetica transcranica (TMS) ha evidenziato una correlazione inversa tra l'età dei pazienti e la plasticità sinaptica. Trattamenti farmacologici precoci ed efficaci contro i PIRA possono quindi essere particolarmente efficaci per i pazienti con sclerosi multipla (SM) che mostrano caratteristiche cliniche, immunologiche e neurofisiologiche simili, indipendentemente dalla loro età (Stampanoni et al., 2021).

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 EAE. In collaborazione con il Dipartimento di Medicina dei Sistemi dell'Università degli Studi di Roma Tor Vergata sono stati ottenuti i seguenti risultati: tramite esperimenti di elettrofisiologia è stato 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 è stata osservata una riduzione delle correnti eccitotossiche 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 svolto in collaborazione con il prof. Centonze 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., 2021).

Attività previste nel 2022 per l'obiettivo 2

Gli studi futuri andranno ad indagare come specifiche terapie immunomodulanti possano interferire con la sinaptopatia mediata dai linfociti T. Nello specifico sono in programma esperimenti che prevedono di valutare l'azione di agonisti selettivi dei recettori sfingosinici (farmaci attualmente in uso per la terapia della SM) sulla tossicità neuronale promossa dai linfociti di topi EAE. Tale azione sarà esaminata andando a valutare il potere sinaptotossico dei linfociti e il loro profilo citochinico dopo trattamento in vitro con farmaci selettivi per i recettori sfingosinici. Specifici antagonisti saranno poi utilizzati per meglio caratterizzare il sottotipo recettoriale coinvolto nella potenziale azione neuroprotettiva.

Obiettivo 3:

Per valutare lo 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, sono in programma esperimenti in vivo ed ex vivo con 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.

Attività previste nel 2022 per l'obiettivo 3

Saranno inoltre condotti degli studi di correlazione nei pazienti affetti da SM per indagare come specifiche citochine possano interferire con lo stato ansioso-depressivo. Inoltre, tramite lo studio sul modello murino di SM, sarà valutato il ruolo della citochina nei disturbi comportamentale e i possibili meccanismi molecolari coinvolti, valutando principalmente le alterazioni del sistema immunitario, del sistema endocannabinoide (ECS) e della circuiteria sinaptica striatale.

Obiettivo 4:

Nell'ambito dello studio sul ruolo dello stile di vita sul decorso della malattia, l'attenzione è stata focalizzata sull'azione benefica dell'esercizio fisico nel modello animale di SM, EAE, con l'obiettivo di studiare l'effetto dell'esercizio fisico sull'asse immuno-sinaptico. I dati ottenuti mostrano 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 microgliosi e dell'espressione delle citochine proinfiammatorie TNF e IL-1b, e l'aumentata sopravvivenza degli interneuroni GABAergici parvalbumina positivi (Rizzo et al, 2021). Inoltre, i ricercatori hanno dimostrato che l'esercizio attenua l'eccitotossicità glutammatergica, determinata da un aumentato rilascio di glutammato nel nucleo striato. Lo studio dell'assetto immunitario ha mostrato un effetto di riduzione delle frequenze di linfociti B nella milza e di miglioramento della funzione delle cellule T regolatorie, nonché un miglioramento dell'assetto metabolico dei linfociti T CD3, inibendo in maniera particolare l'attivazione del processo glicolitico (Rizzo et al., 2021). Sono in corso esperimenti di immunizzazione su animali vagotomizzati per valutare la risposta immunitaria e di score clinico.

Attività previste nel 2022 per l'obiettivo 4

Attualmente sono in corso ulteriori studi volti ad indagare l'impatto della dieta grassa sul decorso clinico della malattia. Questi studi avranno l'obiettivo di valutare le alterazioni clinico/motorie, il danno sinaptico e la neuroinfiammazione in animali EAE trattati con diversi tipi di diete. Inoltre saranno condotti degli studi sui linfociti T infiltranti per studiare l'impatto della dieta sulla tossicità sinaptica mediata dalle cellule T sui neuroni striatali. Infine, con lo scopo di caratterizzare l'impatto dello stile di vita sulla malattia, sono in programma esperimenti sul modello EAE che prevedono sia l'esercizio fisico che dieta grassa.

Obiettivo 5:

Attraverso un approfondito studio della letteratura è stato valutato il ruolo dei fattori ambientali e dell'alterazione della risposta immune nella SM ed in altre patologie autoimmuni, per individuare quelli che sono gli elementi caratterizzanti la SM, al fine di migliorare la conoscenza ed indirizzare eventuali nuovi studi (Mechelli et al. 2021; Bellucci et al. 2021; Angeloni et al. 2021). Sono stati inoltre valutati gli studi scientifici recentemente pubblicati sulla relazione tra SM e SARS-CoV-2, cercando di capire se è possibile un'interazione tra l'infezione da SarsCov2 e quella con il virus di EBV, a lungo considerato il fattore virale più associato alla SM (Bellucci et al. 2021). Infine, è stato eseguito uno studio esplorativo di microarray analizzando il plasma di pazienti affetti dalla

malattia di Huntington e di controlli e valutando interi profili di RNA non codificanti per verificare se il miRNome plasmatico può fornire utili “biomarker” periferici per la gestione dei pazienti affetti dalla malattia di Huntington (Ferraldeschi et al 2021).

Attività previste nel 2022 per l’obiettivo 5

Nel prossimo futuro ci si propone di studiare i meccanismi alla base dell’interazione tra virus e ospite e che risultano alterati nella SM. Specificatamente, anche attraverso l’uso di approcci bioinformatici, stiamo valutando il ruolo combinato dei fattori genetici e virali nella SM. Inoltre, sono in corso esperimenti di espressione genica e proteica, volti a caratterizzare il ruolo funzionale delle varianti di EBV associate alla SM.

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 sostanza nera pars compacta e la presenza di Corpi di Lewy (CL), inclusioni multi proteiche essenzialmente composte da aggregati della proteina sinaptica alfa-sinucleina (Spillantini et al. 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. 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 una indagine ad ampio spettro su questi meccanismi, partendo da modelli più semplici a quelli più complessi: cellule di neuroblastoma con caratteristiche dopaminergiche PC12, neuroni dopaminergici ridifferenziati tramite NGF da PC12 e colture primarie di neuroni piramidali ippocampali, per arrivare a studiare, infine neuroni ottenuti dalla transdifferenziazione di fibroblasti di pazienti affetti da MP (ciNs) (Hu W. et al. 2015).

Partendo dai modelli cellulari più semplici, indurremo processi di neuroinfiammazione e neurodegenerazione *parkinson-like*, con l’utilizzo di neurotossine come α -syn oligomerizzata; rotenone, una neurotossina che deprime la respirazione cellulare inibendo il trasferimento degli elettroni nella catena di trasporto degli elettroni (inibisce complesso I- NADH deidrogenasi); la 6-idrossidopamina (6OHDA) che induce un aumento significativo della formazione di radicali liberi idrossilici, ed infine interleuchine pro-infiammatorie. Queste diverse tipologie cellulari rappresentano, nel loro insieme, un modello funzionale della MP per le loro diverse specifiche caratteristiche. In questi modelli sperimentali saranno studiati gli effetti di agenti neuroprotettivi come il glutathione (GSH-C4) un potente antiossidante, e la Timosina 17 una proteina con la

funzione di immunomodulazione fisiologica (Checconi et al. 2019; Renga et al. 2020) come possibili agenti terapeutici.

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 prevede uno studio su neuroni dopaminergici in colture immortalizzate e studi su colture primarie ippocampali di topo.

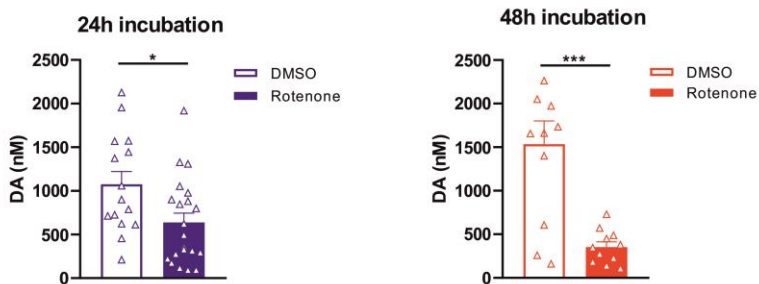
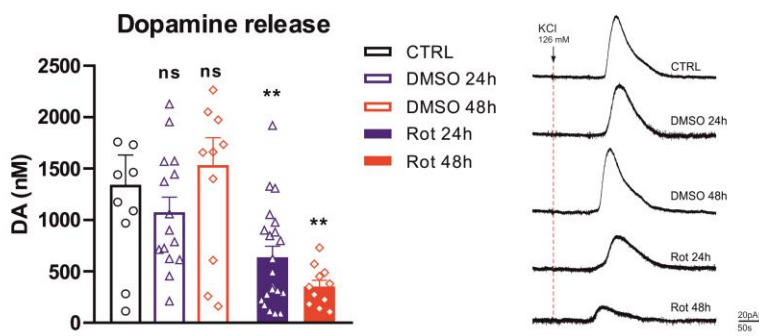
Il progetto è organizzato in gruppi sperimentali con modelli a complessità neurologica crescente; partendo da cellule immortalizzate caratterizzate dal solo rilascio di dopamina a colture neuronali più complesse, su questi modelli vengono studiati effetti di agenti neurotossici, che imitano i danni tipici della MP:

1. Studio delle alterazioni morfologiche e sul rilascio di dopamina, nelle pc12, indotte dall'applicazione di diversi neurotossici a diversi tempi di incubazione e a concentrazione crescente, come: rotenone, α -syn oligomerizzata e protofibrillare, e 6OHDA, incubate da soli o con interleuchine.
2. Studi elettrofisiologici e morfologici dei processi neuroinfiammatori indotti dall'applicazione in vitro di α -syn, in PC 12 differenziate in neuroni maturi con NGF e in colture primarie ippocampali;
3. Studi su agenti neuroprotettivi.

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), sono state seminate su piastre da 24 pozzetti rivestiti di poly L lisina (Sigma) e mantenute in un incubatore a 37°C e 5% CO₂. Le PC12 sono cellule caratterizzate dalla capacità di rilasciare dopamina (DOPA) e sono considerate un buon modello cellulare per gli studi sulla MP (Magalingam et al. 2014). Utilizzando un elettrodo a fibra di carbonio da 30 μ m, collegato ad un amperometro con potenziale imposto per la rivelazione di catecolamine, è stata valutata la quantità di rilascio di DOPA basale in seguito a perfusione con KCl 126 mM, con l'amperometria. La variazione di corrente osservata per ogni esperimento è stata poi convertita in concentrazione molare di DOPA rilasciata, attraverso rette di taratura ripetute ad inizio e fine sessione sperimentale. Il passaggio successivo è stato quello di osservare l'effetto dell'incubazione del Rotenone a bassa concentrazione 0,5 μ M in due diversi time point 24 e 48 ore, su queste colture di PC12, sia sul rilascio di dopamina, sia nella struttura cellulare e mitocondriale tramite Microscopio Elettronico a Scansione (SEM), in collaborazione con il gruppo del Consorzio MEBIC dell'IRCCS San Raffaele Roma. È interessante notare, che almeno a questa dose di Rotenone, le cellule analizzate da un punto di vista morfologico al SEM, non presentavano in nessun caso alterazione delle strutture citoplasmatiche e degli organelli era intatta (immagini non mostrate), ma come descritto in figura, il rilascio di DOPA era significativamente ridotto dopo entrambi i tempi di incubazione. Sono in fase di completamento saggi enzimatici e studi morfologici sulla vitalità cellulare dopo questa incubazione. Sono previsti a breve i primi studi di neuroprotezione nel tentativo di proteggere dal danno da rotenone, attraverso una preincubazione con Glutathione (GSH-C4) e la Timosina 1 α .

In collaborazione con l'IRCCS Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli e il Centro per la cura e la diagnosi della malattia di Parkinson dell'IRCCS San Raffaele Roma, il laboratorio sta svolgendo un'estesa caratterizzazione morfologica dei cervelli di ratto iniettati con protofibrille di α -syn, comparati con animali iniettati con PBS. I cervelli forniti sono stati tagliati ed incubati con anticorpi specifici 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.

In collaborazione con i ricercatori del Centro MEBIC dell'IRCCS San Raffaele Roma, attraverso tecniche di microscopia elettronica, si stanno approfondendo i danni citoplasmatici dovuti all'incubazione con le sostanze neurotossiche in esame per lo studio della MP, come: α -syn oligomerica e fibrillare, Rotenone e 6OHDA.



Allo stato attuale:

- Si è visto che l'incubazione con Rotenone 0,5 μ M riduce significativamente il rilascio di Dopamina sia a 24 che a 48 ore, rispetto al controllo puro ed alle cellule trattate con la soluzione di diluizione ricca di DMSO, necessaria a sciogliere il rotenone, con gli stessi time point.
- Si è visto che il Rotenone 0,5 μ M α -syn non altera le strutture citoplasmatiche né altera le membrane cellulari, il dato non è mostrato perché da completare, attraverso ulteriori campionamenti al Microscopio elettronico.
- Sono in corso esperimenti per valutare la vitalità dei preparati dopo l'incubazione con Rotenone tramite tecniche morfologiche.
- Si stanno effettuando prove sperimentali per determinare concentrazioni degli altri neurotossici che permettano riscontri sperimentali e non una letalità diffusa delle cellule in coltura.
- Si stanno mettendo a punto delle colture di neuroni ippocampali e prima caratterizzazione delle caratteristiche intrinseche di membrana attraverso tecniche elettrofisiologiche (patch-clamp).

Attività previste per il 2022

Gli studi sinora descritti verranno portati avanti e sviluppati anche nell'anno 2022.

Per gli esperimenti programmati per il 2022 procederemo con l'incubazione degli altri agenti neurotossici, α -syn, interleuchine proinfiammatorie e 6OHDA, e in seguito sarà valutata la neuroprotezione di (GSH-C4) e la Timosina 1 α .

Il gruppo di ricerca, che fa parte del Dipartimento di Scienze Neurologiche e Riabilitative dell'IRCCS San Raffaele Roma, Responsabile professor Rossini, metterà in atto uno studio sull'alterazione del network ippocampale dopo incubazione in vitro di sieri provenienti da pazienti stroke e altre patologie degenerative. I sieri saranno forniti dalla Clinica Neurologica grazie alla diretta collaborazione con la Biobanca Inter Istituzionale Multidisciplinare (BioBIM) dell'IRCCS San Raffaele Roma. Per questa attività di studio i ricercatori si avvarranno di registrazioni multielectrodes attraverso l'acquisizione della strumentazione specifica (Multi Electrode Array, MEA).

Laboratorio di Elettrofisiologia

Studio delle alterazioni GABAergiche nelle sindromi del neuro sviluppo

I processi patologici che interferiscono con il neurosviluppo normale e l'omeostasi fisiologica del sistema nervoso, come mutazioni genetiche, alterazioni istologiche o disfunzioni della neurotrasmissione e dello stato infiammatorio del sistema nervoso (Aronica et al., 2007; Abdijadid et al., 2015) 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 appena 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 neurosviluppo, 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.

Utilizzare il sistema GABAergico come *target* terapeutico ha di certo una valenza amplificata dal fatto che il recettore GABA-A risulta implicato non solo nei processi legati alla neurogenesi, e quindi al consolidamento di una corretta funzione sinaptica, ma abbia anche un ruolo preponderante nei processi che portano alla generazione e propagazione delle crisi epilettiche (Gonzalez et al., 2011).

Questa ipotesi è supportata dalla quasi costante presenza in diverse sindromi epilettiche 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 epilessie e delle patologie del neurosviluppo. In particolare, è rientrato lo studio dell'effetto di un mediatore anti-infiammatorio di recente caratterizzazione (il PD-1) sulla trasmissione GABAergica. In particolare sono stati realizzati:

1. Caratterizzazione delle proprietà elettrofisiologiche delle correnti evocate dal GABA (ampiezza, decadimento, affinità, sensibilità a modulatori recettoriali) su tessuti TLE microtrapiantati in oociti di *Xenopus* prima e dopo il trattamento con PD1.
2. Studio dell'effetto del PD1 sul rilascio di neurotrasmettitori su slices ippocampali da modello murino (in collaborazione con il gruppo di ricerca del prof. Merab Kokaia, Università di Lund, Svezia)
3. Studio immunoistochimico del profilo di espressione delle subunità del recettore GABA-A in ippocampo murino in presenza e assenza di PD1, in collaborazione con il gruppo di ricerca dell'Università di Innsbruck, Germania.

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 contraddistinte dal contemporaneo sviluppo di epilessia. 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 di nuove molecole sul sistema GABAergico e glutammatergico.

I tessuti utilizzati sono 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 di Roma.

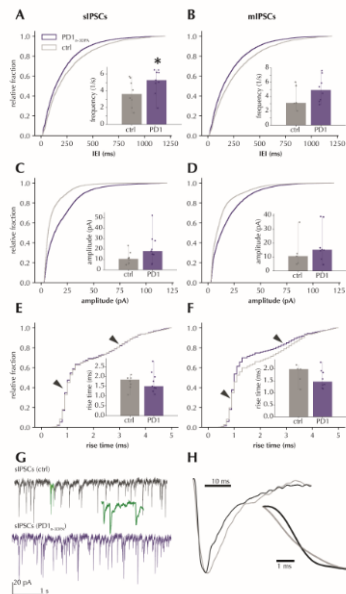


Fig. 1 Effetto del PD1 sulle correnti inibitorie postsinaptiche

Gli esperimenti svolti fino ad ora hanno permesso di evidenziare la capacità del mediatore PD1 di aumentare la frequenza e l'ampiezza delle correnti inibitorie post-sinaptiche registrate nella regione ippocampale CA1 da neuroni piramidali (**figura 1**). Nella figura si vedono i parametri relativi a registrazioni in condizioni di controllo (barre grigie) e dopo trattamento con PD1 (barre viola) presentate come IPSC intervall (IEI) relativamente ai parametri degli eventi spontanei (sIPSC, A) e miniatures (mIPSCS, B), ampiezza degli sIPSC e mIPSC (C e D), rise times delle correnti (pannelli E ed F).

Inoltre nel pannello G sono visibili tracce rappresentative con e senza l'influenza del PD1 e relativa magnification delle *amplitude-normalised fast and slow rise-time events* (H).

Esperimenti svolti su oociti hanno poi contribuito ad escludere che l'effetto fosse mediato da un'azione diretta del PD1 sul recettore GABA A (tabella 1), suggerendo quindi un meccanismo d'azione basato sulla regolazione presinaptica della neurotrasmissione.

Incubation Time	GABA current (pre-PD1 _{n-3DPA})	GABA current (post-PD1 _{n-3DPA})	AMPA current (pre-PD1 _{n-3DPA})	AMPA current (post-PD1 _{n-3DPA})
5 minutes	87.7 ± 16.0 nA (n = 6)	88.3 ± 14.0 nA (n = 6)	--	--
20 minutes	54.9 ± 23.1 nA (n = 6)	54.4 ± 18.9 nA (n = 6)	--	--
1 hour	75.0 ± 10 nA (n = 7)	77.0 ± 8 nA (n = 7)	19.3 ± 1.5 nA (n = 5)	18.3 ± 1.8 (n = 5)
2 hours	54.7 ± 15.7 nA (n = 18)	54.3 ± 13.9 nA (n = 18)	26.9 ± 3.8 nA (n = 6)	23.0 ± 5,.2 nA (n = 6)
3 hours	58.5± 17.0 nA (n = 17)	57.0± 15.5 nA (n = 17)	29.4 ± 3.5 nA (n = 6)	23.0 ± 7.5 nA (n = 6)
Intracellular injection	70.7 ± 20.4 nA (n = 7)	64.8 ± 22.7 nA (n = 7)	7.6 nA± 1.7 nA (n = 4)	6.2 nA± 1.5 nA (n = 4)

Tabella 1. L' effetto del PD1 non è mediato da azione GABAergica presinaptica.

La ricerca proseguirà nell' anno 2022, con la prospettiva di allargare il campo di indagine a rilevanti patologie del neurosviluppo.

In particolare, sono già raccolti dati preliminari riguardanti una alterazione differenziale della trasmissione GABAergica nella "dispalsia corticale focale" (FCD – focal cortical dysplasia) tra la popolazione adulta e pediatrica affetta da questa patologia e stiamo studiando l' effetto che mediatori della neuroinfiammazione, come citochine e chemochine, potrebbero avere su questa alterata trasmissione sinaptica.

I risultati di questi esperimenti potranno fornire nuovi spunti utili alla progettazione di nuove strategie terapeutiche e alla razionalizzazione della terapia medica in questi pazienti che nella grande maggioranza dei casi vengono classificati come "farmaco-resistenti".

I suddetti esperimenti sono stati e saranno svolti in collaborazione con gruppi di ricerca di carattere internazionale e nazionale come Amsterdam, AMC e Istituto Mario Negri, Milano.

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

La SLA è una patologia caratterizzata da progressiva degenerazione dei motoneuroni che portano i pazienti ad atrofia muscolare e morte per insufficienza respiratoria. Uno dei meccanismi biologici principali presenti nella SLA è la perdita di una efficace connessione tra muscolo e nervo. 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 (Musarò, 2012). Inoltre, precedenti lavori condotti dal laboratorio 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 presente progetto si è indagato più a fondo come fattori muscolari siano alterati nella ALS con il fine di aggiungere importanti pezzi al puzzle del dying back. In particolare si valuta quali siano gli effetti della stimolazione magnetica sui vari determinanti molecolari ed elettrofisiologici della normale fisiologia muscolare, come fattori di trascrizione o anabolizzanti ed il recettore dell'acetilcolina.

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

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.

Il progetto si propone 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) sono stati ottenuti grazie alla collaborazione con il gruppo dell'IRCCS Mario Negri e sono stati utilizzati principalmente per **esperimenti di elettrofisiologia**, come dettagliato in seguito.

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.

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 µm 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.

L'RNA totale (1µg) da biopsie muscolari umane è stato isolato attraverso il TRIzol™ (Thermo Fisher Scientific) e retrotrascritto utilizzando il Kit di trascrizione inversa QuantiTect Kit (Qiagen). 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.

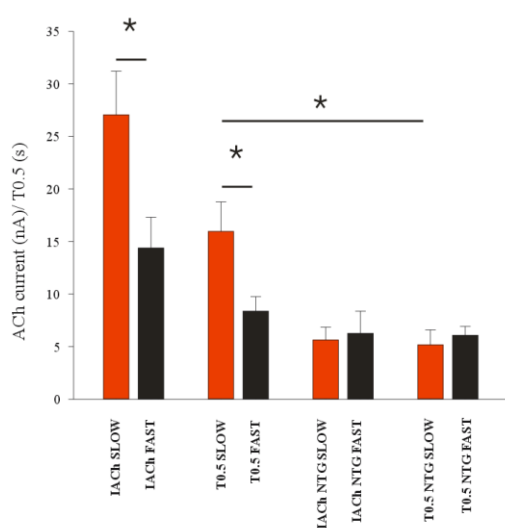
Preparazione di membrane:

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.

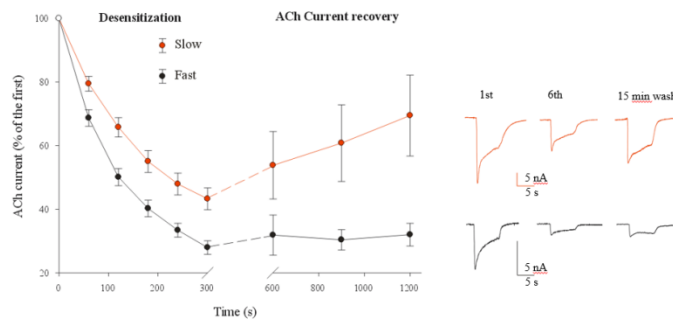
Dopo 24 ore dall'iniezione citoplasmatica di membrane sono state registrate negli oociti le correnti totali con la tecnica del voltage-clamp intracellulare con due elettrodi (3 M KCl) come descritto precedentemente (Palma et al., 2011).

Gli esperimenti svolti sul modello murino sopra descritto (ovvero modello di SLA, a progressione lenta, topi slow progressing (C57-G92A) o rapida, fast progressing 129Sv-G93A) hanno evidenziato significative alterazioni della neurotrasmissione del recettore nicotico dell'acetilcolina soprattutto a carico dei topi fast-progressing. In questi topi, infatti, l'ampiezza delle correnti evocate dall'acetilcolina era molto ridotta rispetto alla controparte slow-progressing come del resto il tempo di dimezzamento della corrente (T0.5) si è rivelato molto minore in questo ceppo (pannello A). Questo probabilmente a supporto dell'esistenza di una minore capacità di compensazione nel topo fast-progressing, correlabile con una più rapida progressione della patologia.

Inoltre, la desensibilizzazione uso-dipendente del recettore nicotico dell'acetilcolina si è rivelata essere molto più rilevante nell'animale fast-progressing e questo dato era accompagnato da un recupero verso valori di ampiezza "di controllo" molto più lento (pannello B). Questo dato supporta ulteriormente l'importanza delle alterazioni della trasmissione sinaptica neuromuscolare nella progressione della patologia e fornisce un ulteriore elemento a supporto del dying-back model.



A



B

La ricerca proseguirà nell'anno 2022, con la prospettiva di ultimare gli esperimenti di elettrofisiologia sopra descritti e pubblicare i risultati, insieme a quelli ottenuti dai gruppi dell'IRCCS Mario Negri e del Policlinico Umberto I di Roma, in riviste internazionali *peer-reviewed*. Inoltre, futuri esperimenti mireranno ad individuare trattamenti in grado di contrastare le alterazioni patologiche legate alla più rapida progressione della malattia, avvicinando quindi questi risultati alla traslazione in clinica. La SLA risulta infatti ad oggi una patologia con pochissime chances terapeutiche e la caratterizzazione di nuove strategie potrebbe avere un impatto molto positivo sulla qualità di vita dei pazienti.

La ricerca è avvenuta in collaborazione con diverse strutture a livello nazionale, in particolare:

- Istituto Mario Negri (Milano): sono stati caratterizzati i due modelli murini di patologia dal punto di vista molecolare ed ha messo a disposizione i tessuti su cui realizzare l'elettrofisiologia
- Policlinico Umberto I per svolgimento dell'elettromiografia a fini sperimentali sia su paziente che su modello murino. I dati sono stati raccolti e processati, e a breve saranno disponibili per la pubblicazione
- Università di Roma "Sapienza" per l'analisi molecolare dei campioni di tessuto muscolare umano su cui viene da noi svolta contemporaneamente l'analisi elettrofisiologica. Questa parte del progetto è ancora in corso e proseguirà nel 2022.

Laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare

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

E' noto che la terapia con antagonisti di MR riduce la mortalità in pazienti affetti da scompenso cardiaco. Il ruolo di MR è stato ampiamente descritto, non solo nel mantenimento dell'omeostasi elettrolitica ma anche nella regolazione del metabolismo glucidico e del tessuto adiposo. In particolare, studi effettuati nel nostro laboratorio hanno mostrato che in topi sottoposti a dieta obesogena, il trattamento con antagonisti di MR protegge dall'incremento ponderale, in particolare dall'espansione del tessuto adiposo, e dall'intolleranza ai carboidrati. Tali effetti sono in parte legati all'aumentata conversione del tessuto adiposo bianco in tessuto adiposo bruno, un

fenomeno noto come “browning” del tessuto adiposo. Inoltre è noto che l’antagonismo di MR riduce lo stress ossidativo a livello tissutale, la fibrosi e l’infiammazione vascolare. Esistono tuttavia dati preliminari che lasciano ipotizzare un’azione specifica degli antagonisti di MR sulla funzionalità del tessuto muscolare scheletrico e del macrofago. Per questi motivi le azioni sistemiche degli antagonisti MR non possono essere spiegate solo dai ben noti effetti renali (induzione della natriuresi con risparmio di potassio) ma devono essere interpretate alla luce della comprensione del ruolo di MR a livello di diversi organi e tessuti (tessuto adiposo, vaso, cellule immunitarie, tessuto muscolare scheletrico, fegato). 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).

Inoltre, la distribuzione di MR in un’ampia gamma di tessuti ha suggerito nuovi ruoli inaspettati per MR, ed evidenze dimostrano che il sistema renina-angiotensina-aldosterone è coinvolto nella patogenesi della steatosi epatica non alcolica (NAFLD). La NAFLD è caratterizzata da un eccessivo accumulo di grasso nel fegato ed è ben noto che è molto frequente nei pazienti con disturbi metabolici, in particolare diabete tipo 2 e obesità, e determina un importante aumento di incidenza del rischio cardiovascolare. Il nostro obiettivo sarà pertanto di proseguire lo studio relativo al ruolo di MR nella patologia cardiometabolica, indagando gli effetti dell’antagonismo del recettore mineralcorticoide sullo sviluppo della NAFLD.

Allo scopo di colmare questo gap di conoscenza i ricercatori propongono di studiare l’attività di MR nel muscolo scheletrico e descrivendo gli effetti del blocco farmacologico di MR in termini di peso corporeo, abbondanza di tessuto adiposo bianco e bruno, tolleranza al glucosio in topi “wild-type” (WT) sottoposti per 3 mesi a dieta obesogena (HFD) contenente l’antagonista di MR Spironolattone. Inoltre analizzeranno l’espressione di MR nel muscolo scheletrico, la capacità di MR di regolare meccanismi molecolari, gli effetti metabolici del trattamento farmacologico con Spironolattone nel muscolo scheletrico relativamente alla captazione di glucosio.

Allo scopo di verificare se il blocco di MR espresso nel macrofago possa modificare le proprietà infiammatorie dei macrofagi residenti nel tessuto scheletrico e nel tessuto adiposo, in topi KO per MR macrofagico, sottoposti a dieta normale (ND) e a dieta HFD, si intende analizzare il profilo metabolico analogamente a quanto previsto per i topi WT trattati con Spironolattone. Nei topi KO

per MR macrofagico si intende studiare se l'assenza di MR nel macrofago è in grado di modificare il fenotipo infiammatorio di queste cellule con conseguente modificazione dello stato infiammatorio del tessuto muscolare e del tessuto adiposo.

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

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

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

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

Infine le analisi della formazione delle placche aterosclerotiche e del loro contenuto in lipidi e cellule macrofagiche in topi ApoE KO e trattati con l'antagonista combinato di MR e del Recettore Glucocorticoide (GR) CORT118335, 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.

Infine, l'analisi dello stato infiammatorio e della fibrosi a livello epatico ci consente di elucidare il ruolo di MR nello sviluppo e progressione della NAFLD.

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 e tessuto epatico 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 adjuvare il fisiologico interplay tra adipocita, macrofago, muscolo scheletrico e vaso, determinando una globale riduzione del rischio cardiovascolare in condizioni che favoriscono la malattia coronarica. Tale antagonismo potrebbe inoltre determinare delle differenze nell'infiltrato di cellule immunitarie e nella formazione di tessuto fibrotico nel fegato determinando un miglioramento della steatosi epatica.

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, si è dovuto

inviarli in polvere presso la ditta 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 1118335). 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 immunoistochimica e analizzeremo la morfologia del tessuto (presenza di grasso ectopico) e la localizzazione di specifiche proteine.

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

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

Infine topi maschi knock out per ApoE sono stati trattati per 1 mese con dieta aterogena (gruppo sperimentale di controllo) e con dieta aterogena contenente CORT1118335 (gruppo sperimentale CORT1118335). Entrambi i gruppi di animali sono stati infusi con Aldosterone, tramite minipompa osmotica (modello Alzet 1004) inserita sottocute. Dopo tale trattamento i topi sono sacrificati e dissecati cuore e aorta e successivamente inclusi in una 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 sono 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 effettua la caratterizzazione istologica dei tessuti prelevati (tessuto adiposo bianco e bruno, muscolo scheletrico, fegato, cuore e reni).

I risultati indicano che i topi maschi knock out per ApoE trattati con dieta aterogena contenente CORT1118335 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 CORT1118335 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 sono ultimate le analisi previste per investigare eventuali cambiamenti, modulati da CORT1118335, nella struttura delle placche. In particolare, è stato valutato l'infiltrato macrofagico e il contenuto di collagene in esse presenti, senza evidenziare significative differenze con i controlli.

Poiché negli ultimi anni è stato ipotizzato un ruolo determinante della NAFLD come predittore indipendente precoce dell'aterosclerosi, ci si propone di proseguire lo studio relativo al ruolo di MR nella patologia cardiometabolica indagando gli effetti dell'antagonismo del recettore sullo sviluppo del danno epatico. Si intende pertanto analizzare i fegati provenienti dagli animali trattati, al fine di valutarne i markers di infiammazione e di fibrosi epatica.

Studi recenti hanno evidenziato il coinvolgimento di MR in varie patologie e il trattamento con antagonisti di MR risulta essere una strategia efficace già approvata nello scompenso cardiaco. E' sempre più urgente la necessità di identificare nuovi "pathways" dell'MR e quindi individuare nuovi "target" terapeutici, proponendosi come obiettivo la comprensione dei processi che determinano l'insorgenza di malattie cardiovascolari e comorbidità ad esse associate. Questo studio permetterà di comprendere il ruolo specifico dell'attivazione del recettore mineralcorticoide e glucocorticoide o della combinazione dei due, a livello di più tessuti, nel determinare il danno d'organo nelle malattie cardiovascolari e nelle loro complicanze metaboliche.

Laboratorio di Microbiologia delle Patologie degenerative

*Analisi del sistema immunitario in corso di terapie riabilitative in Batteri resistenti ai carbapenemi: profili di espressione dei geni che conferiscono resistenza agli antibiotici in isolati di *Acinetobacter baumannii**

Acinetobacter baumannii è un coccobacillo Gram-negativo aerobico non mobile, noto in passato come patogeno opportunisto, responsabile di infezioni in pazienti immunocompromessi (Levin et al., 2003). *A. baumannii* è responsabile di una vasta gamma di infezioni tra cui polmonite, infezioni del flusso sanguigno, infezioni del tratto urinario, ustioni e infezioni del sito chirurgico e meningite secondaria (Antunes et al., 2014; Hamidian e Nigro, 2019; Chakravarty 2020). In pazienti con malattie respiratorie, *A. baumannii* può causare infezioni gravi e persino pericolose per la vita (Grochowalska et al., 2017; Nunley et al., 2010; Kawamatawong et al., 2018). Le ragioni principali del successo patogeno di *A. baumannii* dipendono dalla plasticità del suo genoma, che consente l'acquisizione e l'espressione di geni esogeni di resistenza agli antibiotici (AR), la persistenza ambientale a lungo termine e la sopravvivenza nell'ospite umano (Hamidian e Nigro, 2019; Chakravarty 2020). Negli ultimi 60 anni, l'abuso e il cattivo utilizzo di antibiotici per applicazioni umane e non umane (ad es. zootecnia, agricoltura vegetale e medicina per applicazioni industriali) hanno indotto la rapida comparsa, aumento e diffusione di ceppi di *A. baumannii* multiresistenti agli antibiotici (MDR), estensivamente resistenti (XDR) e pandrug-resistenti (PDR) (Davies e Davies, 2010; Martínez et al., 2015; Crofts et al., 2017). A metà degli anni '80, le infezioni da *A. baumannii* erano trattate efficacemente con carbapenemi (Cb), una famiglia di antibiotici β -lattamici sintetici, come l'imipenem e il meropenem (Kesado et al., 1980; Kropp et al., 1980). Come altri antibiotici β -lattamici, li Cb entrano nei batteri Gram-negativi attraverso le proteine della membrana esterna (OMP, note anche come porine) e inattivano mediante acetilazione le proteine leganti la penicillina (PBP), gli enzimi responsabili dell'allungamento e della reticolazione del peptidoglicano della parete cellulare. L'inibizione delle PBP indebolisce il peptidoglicano, portando così generalmente a scoppio cellulare a causa della pressione osmotica. La squisita efficacia dei Cb risiede sull'elevata affinità di queste molecole non solo per PBP-2 come altri β -lattamici, ma per diverse PBP (Hashizume et al., 1984; Bonfiglio et al. al., 2002). Sfortunatamente, pochi anni dopo, il numero di *A. baumannii* resistenti ai Cb è notevolmente aumentato in tutto il mondo (Hamidian e Nigro, 2019; Chakravarty 2020). Di conseguenza, l'OMS ha incluso *A. baumannii* Cb-resistenti nel gruppo critico dei batteri che rappresentano la più grande minaccia per la salute umana,

(www.who.int/medicines, 2017). In Europa, molti paesi hanno sperimentato focolai di *A. baumannii* Cb-resistente soprattutto in strutture sanitarie, compresa l'Italia che ha registrato una percentuale relativamente alta di ceppi Cb-resistenti fino a 95.8% (Italy (<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2019>)). Pertanto, l'elevata velocità di acquisizione dell'antibiotico-resistenza e la mancanza di trattamenti efficaci per trattare queste infezioni sollecitano la necessità di ottenere maggiori informazioni sui meccanismi di antibiotico-resistenza in *A. baumannii*.

Il progetto prevede l'isolamento di ceppi clinici di *A. baumannii* da espettorati di pazienti BPCO ammessi in ambulatorio o in reparto presso l'IRCCS San Raffaele Roma. Tuttavia, dato il periodo pandemico, sono stati collezionati solo 5 campioni clinici in cui non erano presenti ceppi di *A. baumannii*. Pertanto, nell'attesa di isolare tali ceppi clinici, è stata condotta una analisi genomica di due ceppi presenti in collezione presso Sapienza, mediante un approccio di whole genome sequencing (WGS). In questo studio è stato possibile evidenziare che nonostante un diverso contenuto di geni di antibiotico-resistenza, i ceppi analizzati hanno un profilo antibiogramma molto simile. È interessante notare che la mancanza di alcuni importanti determinanti di virulenza, come i geni *bap*, *ata* e *omp33-36*, codificanti proteine della membrana esterna, non ha abrogato le loro capacità adesive alle superfici abiotiche e biotiche. In effetti, i ceppi hanno mantenuto queste capacità, anche se in misura diversa, suggerendo la presenza di distinti geni vicari. Al contrario, i sistemi di secrezione, lipopolisaccaridi (LPS), capsule, sistemi di acquisizione del ferro erano molto simili ai ceppi di riferimento di *A. baumannii*. Nel complesso, le analisi hanno aumentato le conoscenze sul contenuto e sull'organizzazione genomica di *A. baumannii*, nonché sugli eventi genomici verificatisi negli isolati nosocomiali per adattarsi meglio ai mutevoli ambienti in ambito sanitario.

I risultati di questo studio sono stati sottomessi alla rivista International Journal of Environmental Research and Public Health (IF: 3.390), con il titolo. "Whole genome comparison of two extensively drug resistant *Acinetobacter baumannii* isolates".

Infezioni da patogeni multi resistenti in pazienti con BPCO ospedalizzati: ruolo delle molecole di adesione epiteliali e della risposta immunitaria e infiammatoria (PATO-ESCAPE)

La difesa dell'organismo dai patogeni è affidata al sistema immunitario, che con la complessità delle popolazioni leucocitarie garantisce una risposta rapida (grazie all'immunità innata), specifica e duratura nel tempo (grazie all'immunità adattativa). Il ruolo che il sistema immunitario svolge però non è limitato alla risposta ai patogeni, in quanto i leucociti (granulociti, macrofagi e linfociti) sono coinvolti nella risposta al danno non causato da microorganismi, nella cosiddetta infiammazione sterile. Una delle caratteristiche fondamentali del sistema immunitario è la sua capacità di autolimitarsi, cioè di spegnere l'infiammazione una volta terminato il suo compito: un crescente numero di evidenze scientifiche mostra come le cellule che guidano lo spegnimento dell'infiammazione siano anche profondamente coinvolte nella rigenerazione e nel recupero della funzionalità d'organo, temi centrali nei processi di medicina riabilitativa.

L'unità di citofluorimetria rappresenta un elemento trasversale all'interno istituto di ricerca in quanto mette strumentazioni, conoscenza ed esperienza al servizio della ricerca clinica e traslazionale, grazie alla possibilità di analizzare, partendo da quantità minime di campione biologico, lo stato del sistema immunitario in corso di patologia e durante le terapie riabilitative, sia partendo da campioni di biologici di pazienti, che partendo da tessuti e cellule coltivati in vitro o provenienti da modelli animali di patologia.

La citofluorimetria permette di raccogliere risultati riguardanti il fenotipo (espressione di proteine di membrana), lo stato di attivazione o di differenziamento, l'attività mitocondriale, la capacità proliferativa, la produzione di mediatori dell'infiammazione e di molecole pro-rigenerative al

livello di singola cellula grazie ad una combinazione di fluidica, ottica ed elettronica. Questa metodologia può aiutare nell'individuazione di popolazioni cellulari che possano essere utilizzate come biomarcatori diagnostici o prognostici, oltre a fornire informazioni sul ruolo del sistema immunitario nella patogenesi della patologia in esame.

Lo strumento attualmente disponibile (Citofluorimetro BD LSRFortessa™ X20 SO della Becton Dickinson, 4 laser, 16 fluorescenze leggibili oltre ai due parametri fisici- grandezza e granulosità) rende possibile la valutazione di più marcatori sulla stessa cellula. Questo tipo di analisi permette di individuare alterazioni nel numero e nella qualità (intesa come stato di attivazione) di linfociti, monociti e granulociti circolanti nel sangue periferico dei pazienti ricoverati per terapia riabilitativa. Lo strumento è disponibile per l'esecuzione di esperimenti relativi a progetti interni all'Istituto ma anche a collaborazioni con Enti esterni.

Parte fondamentale dell'attività del laboratorio di Citofluorimetria è quella dedicata alla formazione del personale, con il trasferimento quotidiano delle conoscenze relative all'uso dello strumento e, soprattutto, all'interpretazione dei risultati.

E' stato ottenuto il consenso da parte del Comitato Etico del San Raffaele (Numero Registro Pareri 21/17) nell'ambito del progetto. Tramite questo studio, i ricercatori hanno iniziato ad isolare patogeni respiratori. Tuttavia, sono stati arruolati 5 pazienti. Nei 5 campioni ricevuti non sono stati isolati ceppi di *A. baumannii*. Per quanto riguarda l'esame al citofluorimetro, nei 5 pazienti arruolati è stato analizzato il sangue periferico e l'espettorato per misurare la percentuale di specifiche sottopopolazioni leucocitarie, in particolare eosinofili, monociti, granulociti e linfociti T regolatori, al fine di verificare un possibile ruolo del sistema immunitario nel favorire o inibire la colonizzazione da parte di patogeni opportunisti e verificare l'eventualità che i corrispettivi circolanti delle popolazioni ritrovate nell'espettorato possano essere proposti come biomarcatori.

Per l'analisi degli eosinofili è stata valutata l'espressione di molecole correlate all'attivazione cellulare, come MHC di classe II, CD63, CD294 e CCR3. I primi risultati ci indicano come nell'espettorato gli eosinofili esprimano livelli molto più alti di queste molecole, rispetto alla loro controparte circolante (intensità media di fluorescenza negli eosinofili circolanti vs gli eosinofili nell'espettorato per: MHC II 884 ± 283 vs 17456 ± 10162 ; CCR3 5934 ± 737 vs 17621 ± 6652 ; CD63 5107 ± 1073 vs 58008 ± 44812 ; CD294 968 ± 258 vs 1703 ± 482). Questa osservazione indica un ruolo degli eosinofili nel sostenere l'infiammazione a livello bronchiale.

E' stata poi valutata la presenza di linfociti T regolatori, l'espressione di MHC II sui monociti e l'espressione di CD88 sui neutrofili perché è stato osservato che alterazioni in questi parametri (in particolare, aumento dei T regolatori e diminuzione di MHC II sui monociti e di CD88 sui neutrofili) sono associate ad un maggiore rischio di sepsi nei pazienti ospedalizzati. La valutazione di questi dati potrà essere fatta solo a posteriori, correlando i valori individuati con il decorso clinico dei pazienti. Si intende dunque prorogare il progetto per il 2022 al fine di completare l'arruolamento dei pazienti.

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'insorgenza, 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 demielinizante 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. Al contrario, nessun parametro simile è disponibile per i pazienti trattati con farmaci di seconda linea. Il meccanismo d'azione di questi nuovi farmaci comporta, tra l'altro, la deplezione dei linfociti B, e quindi una potenziale diminuzione della produzione di immunoglobuline G, tra cui quelle JCPyV specifiche. Pertanto, la sensibilità degli anti-JCV nel predire la PML, in pazienti trattati ad esempio con Clad o Ocre potrebbe essere ridotta. L'accuratezza della previsione del rischio di PML potrebbe migliorare se l'identificazione e la quantificazione diretta della replicazione virale di JC, la variante genetica del virus e lo stato immunitario dell'ospite fossero presi in considerazione simultaneamente.

Altra sede anatomica che può andare incontro ad importanti patologie non trasmissibili ma correlabili a microrganismi è il polmone. Anche in questo caso, molti studi hanno ipotizzato il coinvolgimento di virus e batteri nell'innescare infezioni respiratorie come polmoniti ma anche riacutizzazioni di asma e bronco pneumopatia cronico-ostruttiva (BPCO). 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. 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:

1. 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;
2. valutazione dell'efficacia di diverse molecole naturali e di sintesi nell'inibire l'attivazione di vie di segnalazione coinvolte nei processi infettivi e infiammatori;
3. ricerca di potenziali biomarcatori che possano avere un ruolo predittivo e prognostico nelle patologie cronico-degenerative;
4. 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 loro volta, 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 cronic-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 cronic-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, vengono 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 [18].

In questo studio, inoltre, sono 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 sono 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 sono 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) è 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, vengono eseguiti seguendo protocolli pubblicati. La quantificazione di citochine/chemochine è 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, sono arruolati circa 100 pazienti dal reparto di Riabilitazione Polmonare del IRCCS San Raffaele Roma, dai quali vengono 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 sono centrifugati per ottenere il plasma e sono utilizzati per le successive analisi. I pazienti sono 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, sono 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 viene eseguita utilizzando primer per regioni specifiche per ogni virus. Inoltre, per analizzare la composizione del microbiota, il DNA/RNA sono 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 vengono isolate dall'espettorato piastrando i campioni su specifici terreni e la crescita microbica quantificata tramite conta del numero di colonie.

Virus influenzali: meccanismi patogenetici legati a malattie cronico-degenerative

È stato dimostrato che l'infezione da diversi ceppi di virus influenzale di tipo A sia nelle cellule bersaglio, rappresentate dalle cellule epiteliali del tratto respiratorio, sia in distretti cellulari diversi come cellule macrofagiche e neuronali, induceva la formazione di disolfuri misti, in particolare proteine glutationilate.

Oltre ad un aumento di proteine glutationilate totali, in corso di infezione nelle cellule epiteliali, è stato dimostrato che le proteine virali stesse, in particolare l'emoagglutinina, vanno incontro a glutationilazione e inoltre, che la modulazione del processo di glutationilazione/deglutinationilazione interferisce con il ciclo replicativo del virus.

L'espressione e l'attività dell'enzima coinvolto nella deglutinationilazione, la glutaredoxina 1 (Grx1) infatti risultavano aumentate nelle fasi tardive del ciclo replicativo virale. Per studiare l'importanza biologica del processo, l'attività di Grx1 è stata modulata tramite inibizione farmacologica e silenziamento, osservando che una down-modulazione di Grx1 portava ad una diminuita replicazione virale; l'inibizione portava inoltre ad una diminuita produzione di citochine pro-infiammatorie.

L'analisi dello stato redox in modelli di infezione di linee cellulari di neuroblastoma SH-SY5Y e PC12 differenziate in neuroni maturi da parte di diversi ceppi di virus influenzale di tipo A, messi a punto precedentemente, ha mostrato uno sbilanciamento in senso pro-ossidante, valutato come diminuzione del glutatione ridotto, aumento di proteine glutationilate e aumento di Grx1.

I risultati ottenuti suggeriscono che il processo di glu/deglutinationilazione, mediato da Grx1, abbia un ruolo nel ciclo replicativo virale tale da poter essere considerato un potenziale host-target per il controllo della replicazione virale e della risposta infiammatoria.

Virus JC: infezioni neurotrope in relazione a trattamenti con farmaci biologici

Al fine di individuare biomarcatori di riattivazione di JCPyV in soggetti in trattamento con ocrelizumab e migliorare la stratificazione del rischio PML, è stata arruolata una coorte di 42 pazienti sui quali è stato valutato l'indice anti-JCV (anticorpi anti-JCV nel sangue), effettuato il dosaggio degli anticorpi IgM e IgG, il monitoraggio della viruria e della viremia ed è stata valutata l'insorgenza di varianti neurotrope del virus JC.

I risultati ottenuti hanno evidenziato che, mentre l'indice anti-JCV ed il titolo IgM diminuivano in modo statisticamente significativo ($p < 0,05$), i livelli di IgG mantenevano una tendenza stazionaria nel corso del follow up ($p > 0,05$). Come previsto, la somministrazione di ocrelizumab determinava una diminuzione statisticamente significativa ($p < 0,05$) anche della conta assoluta delle cellule CD19, confermando che i pazienti rispondevano in modo appropriato al trattamento con farmaci che determinano una la deplezione dei linfociti B.

Al T0, il DNA di JCPyV veniva rilevato in 34/42 (81%) urine e in 0/42 campioni di plasma. Al T2, il numero di campioni di urine e plasma positivi alla ricerca del DNA virale si confermava lo stesso osservato al T0. Infine, al T4, il numero di pazienti che presentavano il DNA di JCPyV nelle urine era 35/42 (83%). In tre pazienti, oltre che la viruria, dopo 12 mesi di trattamento con ocrelizumab, il DNA di JCPyV veniva rilevato anche nel plasma (3/42). Sebbene il numero di pazienti con viruria sia

rimasto pressoché costante durante lo studio, la carica virale di JC nelle urine aumentava da T0 a T4 risultando significativamente più alta rispetto alla viremia rivelata a T4 ($p < 0,05$).

Da T0 a T4, l'analisi della NCCR di JCPyV ha mostrato, come previsto, un'organizzazione strutturale identica all'archetipo in tutti i campioni di urina positivi analizzati. L'analisi della NCCR eseguita a T4 sui 3 campioni di plasma positivi ha mostrato mutazioni e riorganizzazioni nella struttura della NCCR.

Nello specifico, in una sequenza plasmatica NCCR è stata osservata la trasversione 37T→G nel sito di legame Spi-B, una duplicazione del sito di legame del fattore di trascrizione cellulare NF-1 e dal box D composto solo di 10 basi su 65 (nucleotidi da 117 a 126). La seconda NCCR plasmatica sequenziata, ha rivelato la trasversione 37T → G nel sito di legame Spi-B (box B), la duplicazione del box C e l'eliminazione dei nucleotidi da 117 a 180, corrispondenti al box D. Infine, la terza NCCR plasmatica analizzata mostrava la transizione 217G → A nel box F.

I risultati ottenuti sottolineano la necessità di sviluppare una strategia ottimale di mitigazione del rischio di PML che preveda l'utilizzo e la valutazione di più biomarkers tra cui la carica virale, il ceppo JCPyV NCCR e l'immunità dell'ospite.

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 allarmina, 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. Lo scopo di questo obiettivo consiste 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 pazienti 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

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 pazienti 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 uM per 24 ore. In queste condizioni sperimentali, infatti, si è ottenuto 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, si è riusciti a determinare i livelli circolanti di HMGB1 espressi come ng/ml in 15 pazienti 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, si è 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 si è avuta conferma dell'ipotesi, in quanto siccome i pazienti MINOCA presentano un'inflammatione localizzata mentre i pazienti STEMI sono caratterizzati da un'inflammatione estesa, HMGB1 (noto marcatore dell'inflammatione) poteva rappresentare un marcatore in grado di distinguere le due classi di pazienti.

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 i 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.

Pertanto ci si propone di studiare:

- Il ruolo delle sirtuine mitocondriali nella regolazione di altri pathways metabolici.
- Il ruolo della sirtuina 5 nel differenziamento del tessuto adiposo.

Gli esperimenti effettuati 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 glutamminasi con conseguente diminuzione del metabolismo. Sono stati anche utilizzati inibitori di SIRT5 che si sono rivelati importanti nel regolare il differenziamento delle cellule adipose da grasso bianco a grasso bruno.

Studio delle sirtuine mitocondriali e nucleari in diverse linee cellulari. Misurazioni di carattere molecolare, proteico e biochimico. Utilizzo 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 silenziate 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 misurati 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 miofibrillosi, il livello di alterazione del metabolismo energetico cellulare, ed i pathways intracellulari che mediano l'instaurarsi ed il perpetuarsi del danno, come ad esempio l'espressione di geni e di proteine implicate nella necrosi, e nella apoptosi 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 sia gli aspetti molecolari che possono portare al recupero, sia le strategie necessarie da attuare.

Obiettivi specifici:

- 1) Studiare i meccanismi di danno irreversibile e reversibile e l'attivazione dei processi di riparazione e rigenerazione cellulare dei cardiomiociti di pazienti affetti da cardiomiopia dilatativa e miocardite;
- 2) Studiare la struttura e la funzione mitocondriale e il grado di stress ossidativo miocardico in tali pazienti;
- 3) Studiare il ruolo delle sirtuine nel processo di danno e di recupero cellulare dopo opportuna terapia.

L'attività di ricerca consiste nel valutare pazienti con miocardite, con cardiomiopia dilatativa idiopatica e secondaria (i.e tossica, da deficit nutrizionali), e con cardiopatie a fenotipo ipertrofico (i.e. cardiomiopia ipertrofica, malattia di Fabry, cardiopatia ipertensiva).

E' stato osservato a seguito di biopsie endomiocardiche del ventricolo sinistro, che la miocardite, spesso virale, è una causa dominante dello scompenso. E' stata inoltre descritta una

cardiomiopatia reversibile da deficit di Selenio e Zinco indotta da malassorbimento intestinale cronico. Sono stati riconosciuti i meccanismi operativi caratterizzati da un declino della riserva anti-ossidante cardiaca facente capo alla glutatione perossidasi ed alla superossido-dismutasi rispettivamente selenio e zinco-dipendenti, un danno ossidativo della membrana dei miociti con aumentata autofagia cellulare. E' stata identificata e quantificata, in termini di incidenza, la associazione malformativa fra cardiomiopatia ipertrofica e teleangiectasia coronarica ed i risvolti che questa può assumere in termini di ischemia miocardica ed instabilità elettrica, richiedente impianto di defibrillatore al fine di prevenirne la complicità più temibile, la morte cardiaca improvvisa. E' stato riportato attraverso un'ampia casistica bioptica, 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 bioptica 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-ipo-cinetica 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.

Il progetto si prefigge di individuare marcatori dello scompenso cardiaco e di suggerire le strategie riabilitative necessarie per un corretto recupero.

Sono 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 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 bioptici sono utilizzati per l'esame istologico con colorazioni di routine per identificare il processo patologico alla base della disfunzione cardiaca. Alcuni frammenti congelati sono 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 intrapreso un trattamento specifico immunosoppressore e vengono eseguite biopsie di controllo dopo sei mesi di trattamento per valutare il grado di recupero cellulare.

Le biopsie endomiocardiche di base e di controllo sono 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 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 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.

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.

Obiettivi specifici:

- Ruolo dell'interazione tra sirtuine e delle CRP nei meccanismi di morte e di riparo cellulare.
- Studio dell'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.
- Studio del ruolo di attivatori farmacologici delle sirtuine in tessuti neuronali, muscolari e cardiaco.

Ci si aspetta di poter misurare l'associazione tra sirtuine e CSRP nei tessuti post-mitotici al fine di individuare un meccanismo da sfruttare per incrementare la sopravvivenza di tali tessuti a stimoli meccanici e di stress.

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.

Ci si aspetta 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 overespressanti e silenziate 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 dell'espressione di recettori delle allarmine, attivando una risposta genica coordinata detta risposta riparativa infiammatoria (IRR). L'ipossia a sua volta induce due fenomeni: a) Necrosi delle cellule che sono più distanti dai vasi del tessuto ospite. Il danno necrotico porta alla frammentazione della membrana plasmatica e al rilascio di allarmine o DAMPS (Damage-Associated Molecular Patterns).

b) Attivazione di HIF-1a con nuova espressione genica, che permette alle cellule tumorali di sopravvivere e crescere. I nostri risultati sperimentali dimostrano anche 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, permetta l'acquisizione delle proprietà cellulari tipiche del fenotipo maligno.

Obiettivi dello studio:

- 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 sono 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.

In vitro i ricercatori si aspettano di osservare diversi gradi di invasione a seconda del trattamento delle cellule tumorali o delle cellule bersaglio come descritto nei metodi. Inoltre il silenziamento di alcuni recettori permetterà di capirne il ruolo primario o secondario per la progressione tumorale.

In vivo i ricercatori si aspettano che le cellule tumorali attivate da ipossia o da allarmine siano in grado di invadere meglio delle cellule tumorali non trattate. Tale capacità invasiva sarà massima nelle cellule tumorali staminali. Le metastasi formate dalle cellule tumorali potranno essere influenzate tramite creazione di un sito di necrosi con gradiente citochinico. In questo modo si aspettano di poter predire il sito in cui le metastasi si formeranno. Da quanto sopra detto risulta chiaro che l'inibizione di HIF-1alfa e NFkB dovrebbe essere maggiormente efficace nel bloccare o ridurre la formazione di metastasi con conseguente aumento della sopravvivenza.

Campioni di biopsie umane di Ca di vescica sono state sezionate (5 μ m) e sottoposte a laser capture microdissection (LCMD) per separare le cellule tumorali, da quelle peritumorali e da quelle del tessuto ospite normali. L'espressione di mRNA di 48 geni proinfiammatori (inflammocard) è stata studiata mediante Real-time PCR; l'espressione proteica di diversi fattori pro infiammatori quali P2X7, RAGE, COX2, NOS2, SOCS1, TLR2-3-4, e MMP2 è stata studiata mediante Western Blotting; l'attivazione di 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 (0.3 μ g/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 saranno iniettate in topi nudi. Successivamente sarà valutato il numero e il tipo di metastasi formatesi. b) sarà creato un sito usando rispettivamente batteri Gram+ o LPS o una ferita. Di nuovo, sarà valutato il numero e il tipo di metastasi formatesi. Gli studi in vivo saranno condotti in topi nudi (4-6 settimane) (Charles River Laboratories) le cellule saranno precedentemente trasfettate con GFP. La formazione del tumore sarà studiata dopo iniezione sottocutanea. La formazione del tumore 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 immunistoichimica, RealTime-PCR e western blotting negli animali sacrificati.

PUBBLICAZIONI

Ferroni P, Guadagni F, Roselli M.

Risk prediction and new prophylaxis strategies for thromboembolism in cancer.

Cancers (Basel). 2021 Mar29;13(7):1556.

Banegas-Luna AJ, Peña-García J, Iftene A, Guadagni F, Ferroni P, Scarpato N, Zanzotto FM, Bueno-Crespo A, Pérez-Sánchez H.

Towards the interpretability of Machine Learning predictions for medical applications targeting personalised therapies: a cancer case survey.

Int J Mol Sci. 2021 Apr 22;22(9):4394.

Artificial Intelligence is providing astonishing results, with medicine being one of its favourite playgrounds. Machine Learning and, in particular, Deep Neural Networks are behind this revolution. Among the most challenging targets of interest in medicine are cancer diagnosis and therapies but, to start this revolution, software tools need to be adapted to cover the new requirements. In this sense, learning tools are becoming a commodity but, to be able to assist doctors on a daily basis, it is essential to fully understand how models can be interpreted. In this survey, we analyse current machine learning models and other in-silico tools as applied to medicine-specifically, to cancer research-and we discuss their interpretability, performance and the input data they are fed with. Artificial neural networks (ANN), logistic regression (LR) and support vector machines (SVM) have been observed to be the preferred models. In addition, convolutional neural networks (CNNs), supported by the rapid development of graphic processing units (GPUs) and high-performance computing (HPC) infrastructures, are gaining importance when image processing is feasible. However, the interpretability of machine learning predictions so that doctors can understand them, trust them and gain useful insights for the clinical practice is still rarely considered, which is a factor that needs to be improved to enhance doctors' predictive capacity and achieve individualised therapies in the near future.

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. 2021;28(16):3158-3172.

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 the 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 in various DNA repair processes and their role in the 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 taking into consideration the interaction between known genomic alterations and OXA and IRI activity to personalize chemotherapy in mCRC patients.

Guadagni F, Pedone E, Badalamenti G, Russo A, Bazan V.

Impact of deleterious variants in other genes beyond BRCA1/2 detected in breast/ovarian and pancreatic cancer patients by NGS-based multi-gene panel testing: looking over the hedge.

Hereditary breast cancer (BC), ovarian cancer (OC), and pancreatic cancer (PC) are the major BRCA-associated tumours. However, some BRCA1/2-wild-type (wt) patients with a strong personal and/or family history of cancer need a further genetic testing through a multi-gene panel containing other high- and moderate-risk susceptibility genes.

Our study was aimed to assess if some BC, OC, or PC patients should be offered multi-gene panel testing, based on well-defined criteria concerning their personal and/or family history of cancer, such as earliness of cancer onset, occurrence of multiple tumours, or presence of at least two or more affected first-degree relatives. For this purpose, 205 out of 915 BC, OC, or PC patients, resulted negative for BRCA1/2 and with significant personal and/or family history of cancer, were genetically tested for germline pathogenic or likely pathogenic variants (PVs/LPVs) in genes different from BRCA1/2.

Our investigation revealed that 31 (15.1%) out of 205 patients harboured germline PVs/LPVs in no-BRCA genes, including PALB2, CHEK2, ATM, MUTYH, MSH2, and RAD51C. Interestingly, in the absence of an analysis conducted through multi-gene panel, a considerable percentage (15.1%) of PVs/LPVs would have been lost.

Providing a multi-gene panel testing to BRCA1/2-wt BC/OC/PC patients with a strong personal and/or family history of cancer could significantly increase the detection rates of germline PVs/LPVs in other cancer predisposition genes beyond BRCA1/2. The use of a multi-gene panel testing could improve the inherited cancer risk estimation and clinical management of patients and unaffected family members.

Gutzkow KB, Hernández A, Hernández C, Holven KB, Ibero-Baraibar I, Ottestad I, Kadioglu E, Kažimirová A, Kuznetsova E, Ladeira C, Laffon B, Lamonaca P, Lebailly P, Louro H, Mandina Cardoso T, Marcon F, Marcos R, Moretti M, Moretti S, Najafzadeh M, Nemeth Z, Neri M, Novotna B, Orlov I, Paduchova Z, Pastor S, Perdry H, Spremo-Potparević B, Ramadhani D, Riso P, Rohr P, Rojas E, Rossner P, Safar A, Sardas S, Silva MJ, Sirota N, Smolkova B, Staruchova M, Stetina R, Stopper H, Surikova EI, Ulven SM, Ursini CL, Valdiglesias V, Valverde M, Vodicka P, Volkovova K, Wagner KH, Živković L, Dušinská M, Collins AR, Bonassi S.

The hCOMET project: International database comparison of results with the comet assay in human biomonitoring. Baseline frequency of DNA damage and effect of main confounders.

Mutat Res. 2021 Jan-Jun;787:108371. Epub 2021 Feb 6.

The alkaline comet assay, or single cell gel electrophoresis, is one of the most popular methods for assessing DNA damage in human population. One of the open issues concerning this assay is the identification of those factors that can explain the large inter-individual and inter-laboratory variation. International collaborative initiatives such as the hCOMET project - a COST Action launched in 2016 - represent a valuable tool to meet this challenge. The aims of hCOMET were to establish reference values for the level of DNA damage in humans, to investigate the effect of host factors, lifestyle and exposure to genotoxic agents, and to compare different sources of assay variability. A database of 19,320 subjects was generated, pooling data from 105 studies run by 44 laboratories in 26 countries between 1999 and 2019. A mixed random effect log-linear model, in parallel with a classic meta-analysis, was applied to take into account the extensive heterogeneity of data, due to descriptor, specimen and protocol variability. As a result of this analysis interquartile intervals of DNA strand breaks (which includes alkali-labile sites) were reported for tail intensity, tail length, and tail moment (comet assay descriptors). A small variation by age was reported in some datasets, suggesting higher DNA damage in oldest age-classes, while no effect could be shown for sex or smoking habit, although the lack of data on heavy smokers has still to be considered. Finally, highly significant differences in DNA damage were found for most exposures investigated in specific studies. In conclusion, these data, which confirm that DNA damage measured by the comet assay is an excellent biomarker of exposure in several conditions, may contribute to improving the quality of study design and to the standardization of results of the comet assay in human populations.

Fenech M., Knasmueller S, Knudsen LE, Kirsch-Volders M, Deo P, Franzke B, Bonassi S.

“Micronuclei and disease” special issue: Aims, scope, and synthesis of outcomes.

Mutat Res Rev Mutat Res Reviews, 788 Jul-Dec 2021;788:108384, Epub 2021 Jun 5.

The purpose of the "Micronuclei and Disease" special issue (SI) is to: (i) Determine the level of evidence for association of micronuclei (MN), a biomarker of numerical and structural chromosomal aberrations, with risk of specific diseases in humans; (ii) Define plausible mechanisms that explain association of MN with each disease; (iii) Identify knowledge gaps and research needed to translate MN assays into clinical practice. The "MN and Disease" SI includes 14 papers. The first is a review of mechanisms of MN formation and their consequences in humans. 11 papers are systematic reviews and/or meta-analyses of the association of MN with reproduction, child health, inflammation, auto-immune disease, glycation, metabolic diseases, chronic kidney disease, cardiovascular disease, eleven common cancers, ageing and frailty. The penultimate paper focuses on effect of interventions on MN frequency in the elderly. A road map for translation of MN data into clinical practice is the topic of the final paper. The majority of reviewed studies were case-control studies in which the ratio of mean MN frequency in disease cases relative to controls, i.e. the mean ratio (MR), was calculated. The mean of these MR values, estimated by meta-analyses, for lymphocyte and buccal cell MN in non-cancer diseases were 2.3 and 3.6 respectively, and for cancers they were 1.7 and 2.6 respectively. The highest MR values were observed in studies of cancer cases in which MN were measured in the same tissue as the tumour (MR = 4.9-10.8). This special issue is an important milestone in the evidence supporting MN as a reliable genomic biomarker of developmental and degenerative disease risk. These advances, together with results from prospective cohort studies, are helping to identify diseases in which MN assays can be practically employed in the clinical setting to better identify high risk patients and to prioritise them for preventive therapy.

Bianchetti G, Ciccarone F, Ciriolo MR, De Spirito M, Pani G, Maulucci G.

Label-free metabolic clustering through unsupervised pixel classification of multiparametric fluorescent images.

Anal Chim Acta. 2021 Mar 1;1148:238173. Epub 2020 Dec 31.

Autofluorescence microscopy is a promising label-free approach to characterize NADH and FAD metabolites in live cells, with potential applications in clinical practice. Although spectrally resolved lifetime imaging techniques can acquire multiparametric information about the biophysical and biochemical state of the metabolites, these data are evaluated at the whole-cell level, thus providing only limited insights in the activation of metabolic networks at the microscale. To overcome this issue, here we introduce an artificial intelligence-based analysis that, leveraging the multiparametric content of spectrally resolved lifetime images, allows to detect and classify, through an unsupervised learning approach, metabolic clusters, which are regions having almost uniform metabolic properties. This method contextually detects the cellular mitochondrial turnover and the metabolic activation state of intracellular compartments at the pixel level, described by two functions: the cytosolic activation state (CAF) and the mitochondrial activation state (MAF). This method was applied to investigate metabolic changes elicited in the breast cancer cell line MCF-7 by specific inhibitors of glycolysis and electron transport chain, and by the deregulation of a specific mitochondrial enzyme (ACO2) leading to defective aerobic metabolism associated with tumor growth. In this model, mitochondrial fraction undergoes to a 13% increase upon ACO2 overexpression and the MAF function changes abruptly by altering the metabolic state of about the 25% of the mitochondrial pixels.

MET, Jansen E, Grune T, Gonos ES, Schön C, Bernhardt J, Grubeck-Loebenstein B, Sikora E, Toussaint O, Debacq-Chainiaux F, Capri M, Hervonen A, Hurme M, Slagboom PE, Breusing N, Aversano V, Tagliatesta S, Franceschi C, Blasco MA, Bürkle A, Caiafa P, Zampieri M.

Ageing affects subtelomeric DNA methylation in blood cells from a large European population enrolled in the MARK-AGE study.

Geroscience. 2021 Apr 19. Epub ahead of print.

Ageing leaves characteristic traces in the DNA methylation make-up of the genome. However, the importance of DNA methylation in ageing remains unclear. The study of subtelomeric regions could give promising insights into this issue. Previously reported associations between susceptibility to age-related diseases and epigenetic instability at subtelomeres suggest that the DNA methylation profile of subtelomeres undergoes remodelling during ageing. In the present work, this hypothesis has been tested in the context of the European large-scale project MARK-AGE. In this cross-sectional study, we profiled the DNA methylation of chromosomes 5 and 21 subtelomeres, in more than 2000 age-stratified women and men recruited in eight European countries. The study included individuals from the general population as well as the offspring of nonagenarians and Down syndrome subjects, who served as putative models of delayed and accelerated ageing, respectively. Significant linear changes of subtelomeric DNA methylation with increasing age were detected in the general population, indicating that subtelomeric DNA methylation changes are typical signs of ageing. Data also show that, compared to the general population, the dynamics of age-related DNA methylation changes are attenuated in the offspring of centenarian, while they accelerate in Down syndrome individuals. This result suggests that subtelomeric DNA methylation changes reflect the rate of ageing progression. We next attempted to trace the age-related changes of subtelomeric methylation back to the influence of diverse variables associated with methylation variations in the population, including demographics, dietary/health habits and clinical parameters. Results indicate that the effects of age on subtelomeric DNA methylation are mostly independent of all other variables evaluated.

Castelli S, Ciccarone F, Tavian D, Ciriolo MR.

ROS-dependent HIF1 α activation under forced lipid catabolism entails glycolysis and mitophagy as mediators of higher proliferation rate in cervical cancer cells.

J Exp Clin Cancer Res. 2021Mar 11;40(1):94.

In the last decades, the concept of metabolic rewiring as a cancer hallmark has been expanded beyond the "Warburg effect" and the importance of other metabolic routes, including lipid metabolism, has emerged. In cancer, lipids are not only a source of energy but are also required for the formation of membranes building blocks, signaling and post-translational modification of proteins. Since lipid metabolism contributes to the malignancy of cancer cells, it is an attractive target for therapeutic strategies.

Over-expression of the adipose triglyceride lipase (ATGL) was used to boost lipid catabolism in cervical cancer cells. The cervical cancer cell line HeLa was employed as the primary experimental model for all subsequent studies. The lipolytic activity of ATGL was mimicked by caproate, a short-chain fatty acid that is efficiently oxidized in mitochondria.

Here, we provide evidence of the association between boosted lipid catabolism and the increased proliferation and migration capability of cervical cancer cells. These pro-tumoral effects were ascribed to the reactive oxygen species (ROS)-mediated induction of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF1 α) triggered by the increased mitochondrial fatty acids (FAs) oxidation. HIF1 α activation increases glycolytic flux and lactate production, promoting cell proliferation. At the same time, HIF1 α increases protein and mRNA levels of its known target BCL2 and adenovirus E1B 19-kDa-interacting protein 3 (BNIP3), which in turn activates mitophagy as a pro-survival process, as demonstrated by the induction of apoptosis upon inhibition of mitophagy. These effects were mimicked by the short-chain fatty acid caproate, confirming that forcing lipid catabolism results in HIF1 α induction.

Boosting lipid catabolism by ATGL over-expression has a pro-tumor role in cervical cancer cells, dependent on ROS production and HIF1 α induction. Together with the bioinformatics evidence of the correlation of ATGL activity with the aggressiveness of cervical cancer cells, our data suggest that ATGL could be a promising prognostic marker for cervical cancer and highlight the need of further investigations on the role of this lipase in cancer cells. This evidence could be exploited to develop new personalized therapy, based on the functionality of the antioxidant equipment of cancer cells, considering that ROS content could affect ATGL role.

Desideri E, Ciriolo MR.

Inhibition of JNK increases the sensitivity of hepatocellular carcinoma cells to lysosomotropic drugs via LAMP2A destabilization.

Cell Death Discov. 2021 Feb 8;7(1):29

Alteration of lysosomal homeostasis is common in cancer cells, which often feature an enlarged and peripheral distributed lysosomal compartment and the overexpression of cathepsins. These alterations accelerate the production of building blocks for the de novo synthesis of macromolecules and contribute to the degradation of the extracellular matrix, thus contributing to tumor growth and invasion. At the same time, they make lysosomes more fragile and more prone to lysosomal membrane permeabilization, a condition that can cause the release of proteases into the cytosol and the activation of cell death. Therefore, lysosomes represent a weak spot of cancer cells that can be targeted for therapeutic purposes. Here, we identify a novel role of the kinase JNK as keeper of lysosomal stability in hepatocellular carcinoma cells. JNK inhibition reduces the stability of LAMP2A, a lysosomal membrane protein responsible for the stability of the lysosomal membrane, promoting its degradation by the proteasome. LAMP2A decrease enhances the lysosomal damage induced by lysosomotropic agents, ultimately leading to cell death. The effect is cancer-specific, as JNK inhibition does not decrease LAMP2A in non-tumoral liver cells and does not alter their sensitivity to lysosomotropic drugs. Our finding on the new role of JNK as cancer-specific keeper of lysosomal homeostasis lays the ground for future evaluation of the efficacy of the combination of JNK inhibition and lysosomotropic agents as a potential therapeutic strategy in hepatocellular carcinoma.

Desideri E, Ciccarone F, Ciriolo MR, Fratantonio D.

Extracellular vesicles in endothelial cells: from mediators of cell-to-cell communication to cargo delivery tools.

Free Radic Biol Med. 2021 Aug 20;172:508-520.

Extracellular vesicles (EVs) are nanosized vesicles released from most cell types that play a key role in cell-to-cell communication by carrying DNA, non-coding RNAs, proteins and lipids out of cells. The composition of EVs depends on the cell or tissue of origin and changes according to their pathophysiological conditions, making EVs a potential circulating biomarker of disease. Additionally, the natural tropism of EVs for specific organs and cells has raised the interest in their use as delivery vehicles. In this review, we provide an overview of EV biogenesis, isolation and characterization. We also discuss EVs in the context of endothelial pathophysiology, summarizing the current knowledge about their role in cell communication in quiescent and activated endothelial cells. In the last part, we describe the potential use of EVs as delivery vehicles of bioactive compounds and the current strategies to load exogenous cargo and to functionalize EVs to drive them to a specific tissue.

Giansanti M, De Gabrieli A, Prete SP, Ottone T, Divona MD, Karimi T, **Ciccarone F**, Voso MT, Graziani G, Faraoni I.

Poly(ADP-Ribose) polymerase inhibitors for arsenic trioxide-resistant acute promyelocytic leukemia: synergistic in vitro antitumor effects with hypomethylating agents or high-dose vitamin C.

J Pharmacol Exp Ther. 2021 Jun;377(3):385-397.

Arsenic trioxide (ATO) is an anticancer agent used for the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL). However, 5%-10% of patients fail to respond or experience disease relapse. Based on poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) 1 involvement in the processing of DNA demethylation, here we have tested the in vitro susceptibility of ATO-resistant clones (derived from the human APL cell line NB4) to PARP inhibitors (PARPi) in combination with hypomethylating agents (azacitidine and decitabine) or high-dose vitamin C (ascorbate), which induces 5-hydroxymethylcytosine (5hmC)-mediated DNA demethylation. ATO-sensitive and -resistant APL cell clones were generated and initially analyzed for their susceptibility to five clinically

used PARPi (olaparib, niraparib, rucaparib, veliparib, and talazoparib). The obtained PARPi IC50 values were far below (olaparib and niraparib), within the range (talazoparib), or above (rucaparib and veliparib) the C_{max} reported in patients, likely as a result of differences in the mechanisms of their cytotoxic activity. ATO-resistant APL cells were also susceptible to clinically relevant concentrations of azacitidine and decitabine and to high-dose ascorbate. Interestingly, the combination of these agents with olaparib, niraparib, or talazoparib resulted in synergistic antitumor activity. In combination with ascorbate, PARPi increased the ascorbate-mediated induction of 5hmC, which likely resulted in stalled DNA repair and cytotoxicity. Talazoparib was the most effective PARPi in synergizing with ascorbate, in accordance with its marked ability to trap PARP1 at damaged DNA. These findings suggest that ATO and PARPi have nonoverlapping resistance mechanisms and support further investigation on PARPi combination with hypomethylating agents or high-dose ascorbate for relapsed/ATO-refractory APL, especially in frail patients. SIGNIFICANCE STATEMENT: This study found that poly(ADP-ribose) inhibitors (PARPi) show activity as single agents against human acute promyelocytic leukemia cells resistant to arsenic trioxide at clinically relevant concentrations. Furthermore, PARPi enhance the in vitro efficacy of azacitidine, decitabine, and high-dose vitamin C, all agents that alter DNA methylation. In combination with vitamin C, PARPi increase the levels of 5-hydroxymethylcytosine, likely as a result of altered processing of the oxidized intermediates associated with DNA demethylation.

Castelli S, De Falco P, Ciccarone F, Desideri E, Ciriolo MR.

Lipid catabolism and ROS in cancer: a bidirectional liaison.

Cancers (Basel). 2021 Oct31;13(21):5484.

Although cancer cell metabolism was mainly considered to rely on glycolysis, with the concomitant impairment of mitochondrial metabolism, it has recently been demonstrated that several tumor types are sustained by oxidative phosphorylation (OXPHOS). In this context, endogenous fatty acids (FAs) deriving from lipolysis or lipophagy are oxidised into the mitochondrion, and are used as a source of energy through OXPHOS. Because the electron transport chain is the main source of ROS, cancer cells relying on fatty acid oxidation (FAO) need to be equipped with antioxidant systems that maintain the ROS levels under the death threshold. In those conditions, ROS can act as second messengers, favouring proliferation and survival. Herein, we highlight the different responses that tumor cells adopt when lipid catabolism is augmented, taking into account the different ROS fates. Many papers have demonstrated that the pro- or anti-tumoral roles of endogenous FA usage are hugely dependent on the tumor type, and on the capacity of cancer cells to maintain redox homeostasis. In light of this, clinical studies have taken advantage of the boosting of lipid catabolism to increase the efficacy of tumor therapy, whereas, in other contexts, antioxidant compounds are useful to reduce the pro-survival effects of ROS deriving from FAO.

Malafoglia V, Ilari S, Vitiello L, Tenti M, Balzani E, Muscoli C, Raffaelli W, Bonci A.

The interplay between chronic pain, opioids, and the immune system.

Neuroscientist. 2021 Jul 16:10738584211030493.

Chronic pain represents one of the most serious worldwide medical problems, in terms of both social and economic costs, often causing severe and intractable physical and psychological suffering. The lack of biological markers for pain, which could assist in forming clearer diagnoses and prognoses, makes chronic pain therapy particularly arduous and sometimes harmful. Opioids are used worldwide to treat chronic pain conditions, but there is still an ambiguous and inadequate understanding about their therapeutic use, mostly because of their dual effect in acutely reducing pain and inducing, at the same time, tolerance, dependence, and a risk for opioid use disorder. In addition, clinical studies suggest that opioid treatment can be associated with a high risk of immune suppression and the development of inflammatory events, worsening the chronic pain status itself. While opioid peptides and receptors are expressed in both central and peripheral nervous cells, immune cells, and tissues, the role of opioids and their receptors, when and why they are activated endogenously and what their exact role is in chronic pain pathways is still poorly

understood. Thus, in this review we aim to highlight the interplay between pain and immune system, focusing on opioids and their receptors.

Sciaccaluga M, Megaro A, Bellomo G, Ruffolo G, Romoli M, Palma E, Costa C.

An unbalanced synaptic transmission: cause or consequence of the amyloid oligomers neurotoxicity?

Int J Mol Sci. 2021 Jun 1;22(11):5991.

Amyloid- β (A β) 1-40 and 1-42 peptides are key mediators of synaptic and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease (AD). Whereas in AD, A β is found to act as a pro-epileptogenic factor even before plaque formation, amyloid pathology has been detected among patients with epilepsy with increased risk of developing AD. Among A β aggregated species, soluble oligomers are suggested to be responsible for most of A β 's toxic effects. A β oligomers exert extracellular and intracellular toxicity through different mechanisms, including interaction with membrane receptors and the formation of ion-permeable channels in cellular membranes. These damages, linked to an unbalance between excitatory and inhibitory neurotransmission, often result in neuronal hyperexcitability and neural circuit dysfunction, which in turn increase A β deposition and facilitate neurodegeneration, resulting in an A β -driven vicious loop. In this review, we summarize the most representative literature on the effects that oligomeric A β induces on synaptic dysfunction and network disorganization.

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

The muscle to bone axis (and viceversa): an encrypted language affecting tissues and organs and yet to be codified?

Pharmacol Res. 2021 Jan 13:105427.

Skeletal muscles and bone tissue form the musculoskeletal apparatus, a complex system essential for the voluntary movement. The loss of muscle mass and muscle strength is often associated with a loss of bone mass, in a "hazardous duet" which implies the co-existence of sarcopenia-osteoporosis and exposes patients to a deterioration in quality of life and increased mortality. From the mechanostat theory to the recent definition of the osteosarcopenia syndrome, many aspects of muscle-bone interaction have been investigated in recent decades. The mechanical interaction is now accepted, considering the close anatomical relationship between the two tissues, however, much remains to be discovered regarding the biochemical muscle-bone interaction. Skeletal muscle has been defined as an endocrine organ capable of exerting an action on other tissues. Myokines, bioactive polypeptides released by the muscle, could represent the encrypted message in the communication between muscle and bone. These two tissues have a reciprocal influence on their metabolisms and respond in a similar way to the multiple external factors. The aim of this review is to stimulate the understanding of the encrypted language between muscle and bone, highlighting the role of catabolic pathways and oxidative stress in the musculoskeletal apparatus to elucidate the shared mechanisms and the similarity of response to the same stimuli by different tissues. Our understanding of muscle-bone interactions it could be useful to identify and develop new strategies to treat musculoskeletal diseases, together with pharmacological, nutritional and exercise-based approaches, which are already in use for the treatment of these pathologies.

Maiuolo J, Muscoli C, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Paone S, Ilari S, Mollace R, Palma E, Mollace V.

Endothelial dysfunction and extra-articular neurological manifestations in rheumatoid arthritis.

Biomolecules. 2021 Jan 10;11(1):81.

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, systemic, inflammatory autoimmune disease that affects about 1% of the global population, with a female-male ratio of 3:1. RA preferably affects the joints, with consequent

joint swelling and deformities followed by ankylosis. However, evidence has accumulated showing that patients suffering from RA can also develop extra-articular manifestations, including cardiovascular disease states, neuropathies, and multiorgan dysfunction. In particular, peripheral nerve disorders showed a consistent impact in the course of the disease (prevalence about 20%) mostly associated to vasculitis of the nerve vessels leading to vascular ischemia, axonal degeneration, and neuronal demyelination. The pathophysiological basis of this RA-associated microvascular disease, which leads to impairment of axonal functionality, is still to be better clarified. However, endothelial dysfunction and alterations of the so-called brain-nerve barrier (BNB) seem to play a fundamental role. This review aims to assess the potential mechanisms underlying the impairment of endothelial cell functionality in the development of RA and to identify the role of dysfunctional endothelium as a causative mechanism of extra-articular manifestation of RA. On the other hand, the potential impact of lifestyle and nutritional interventions targeting the maintenance of endothelial cell integrity in patients with RA will be discussed as a potential option when approaching therapeutic solutions in the course of the disease.

M, Oppedisano F, Bosco F, Ruga S, Zito MC, Macri R, Palma E, **Muscoli C, Mollace V.**
The contribution of gut microbiota-brain axis in the development of brain disorders.
Front Neurosci. 2021 Mar 23;15:616883.

Different bacterial families colonize most mucosal tissues in the human organism such as the skin, mouth, vagina, respiratory, and gastrointestinal districts. In particular, the mammalian intestine hosts a microbial community of between 1,000 and 1,500 bacterial species, collectively called "microbiota." Co-metabolism between the microbiota and the host system is generated and the symbiotic relationship is mutually beneficial. The balance that is achieved between the microbiota and the host organism is fundamental to the organization of the immune system. Scientific studies have highlighted a direct correlation between the intestinal microbiota and the brain, establishing the existence of the gut microbiota-brain axis. Based on this theory, the microbiota acts on the development, physiology, and cognitive functions of the brain, although the mechanisms involved have not yet been fully interpreted. Similarly, a close relationship between alteration of the intestinal microbiota and the onset of several neurological pathologies has been highlighted. This review aims to point out current knowledge as can be found in literature regarding the connection between intestinal dysbiosis and the onset of particular neurological pathologies such as anxiety and depression, autism spectrum disorder, and multiple sclerosis. These disorders have always been considered to be a consequence of neuronal alteration, but in this review, we hypothesize that these alterations may be non-neuronal in origin, and consider the idea that the composition of the microbiota could be directly involved. In this direction, the following two key points will be highlighted: (1) the direct cross-talk that comes about between neurons and gut microbiota, and (2) the degree of impact of the microbiota on the brain. Could we consider the microbiota a valuable target for reducing or modulating the incidence of certain neurological diseases?

Maiuolo J, Bava I, Carresi C, Gliozzi M, Musolino V, Scarano F, Nucera S, Scicchitano M, Bosco F, Ruga S, Caterina Zito M, Oppedisano F, Macri R, Tavernese A, Mollace R, Mollace V.
The effects of bergamot polyphenolic fraction, cynara cardunculus, and olea europea l. extract on doxorubicin-induced cardiotoxicity.
Nutrients. 2021 Jun 23;13(7):2158.

Doxorubicin is an anthracycline that is commonly used as a chemotherapy drug due to its cytotoxic effects. The clinical use of doxorubicin is limited due to its known cardiotoxic effects. Treatment with anthracyclines causes heart failure in 15-17% of patients, resulting in mitochondrial dysfunction, the accumulation of reactive oxygen species, intracellular calcium dysregulation, the deterioration of the cardiomyocyte structure, and apoptotic cell death. Polyphenols have a wide range of beneficial properties, and particular importance is given to Bergamot Polyphenolic Fraction; Oleuropein, one of the main polyphenolic compounds of olive oil; and *Cynara cardunculus* extract. These natural compounds have particular beneficial characteristics, owing to their high polyphenol contents. Among these, their antioxidant and

antoproliferative properties are the most important. The aim of this paper was to investigate the effects of these three plant derivatives using an in vitro model of cardiotoxicity induced by the treatment of rat embryonic cardiomyoblasts (H9c2) with doxorubicin. The biological mechanisms involved and the crosstalk existing between the mitochondria and the endoplasmic reticulum were examined. Bergamot Polyphenolic Fraction, Oleuropein, and Cynara cardunculus extract were able to decrease the damage induced by exposure to doxorubicin. In particular, these natural compounds were found to reduce cell mortality and oxidative damage, increase the lipid content, and decrease the concentration of calcium ions that escaped from the endoplasmic reticulum. In addition, the direct involvement of this cellular organelle was demonstrated by silencing the ATF6 arm of the Unfolded Protein Response, which was activated after treatment with doxorubicin.

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

From metabolic syndrome to neurological diseases: role of autophagy.

Front Cell DevBiol. 2021 Mar 19;9:651021.

Metabolic syndrome is not a single pathology, but a constellation of cardiovascular disease risk factors including: central and abdominal obesity, systemic hypertension, insulin resistance (or type 2 diabetes mellitus), and atherogenic dyslipidemia. The global incidence of Metabolic syndrome is estimated to be about one quarter of the world population; for this reason, it would be desirable to better understand the underlying mechanisms involved in order to develop treatments that can reduce or eliminate the damage caused. The effects of Metabolic syndrome are multiple and wide ranging; some of which have an impact on the central nervous system and cause neurological and neurodegenerative diseases. Autophagy is a catabolic intracellular process, essential for the recycling of cytoplasmic materials and for the degradation of damaged cellular organelle. Therefore, autophagy is primarily a cytoprotective mechanism; even if excessive cellular degradation can be detrimental. To date, it is known that systemic autophagic insufficiency is able to cause metabolic balance deterioration and facilitate the onset of metabolic syndrome. This review aims to highlight the current state of knowledge regarding the connection between metabolic syndrome and the onset of several neurological diseases related to it. Furthermore, since autophagy has been found to be of particular importance in metabolic disorders, the probable involvement of this degradative process is assumed to be responsible for the attenuation of neurological disorders resulting from metabolic syndrome.

Maiuolo J, Carresi C, Gliozzi M, Musolino V, Scarano F, Coppoletta AR, Guarnieri L, Nucera S, Scicchitano M, Bosco F, Ruga S, Zito MC, Macri R, Cardamone A, Serra M, Mollace R, Tavernese A, Mollace V.

Effects of bergamot polyphenols on mitochondrial dysfunction and sarcoplasmic reticulum stress in diabetic cardiomyopathy.

Nutrients. 2021 Jul 20;13(7):2476.

Cardiovascular disease is the leading cause of death and disability in the Western world. In order to safeguard the structure and the functionality of the myocardium, it is extremely important to adequately support the cardiomyocytes. Two cellular organelles of cardiomyocytes are essential for cell survival and to ensure proper functioning of the myocardium: mitochondria and the sarcoplasmic reticulum. Mitochondria are responsible for the energy metabolism of the myocardium, and regulate the processes that can lead to cell death. The sarcoplasmic reticulum preserves the physiological concentration of the calcium ion, and triggers processes to protect the structural and functional integrity of the proteins. The alterations of these organelles can damage myocardial functioning. A proper nutritional balance regarding the intake of macronutrients and micronutrients leads to a significant improvement in the symptoms and consequences of heart disease. In particular, the Mediterranean diet, characterized by a high consumption of plant-based foods, small quantities of red meat, and high quantities of olive oil, reduces and improves the pathological condition of patients with heart failure. In addition, nutritional support and nutraceutical supplementation

in patients who develop heart failure can contribute to the protection of the failing myocardium. Since polyphenols have numerous beneficial properties, including anti-inflammatory and antioxidant properties, this review gathers what is known about the beneficial effects of polyphenol-rich bergamot fruit on the cardiovascular system. In particular, the role of bergamot polyphenols in mitochondrial and sarcoplasmic dysfunctions in diabetic cardiomyopathy is reported.

Ilari S, Lauro F, Giancotti LA, Malafoglia V, Dagostino C, Gliozzi M, Condemi A, Maiuolo J, Oppedisano F, Palma E, Tomino C, Salvemini D, Mollace V, Muscoli C.

The protective effect of Bergamot Polyphenolic Fraction (BPF) on chemotherapy-induced neuropathic pain.

Pharmaceuticals (Basel). 2021 Sep 25;14(10):975.

Paclitaxel is a chemotherapeutic drug used for cancer treatment. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN) is a common major dose-limiting side effect of many chemotherapeutic agents, including paclitaxel. CIPN is accompanied by mechanical and thermal hypersensitivity that resolves within weeks, months, or years after drug termination. To date, there is no available preventive strategy or effective treatment for CIPN due to the fact that its etiology has not been fully explained. It is clear that free radicals are implicated in many neurodegenerative diseases and recent studies have shown the important role of oxidative stress in development of CIPN. Here, we observed how, in rats, the administration of a natural antioxidant such as the bergamot polyphenolic extract (BPF), can play a crucial role in reducing CIPN. Paclitaxel administration induced mechanical allodynia and thermal hyperalgesia, which began to manifest on day seven, and reached its lowest levels on day fifteen. Paclitaxel-induced neuropathic pain was associated with nitration of proteins in the spinal cord including MnSOD, glutamine synthetase, and glutamate transporter GLT-1. This study showed that the use of BPF, probably by inhibiting the nitration of crucial proteins involved in oxidative stress, improved paclitaxel-induced pain behaviors relieving mechanical allodynia, thermal hyperalgesia, thus preventing the development of chemotherapy-induced neuropathic pain.

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

Cholesterol homeostasis: researching a dialogue between the brain and peripheral tissues.

Pharmacol Res. 2021 Jan;163:105215.

Cholesterol homeostasis is a highly regulated process in human body because of its several functions underlying the biology of cell membranes, the synthesis of all steroid hormones and bile acids and the need of trafficking lipids destined to cell metabolism. In particular, it has been recognized that peripheral and central nervous system cholesterol metabolism are separated by the blood brain barrier and are regulated independently; indeed, peripherally, it depends on the balance between dietary intake and hepatic synthesis on one hand and its degradation on the other, whereas in central nervous system it is synthesized de novo to ensure brain physiology. In view of this complex metabolism and its relevant functions in mammalian, impaired levels of cholesterol can induce severe cellular dysfunction leading to metabolic, cardiovascular and neurodegenerative diseases. The aim of this review is to clarify the role of cholesterol homeostasis in health and disease highlighting new intriguing aspects of the cross talk between its central and peripheral metabolism.

Scicchitano M, Carresi C, Nucera S, Ruga S, Maiuolo J, Macrì R, Scarano F, Bosco F, Mollace R, Cardamone A, Coppoletta AR, Guarnieri L, Zito MC, Bava I, Cariati L, Greco M, Foti DP, Palma E, Gliozzi M, Musolino V, Mollace V.

Icariin protects H9c2 rat cardiomyoblasts from doxorubicin-induced cardiotoxicity: role of Caveolin-1 upregulation and enhanced autophagic response.

Nutrients. 2021 Nov14;13(11):4070.

Doxorubicin (Doxo) is a widely used antineoplastic drug which often induces cardiomyopathy, leading to congestive heart failure through the intramyocardial production of reactive oxygen species (ROS). Icariin (Ica) is a flavonoid isolated from *Epimedium Herba* (Berberidaceae). Some reports on the pharmacological activity of Ica explained its antioxidant and cardioprotective effects. The aim of our study was to assess the protective activities of Ica against Doxo-detrimental effects on rat heart-tissue derived embryonic cardiac myoblasts (H9c2 cells) and to identify, at least in part, the molecular mechanisms involved. Our results showed that pretreatment of H9c2 cells with 1 μ M and 5 μ M of Ica, prior to Doxo exposure, resulted in an improvement in cell viability, a reduction in ROS generation, the prevention of mitochondrial dysfunction and mPTP opening. Furthermore, for the first time, we identified one feasible molecular mechanism through which Ica could exert its cardioprotective effects. Indeed, our data showed a significant reduction in Caveolin-1(Cav-1) expression levels and a specific inhibitory effect on phosphodiesterase 5 (PDE5a) activity, improving mitochondrial function compared to Doxo-treated cells. Besides, Ica significantly prevented apoptotic cell death and downregulated the main pro-autophagic marker Beclin-1 and LC3 lipidation rate, restoring physiological levels of activation of the protective autophagic process. These results suggest that Ica might have beneficial cardioprotective effects in attenuating cardiotoxicity in patients requiring anthracycline chemotherapy through the inhibition of oxidative stress and, in particular, through the modulation of Cav-1 expression levels and the involvement of PDE5a activity, thereby leading to cardiac cell survival.

Marzolla V, Feraco A, Limana F, Kolkhof P, Armani A, Caprio M.

Class-specific responses of brown adipose tissue to steroidal and nonsteroidal mineralocorticoid receptor antagonists.

J Endocrinol Invest. Epub 2021 Jul 16.

Aldosterone exerts deleterious effects on the cardiovascular system and promotes adipose tissue expansion via mineralocorticoid receptor (MR) activation. We previously demonstrated that administration of steroidal mineralocorticoid receptor antagonists (MRA) in mice fed a moderate high-fat diet is able to reduce white adipose tissue (WAT) expansion, stimulate browning of WAT and activate interscapular brown adipose tissue (iBAT). Here, we aimed to compare the metabolic and adipose tissue-specific effects of the novel non-steroidal MRA finerenone (Fine) and spironolactone (Spiro) in a mouse model of very high-fat diet (HFD)-induced obesity. C57BL/6 J male mice were fed a 60% HFD containing or not Spiro or Fine for 12 weeks. WAT and iBAT morphology and adipose tissue gene expression analysis were assessed. After 12 weeks, both groups of mice showed similar weight gain compared to the HFD group. Histological and molecular analyses of WAT did not show significant differences among all experimental groups; differently, iBAT histological analysis revealed that Fine was able to increase recruitment of brown adipocytes in this depot, whereas mice treated with Spiro failed to elicit any iBAT response, as indicated by no changes in lipid droplets size and iBAT density, compared to HFD. Increased iBAT recruitment could explain, at least in part, the improved insulin resistance observed in mice treated with Fine, as shown by a significant reduction in homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA) index. These findings were confirmed by gene expression analysis of *ucp-1*, *pgc1- α* , and *beta-3* adrenoreceptor (*Adrb3*) in iBAT, revealing significantly higher expression of these thermogenic genes in HFD + Fine group compared to HFD, whereas Spiro did not modify their expression. In summary, we demonstrated that, differently from Fine, Spiro did not induce iBAT recruitment. Our current study suggests that Fine, through its direct effects on iBAT, represents a promising pharmacologic tool to treat human metabolic diseases associated with adipose tissue dysfunctions.

Belli R, Bonato A, De Angelis L, Mirabilii S, Ricciardi MR, Tafuri A, Molfino A, Gorini S, Leigheb M, Costelli P, Caruso M, Muscaritoli M, Ferraro E.

Corrigendum: metabolic reprogramming promotes myogenesis during aging.

Front Physiol. 2021 May 12;12:674698.

Erratum for:

Metabolic Reprogramming Promotes Myogenesis During Aging.

Belli R, Bonato A, De Angelis L, Mirabilli S, Ricciardi MR, Tafuri A, Molfino A, Gorini S, Leigheb M, Costelli P, Caruso M, Muscaritoli M, Ferraro E.

Front Physiol. 2019 Jul 10;10:897. eCollection 2019.

Greco EA, Feraco A, Marzolla V, Mirabelli M, Cimino L, Armani A, Brunetti A, Caprio M.

Nonsteroidal mineralcorticoid receptor antagonists: novel therapeutic implication in the management of patients with type 2 diabetes.

Curr Opin Pharmacol. 2021 Oct;60:216-225.

Growing evidence has described a correlation between aldosterone, obesity, and insulin resistance, suggesting that adipocyte-related factors and mineralocorticoid receptor (MR) overactivation may alter aldosterone secretion, potentially leading to obesity and glucose intolerance. Preclinical studies showed that pharmacological antagonism of MR prevents white adipose tissue dysfunction(s) and expansion, activates brown adipose tissue, and improves glucose tolerance. The clinical use of nonsteroidal MR antagonists has been shown to reduce the risk of diabetic kidney disease progression and cardiovascular events in patients with diabetes. This review aims to summarize the effects of pharmacological MR blockade on obesity and its associated metabolic comorbidities, with a particular focus on the therapeutic implications of nonsteroidal MR antagonists in the management of patients with diabetes.

Feraco A, Gorini S, Armani A, Camajani E, Rizzo M, Caprio M.

Exploring the role of skeletal muscle in insulin resistance: lessons from cultured cells to animal models.

Int J Mol Sci. 2021 Aug 28;22(17):9327.

Skeletal muscle is essential to maintain vital functions such as movement, breathing, and thermogenesis, and it is now recognized as an endocrine organ. Muscles release factors named myokines, which can regulate several physiological processes. Moreover, skeletal muscle is particularly important in maintaining body homeostasis, since it is responsible for more than 75% of all insulin-mediated glucose disposal. Alterations of skeletal muscle differentiation and function, with subsequent dysfunctional expression and secretion of myokines, play a key role in the pathogenesis of obesity, type 2 diabetes, and other metabolic diseases, finally leading to cardiometabolic complications. Hence, a deeper understanding of the molecular mechanisms regulating skeletal muscle function related to energy metabolism is critical for novel strategies to treat and prevent insulin resistance and its cardiometabolic complications. This review will be focused on both cellular and animal models currently available for exploring skeletal muscle metabolism and endocrine function.

Li D, March ME, Fortugno P, Cox LL, Matsuoka LS, Monetta R, Seiler C, Pyle LC, Bedoukian EC, Sánchez-Soler MJ, Caluseriu O, Grand K, Tam A, Aycinena ARP, Camerota L, Guo Y, Sleiman P, Callewaert B, Kumps C, Dheedene A, Buckley M, Kirk EP, Turner A, Kamien B, Patel C, Wilson M, Roscioli T, Christodoulou J, Cox TC, Zackai EH, Brancati F, Hakonarson H, Bhoj EJ.

Pathogenic variants in CDH11 impair cell adhesion and cause Teebi hypertelorism syndrome.

Hum Genet. 2021 Jul;140(7):1061-1076.

Teebi hypertelorism syndrome (THS; OMIM 145420) is a rare craniofacial disorder characterized by hypertelorism, prominent forehead, short nose with broad or depressed nasal root. Some cases of THS have been attributed to SPECC1L variants. Homozygous variants in CDH11 truncating the transmembrane and intracellular domains have been implicated in Elshahy-Waters syndrome (EWS; OMIM 211380) with hypertelorism. We report THS due to CDH11 heterozygous missense variants on 19 subjects from 9 families. All affected residues in the extracellular region of Cadherin-11 (CHD11) are highly conserved

across vertebrate species and classical cadherins. Six of the variants that cluster around the EC2-EC3 and EC3-EC4 linker regions are predicted to affect Ca²⁺ binding that is required for cadherin stability. Two of the additional variants [c.164G > C, p.(Trp55Ser) and c.418G > A, p.(Glu140Lys)] are also notable as they are predicted to directly affect trans-homodimer formation. Immunohistochemical study demonstrates that CDH11 is strongly expressed in human facial mesenchyme. Using multiple functional assays, we show that five variants from the EC1, EC2-EC3 linker, and EC3 regions significantly reduced the cell-substrate trans adhesion activity and one variant from EC3-EC4 linker results in changes in cell morphology, focal adhesion, and migration, suggesting dominant negative effect. Characteristic features in this cohort included depressed nasal root, cardiac and umbilical defects. These features distinguished this phenotype from that seen in SPECC1L-related hypertelorism syndrome and CDH11-related EWS. Our results demonstrate heterozygous variants in CDH11, which decrease cell-cell adhesion and increase cell migratory behavior, cause a form of THS, as termed CDH11-related THS.

Guida V, Calzari L, Fadda MT, Picci-Sparascio F, Digilio MC, Bernardini L, Brancati F, Mattina T, Melis D, Forzano F, Briuglia S, Mazza T, Bianca S, Valente EM, Salehi LB, Prontera P, Pagnoni M, Tenconi R, Dallapiccola B, Iannetti G, Corsaro L, De Luca A, Gentilini D.

Genome-wide DNA methylation analysis of a cohort of 41 patients affected by Oculo-Auriculo-Vertebral Spectrum (OAVS).

Int J Mol Sci. 2021 Jan 26;22(3):1190.

Oculo-auriculo-vertebral-spectrum (OAVS; OMIM 164210) is a rare disorder originating from abnormal development of the first and second branchial arch. The clinical phenotype is extremely heterogeneous with ear anomalies, hemifacial microsomia, ocular defects, and vertebral malformations being the main features. MYT1, AMIGO2, and ZYG11B gene variants were reported in a few OAVS patients, but the etiology remains largely unknown. A multifactorial origin has been proposed, including the involvement of environmental and epigenetic mechanisms. To identify the epigenetic mechanisms contributing to OAVS, we evaluated the DNA-methylation profiles of 41 OAVS unrelated affected individuals by using a genome-wide microarray-based methylation approach. The analysis was first carried out comparing OAVS patients with controls at the group level. It revealed a moderate epigenetic variation in a large number of genes implicated in basic chromatin dynamics such as DNA packaging and protein-DNA organization. The alternative analysis in individual profiles based on the searching for Stochastic Epigenetic Variants (SEV) identified an increased number of SEVs in OAVS patients compared to controls. Although no recurrent deregulated enriched regions were found, isolated patients harboring suggestive epigenetic deregulations were identified. The recognition of a different DNA methylation pattern in the OAVS cohort and the identification of isolated patients with suggestive epigenetic variations provide consistent evidence for the contribution of epigenetic mechanisms to the etiology of this complex and heterogeneous disorder.

De Luca C, Picone S, Cassina M, Marziali S, Morlino S, Camerota L, Tamburrini G, Castori M, Paolillo P, Salviati L, Brancati F.

Craniosynostosis is a feature of CHD7-related CHARGE syndrome.

Am J Med Genet A. 2021 Apr 12. Epub ahead of print.

CHARGE syndrome is a rare genetic multiple-malformation disorder characterized by wide phenotypic variability. It is often caused by heterozygous variants in CHD7 and, more rarely, SEMA3E. Although craniofacial alterations are frequent in this condition, to date craniosynostosis is not considered part of the clinical spectrum. Here, we report bi-coronal craniosynostosis in a newborn affected by CHARGE syndrome caused by the de novo heterozygous c.6157C>T, p.(Arg2053*) CHD7 variant. We found two additional subjects in the literature with different craniosynostoses and distinct CHD7 alterations. The inclusion of CHD7-related CHARGE syndrome in the group of rare causes of syndromic craniosynostoses is proposed.

Sferra A, **Fortugno P**, Motta M, Aiello C, Petrini S, Ciolfi A, Cipressa F, Moroni I, Leuzzi V, Pieroni L, Marini F, Boespflug Tanguy O, Eymard-Pierre E, Danti FR, Compagnucci C, Zambruno G, Brusco A, Santorelli FM, Chiapparini L, Francalanci P, Loizzo AL, Tartaglia M, Cestra G, Bertini E.

Biallelic mutations in RNF220 cause laminopathies featuring leukodystrophy, ataxia and deafness.

Brain. 2021 May 8;awab185. Epub ahead of print.

Leukodystrophies are a heterogeneous group of rare inherited disorders that mostly involve the white matter of the CNS. These conditions are characterized by primary glial cell and myelin sheath pathology of variable aetiology, which causes secondary axonal degeneration, generally emerging with disease progression. Whole exome sequencing performed in five large consanguineous nuclear families allowed us to identify homozygosity for two recurrent missense variants affecting highly conserved residues of RNF220 as the causative event underlying a novel form of leukodystrophy with ataxia and sensorineural deafness. We report these two homozygous missense variants (p.R363Q and p.R365Q) in the ubiquitin E3 ligase RNF220 as the underlying cause of this novel form of leukodystrophy with ataxia and sensorineural deafness that includes fibrotic cardiomyopathy and hepatopathy as associated features in seven consanguineous families. Mass spectrometry analysis identified lamin B1 as the RNF220 binding protein and co-immunoprecipitation experiments demonstrated reduced binding of both RNF220 mutants to lamin B1. We demonstrate that RNF220 silencing in *Drosophila melanogaster* specifically affects proper localization of lamin Dm0, the fly lamin B1 orthologue, promotes its aggregation and causes a neurodegenerative phenotype, strongly supporting the functional link between RNF220 and lamin B1. Finally, we demonstrate that RNF220 plays a crucial role in the maintenance of nuclear morphology; mutations in primary skin fibroblasts determine nuclear abnormalities such as blebs, herniations and invaginations, which are typically observed in cells of patients affected by laminopathies. Overall, our data identify RNF220 as a gene implicated in leukodystrophy with ataxia and sensorineural deafness and document a critical role of RNF220 in the regulation of nuclear lamina. Our findings provide further evidence on the direct link between nuclear lamina dysfunction and neurodegeneration.

Accogli A, Wiegand G, Scala M, Cerminara C, Iacomino M, Riva A, Carlini B, Camerota L, Belcastro V, Prontera P, Fernández-Jaén A, Bebek N, Scudieri P, Baldassari S, Salpietro VD, Novelli G, De Luca C, von Stülpnagel C, Kluger F, Kluger GJ, Wohlrab GC, Ramantani G, Lewis-Smith D, Thomas RH, Lai M, Verrotti A, Striano S, Depienne C, Minetti C, Benfenati F, Brancati F, Zara F, Striano P.

Clinical and genetic features in patients with reflex bathing epilepsy.

Neurology. 2021 Aug 10;97(6):e577-e586. Epub 2021 Jun 2.

The aim of the study is to describe the clinical and genetic findings in a cohort of individuals with bathing epilepsy, a rare form of reflex epilepsy.

We investigated by Sanger and targeted resequencing the SYN1 gene in 12 individuals from 10 different families presenting with seizures triggered primarily by bathing or showering. An additional 12 individuals with hot-water epilepsy were also screened.

In all families with bathing epilepsy, we identified 8 distinct pathogenic or likely pathogenic variants and 2 variants of unknown significance in SYN1, 9 of which are novel. Conversely, none of the individuals with hot-water epilepsy displayed SYN1 variants. In mutated individuals, seizures were typically triggered by showering or bathing regardless of the water temperature. Additional triggers included fingernail clipping, haircutting, or watching someone take a shower. Unprovoked seizures and a variable degree of developmental delay were also common.

Bathing epilepsy is genetically distinct reflex epilepsy caused mainly by SYN1 mutations.

Alborghetti M, Bellucci G, Gentile A, Calderoni C, Nicoletti F, Capra R, Salvetti M, Centonze D.

Drugs used in the treatment of multiple sclerosis during COVID-19 pandemic: a critical viewpoint.

Curr Neuropharmacol. 2021 Mar 29. Online ahead of print.

Since COVID-19 has emerged as a world public health problem, attention has been focused on how immune suppressive drugs used for the treatment of autoimmune disorders influence the risk for SARS-CoV-2 infection and the development of the acute respiratory distress syndrome (ARDS). Here we discuss the disease-modifying agents approved for the treatment of multiple sclerosis (MS) within this context. Interferon (IFN)- β 1a and -1b, which display antiviral activity, could be protective in the early stage of COVID-19 infection, although SARS-CoV-2 may have developed resistance to IFNs. However, in the hyper inflammation stage, IFNs may become detrimental by facilitating macrophage invasion in the lung and other organs. Glatiramer acetate and its analogues should not interfere with the development of COVID-19 and may be considered safe. Teriflunomide, a first-line oral drug used in the treatment of relapsing-remitting MS (RRMS) may display antiviral activity by depleting cellular nucleotides necessary for viral replication. The other first-line drug, dimethyl fumarate, may afford protection against SARS-CoV-2 by activating the Nrf-2 pathway and reinforcing the cellular defences against oxidative stress. Concern has been raised on the use of second-line treatments for MS during COVID-19 pandemic. However, this concern is not always justified. For example, fingolimod, might be highly beneficial during the hyperinflammatory stage of COVID-19 for a number of mechanisms including the reinforcement of the endothelial barrier. Caution is suggested for the use of natalizumab, cladribine, alemtuzumab, and ocrelizumab, although MS disease recurrence after discontinuation of these drugs may overcome a potential risk for COVID-19 infection.

Mandolesi G, Rizzo FR, Balletta S, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Guadalupi L, Nencini M, Moscatelli A, Ryan CP, Licursi V, Dolcetti E, Musella A, Gentile A, Fresegna D, Bullitta S, Caioli S, Vanni V, Sanna K, Bruno A, Buttari F, Castelli C, Presutti C, De Santa F, Finardi A, Furlan R, Centonze D, De Vito F.

The microRNA let-7b-5p is negatively associated with Inflammation and disease severity in multiple sclerosis.

Cells. 2021 Feb 5;10(2):330.

The identification of microRNAs in biological fluids for diagnosis and prognosis is receiving great attention in the field of multiple sclerosis (MS) research but it is still in its infancy. In the present study, we observed in a large sample of MS patients that let-7b-5p levels in the cerebrospinal fluid (CSF) were highly correlated with a number of microRNAs implicated in MS, as well as with a variety of inflammation-related protein factors, showing specific expression patterns coherent with let-7b-5p-mediated regulation. Additionally, we found that the CSF let-7b-5p levels were significantly reduced in patients with the progressive MS compared to patients with relapsing-remitting MS and were negatively correlated with characteristic hallmark processes of the two phases of the disease. Indeed, in the non-progressive phase, let-7b-5p inversely associated with both central and peripheral inflammation; whereas, in progressive MS, the CSF levels of let-7b-5p negatively correlated with clinical disability at disease onset and after a follow-up period. Overall, our results uncovered, by the means of a multidisciplinary approach and multiple statistical analyses, a new possible pleiotropic action of let-7b-5p in MS, with potential utility as a biomarker of MS course.

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.

Corrigendum: Inflammation- Associated Synaptic Alterations as Shared Threads in Depression and Multiple Sclerosis.

Front Cell Neurosci. 2021 Jan 26;14:647259. Erratum for: Front Cell Neurosci. 2020 Jun 23;14:169.

Angeloni B, Bigi R, Bellucci G, Mechelli R, Ballerini C, Romano C, Morena E, Pellicciari G, Reniè R, Rinaldi V, Buscarinu MC, Romano S, Ristori G, Salvetti M.

A case of double standard: sex differences in Multiple Sclerosis risk factors.

Int J Mol Sci. 2021 Apr 2;22(7):3696.

Multiple sclerosis is a complex, multifactorial, dysimmune disease prevalent in women. Its etiopathogenesis is extremely intricate, since each risk factor behaves as a variable that is interconnected with others. In order to understand these interactions, sex must be considered as a determining element, either in a protective or pathological sense, and not as one of many variables. In particular, sex seems to highly influence immune response at chromosomal, epigenetic, and hormonal levels. Environmental and genetic risk factors cannot be considered without sex, since sex-based immunological differences deeply affect disease onset, course, and prognosis. Understanding the mechanisms underlying sex-based differences is necessary in order to develop a more effective and personalized therapeutic approach.

Ferraldeschi M, Romano S, Giglio S, Romano C, Morena E, Mechelli R, Annibaldi V, Ubaldi M, Buscarinu MC, Umeton R, Sani G, Vecchione A, Salvetti M, Ristori G.

Circulating hsa-miR-323b-3p in Huntington's Disease: a pilot study.

FrontNeurol. 2021 May 5;12:657973.

The momentum of gene therapy in Huntington's disease (HD) deserves biomarkers from easily accessible fluid. We planned a study to verify whether plasma miRNome may provide useful peripheral "reporter(s)" for the management of HD patients. We performed an exploratory microarray study of whole non-coding RNA profiles in plasma from nine patients with HD and 13 matched controls [eight healthy subjects (HS) and five psychiatric patients (PP) to minimize possible iatrogenic impact on the profile of non-coding RNAs]. We found an HD-specific signature: downregulation of hsa-miR-98 (fold change, -1.5, $p = 0.0338$ HD vs. HS, and fold change, 1.5, $p = 0.0045$ HD vs. PP) and upregulation of hsa-miR-323b-3p (fold change, 1.5, $p = 0.0007$ HD vs. HS, and fold change, 1.5, $p = 0.0111$ HD vs. PP). To validate this result in an independent cohort, we quantify by digital droplet PCR (ddPCR) the presence of the two microRNA in the plasma of 33 HD patients and 49 matched controls (25 HS and 24 PP patients). We were able to confirm that hsa-miR-323b-3p was upregulated in HD and premanifest HD vs. HS and PP: the median values (first-third quartile) were 4.1 (0.9-10.53) and 5.8 (1.9-10.70) vs. 0.69 (0.3-2.75) and 1.4 (0.78-2.70), respectively, $p < 0.05$. No significant difference was found for hsa-miR-98. To evaluate the biological plausibility of the hsa-miR-323b-3p as a component of the disease pathophysiology, we performed a bioinformatic analysis based on its targetome and the huntingtin (HTT) interactome. We found a statistically significant overconnectivity between the targetome of hsa-miR-323b-3p and the HTT interactome ($p = 1.48e-08$). Furthermore, there was a significant transcription regulation of the HTT interactome by the miR-323b-3p targetome ($p = 0.02$). The availability of handy, reproducible, and minimally invasive biomarkers coming from peripheral miRNome may be valuable to characterize the illness progression, to indicate new therapeutic targets, and to monitor the effect of disease-modifying treatments. Our data deserve further studies with larger sample size and longitudinal design.

Mechelli R, Romano S, Romano C, Morena E, Buscarinu MC, Bigi R, Bellucci G, Reniè R, Pellicciari G, Salvetti M, Ristori G.

MAIT Cells and Microbiota in multiple sclerosis and other autoimmune diseases.

Microorganisms. 2021 May 24;9(6):1132.

The functions of mucosal-associated invariant T (MAIT) cells in homeostatic conditions include the interaction with the microbiota and its products, the protection of body barriers, and the mounting of a tissue-repair response to injuries or infections. Dysfunction of MAIT cells and dysbiosis occur in common chronic diseases of inflammatory, metabolic, and tumor nature. This review is aimed at analyzing the changes of MAIT cells, as well as of the microbiota, in multiple sclerosis and other autoimmune disorders. Common features of dysbiosis in these conditions are the reduced richness of microbial species and the unbalance between pro-inflammatory and immune regulatory components of the gut microbiota. The literature concerning MAIT cells in these disorders is rather complex, and sometimes not consistent. In

multiple sclerosis and other autoimmune conditions, several studies have been done, or are in progress, to find correlations between intestinal permeability, dysbiosis, MAIT cell responses, and clinical biomarkers in treated and treatment-naïve patients. The final aims are to explain what activates MAIT cells in diseases not primarily infective, which interactions with the microbiota are potentially pathogenic, and their dynamics related to disease course and disease-modifying treatments.

Leuti A, Talamonti E, Gentile A, Tiberi M, Matteocci A, Fresegna D, Centonze D, Chiurchiù V. **Macrophage plasticity and polarization are altered in the experimental model of multiple sclerosis.** *Biomolecules.* 2021 Jun 4;11(6):837.

Multiple sclerosis (MS) is an immune-mediated demyelinating disease of the central nervous system. MS is characterized by infiltrations of leukocytes such as T and B lymphocytes and macrophages. Macrophages have been identified as major effectors of inflammation and demyelination in both MS and its animal model, experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). However, the activation and heterogeneity of macrophages in MS has been poorly investigated. Thus, in this study, we evaluated M1 and M2 macrophages immunophenotype from EAE and control mice by analyzing over 30 surface and intracellular markers through polychromatic flow cytometry, qRT-PCR, and ELISA assay. We showed that M1 macrophages possessed a higher proinflammatory profile in EAE compared to control mice, since they expressed higher levels of activation/co-stimulatory markers (iNOS, CD40, and CD80) and cytokines/chemokines (IL-6, IL-12, CCL2, and CXCL10), whereas M2 lost their M2-like phenotype by showing a decreased expression of their signature markers CD206 and CCL22, as well as a concomitant upregulation of several M1 makers. Furthermore, immunization of M1 and M2 macrophages with MOG35-55 led to a significant hyperactivation of M1 and a concomitant shift of anti-inflammatory M2 to pro-inflammatory M1 macrophages. Overall, we provide evidence for a phenotypic alteration of M1/M2 balance during MS, which can be of crucial importance not only for a better understanding of the immunopathology of this neurodegenerative disease but also to potentially develop new macrophage-centered therapeutic strategies.

Rizzo FR, Guadalupi L, Sanna K, Vanni V, Fresegna D, De Vito F, Musella A, Caioli S, Balletta S, Bullitta S, Bruno A, Dolcetti E, Stampanoni Bassi M, Buttari F, Gilio L, Mandolesi G, Centonze D, Gentile A. **Exercise protects from hippocampal inflammation and neurodegeneration in experimental autoimmune encephalomyelitis.** *Brain Behav Immun.* 2021 Aug 12;98:13-27. Epub ahead of print.

Exercise is increasingly recommended as a supportive therapy for people with Multiple Sclerosis (pwMS). While clinical research has still not disclosed the real benefits of exercise on MS disease, animal studies suggest a substantial beneficial effect on motor disability and pathological hallmarks such as central and peripheral dysregulated immune response. The hippocampus, a core area for memory formation and learning, is a brain region involved in MS pathophysiology. Human and rodent studies suggest that the hippocampus is highly sensitive to the effects of exercise, the impact of which on MS hippocampal damage is still elusive. Here we addressed the effects of chronic voluntary exercise on hippocampal function and damage in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), animal model of MS. Mice were housed in standard or wheel-equipped cages starting from the day of immunization and throughout the disease course. Although running activity was reduced during the symptomatic phase, exercise significantly ameliorated motor disability. Exercise improved cognition that was assessed through the novel object recognition test and the nest building in presymptomatic and acute stages of the disease, respectively. In the acute phase exercise was shown to prevent EAE-induced synaptic plasticity abnormalities in the CA1 area, by promoting the survival of parvalbumin-positive (PV+) interneurons and by attenuating inflammation. Indeed, exercise significantly reduced microgliosis in the CA1 area, the expression of tumour necrosis factor (TNF) in microglia and, to a lesser extent, the hippocampal level of interleukin 1 beta (IL-1 β), previously shown to contribute to aberrant synaptic plasticity in the EAE hippocampus. Notably, exercise exerted a precocious and long-lasting mitigating effect on microgliosis that preceded its neuroprotective

action, likely underlying the improved cognitive function observed in both presymptomatic and acute phase EAE mice. Overall, these data provide evidence that regular exercise improves cognitive function and synaptic and neuronal pathology that typically affect EAE/MS brains.

Leschik J, Lutz B, **Gentile A.**

Stress-related dysfunction of adult hippocampal neurogenesis - an attempt for understanding resilience?

Int J Mol Sci. 2021 Jul 8;22(14):7339.

Newborn neurons in the adult hippocampus are regulated by many intrinsic and extrinsic cues. It is well accepted that elevated glucocorticoid levels lead to downregulation of adult neurogenesis, which this review discusses as one reason why psychiatric diseases, such as major depression, develop after long-term stress exposure. In reverse, adult neurogenesis has been suggested to protect against stress-induced major depression, and hence, could serve as a resilience mechanism. In this review, we will summarize current knowledge about the functional relation of adult neurogenesis and stress in health and disease. A special focus will lie on the mechanisms underlying the cascades of events from prolonged high glucocorticoid concentrations to reduced numbers of newborn neurons. In addition to neurotransmitter and neurotrophic factor dysregulation, these mechanisms include immunomodulatory pathways, as well as microbiota changes influencing the gut-brain axis. Finally, we discuss recent findings delineating the role of adult neurogenesis in stress resilience.

Stampanoni Bassi M, Gilio L, Iezzi E, Moscatelli A, Pekmezovic T, Drulovic J, Furlan R, Finardi A, Mandolesi G, Musella A, Galifi G, Fantozzi R, Bellantonio P, Storto M, Centonze D, Buttari F. **Age at Disease onset associates with oxidative stress, neuroinflammation, and impaired synaptic plasticity in relapsing-remitting multiple sclerosis.**

Front Aging Neurosci. 2021 Sep 10;13:694651.

Age at onset is the main risk factor for disease progression in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (RR-MS). In this cross-sectional study, we explored whether older age is associated with specific disease features involved in the progression independent of relapse activity (PIRA). In 266 patients with RR-MS, the associations between age at onset, clinical characteristics, cerebrospinal fluid (CSF) levels of lactate, and that of several inflammatory molecules were analyzed. The long-term potentiation (LTP)-like plasticity was studied using transcranial magnetic stimulation (TMS). Older age was associated with a reduced prevalence of both clinical and radiological focal inflammatory disease activity. Older patients showed also increased CSF levels of lactate and that of the pro-inflammatory molecules monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1)/CCL2, macrophage inflammatory protein 1-alpha (MIP-1 α)/CCL3, and interleukin (IL)-8. Finally, TMS evidenced a negative correlation between age and LTP-like plasticity. In newly diagnosed RR-MS, older age at onset is associated with reduced acute disease activity, increased oxidative stress, enhanced central inflammation, and altered synaptic plasticity. Independently of their age, patients with multiple sclerosis (MS) showing similar clinical, immunological, and neurophysiological characteristics may represent ideal candidates for early treatments effective against PIRA.

Bellucci G, Rinaldi V, Buscarinu MC, Reniè R, Bigi R, Pellicciari G, Morena E, Romano C, Marrone A, Mechelli R, Salvetti M, Ristori G.

Multiple Sclerosis and SARS-CoV-2: has the interplay started?

Front Immunol. 2021 Sep 27;12:755333. eCollection 2021

Current knowledge on Multiple Sclerosis (MS) etiopathogenesis encompasses complex interactions between the host's genetic background and several environmental factors that result in dysimmunity against the central nervous system. An old-aged association exists between MS and viral infections, capable of triggering and sustaining neuroinflammation through direct and indirect mechanisms. The novel Coronavirus, SARS-CoV-2, has a remarkable, and still not fully understood, impact on the immune system:

the occurrence and severity of both acute COVID-19 and post-infectious chronic illness (long COVID-19) largely depends on the host's response to the infection, that echoes several aspects of MS pathobiology. Furthermore, other MS-associated viruses, such as the Epstein-Barr Virus (EBV) and Human Endogenous Retroviruses (HERVs), may enhance a mechanistic interplay with the novel Coronavirus, with the potential to interfere in MS natural history. Studies on COVID-19 in people with MS have helped clinicians in adjusting therapeutic strategies during the pandemic; similar efforts are being made for SARS-CoV-2 vaccination campaigns. In this Review, we look over 18 months of SARS-CoV-2 pandemic from the perspective of MS: we dissect neuroinflammatory and demyelinating mechanisms associated with COVID-19, summarize pathophysiological crossroads between MS and SARS-CoV-2 infection, and discuss present evidence on COVID-19 and its vaccination in people with MS.

De Vito F, Musella A, Fresegna D, Rizzo FR, Gentile A, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Buttari F, Procaccini C, Colamatteo A, Bullitta S, Guadalupi L, Caioli S, Vanni V, Balletta S, Sanna K, Bruno A, Dolcetti E, Furlan R, Finardi A, Licursi V, Drulovic J, Pekmezovic T, Fusco C, Bruzzaniti S, Hornstein E, Uccelli A, Salvetti M, Matarese G, Centonze D, Mandolesi G.

MiR-142-3p regulates synaptopathy-driven disease progression in multiple sclerosis.

Neuropathol Appl Neurobiol. 2021 Sep 7. Epub ahead of print.

We recently proposed miR-142-3p as a molecular player in inflammatory synaptopathy, a new pathogenic hallmark of multiple sclerosis (MS) and of its mouse model experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), that leads to neuronal loss independently of demyelination. MiR-142-3p seems to be unique among potential biomarker candidates in MS, since it is an inflammatory miRNA playing a dual role in the immune and central nervous systems. Here, we aimed to verify the impact of miR-142-3p circulating in the cerebrospinal fluid (CSF) of MS patients on clinical parameters, neuronal excitability and its potential interaction with disease modifying therapies (DMTs).

In a cohort of 151 MS patients, we found positive correlations between CSF miR-142-3p levels and clinical progression, IL-1 β signalling as well as synaptic excitability measured by transcranial magnetic stimulation. Furthermore, therapy response of patients with 'low miR-142-3p' to dimethyl fumarate (DMF), an established disease-modifying treatment (DMT), was superior to that of patients with 'high miR-142-3p' levels. Accordingly, the EAE clinical course of heterozygous miR-142 mice was ameliorated by peripheral DMF treatment with a greater impact relative to their wild type littermates. In addition, a central protective effect of this drug was observed following intracerebroventricular and ex vivo acute treatments of EAE wild type mice, showing a rescue of miR-142-3p-dependent glutamatergic alterations. By means of electrophysiology, molecular and biochemical analysis, we suggest miR-142-3p as a molecular target of DMF.

MiR-142-3p is a novel and potential negative prognostic CSF marker of MS and a promising tool for identifying personalised therapies.

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. 2021 Jan;287:114008.

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 oro-

nasopharyngeal 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.

Li Puma DD, Marocci 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. 2021 Jan;69(1):201-215.

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.

Ricordi C, Pacifici F, Lanzoni G, Palamara AT, Garaci E, Della-Morte D.

Dietary and protective factors to halt or mitigate progression of Autoimmunity, COVID-19 and its associated metabolic diseases.

Int J Mol Sci. 2021 Mar 19;22(6):3134.

COVID-19 is without any doubt the worst pandemic we have faced since the H1N1 virus outbreak. Even if vaccination against SARS-CoV-2 infection is becoming increasingly available, a more feasible approach for COVID-19 prevention and therapy is still needed. Evidence of a pathological link between metabolic diseases and severe forms of COVID-19 has stimulated critical reflection and new considerations. In particular, an abnormal immune response observed in certain patients with SARS-CoV-2 infection suggested possible common predisposing risk factors with autoimmune diseases such as Type 1 Diabetes (T1D). Correct supplementation with dietary factors may be key to preventing and counteracting both the underlying metabolic impairment and the complications of COVID-19. A set of agents may inhibit the cytokine storm and hypercoagulability that characterize severe COVID-19 infection: vitamin D₃, omega-3 polyunsaturated fatty acids, polyphenols like pterostilbene, polydatin and honokiol, which can activate anti-inflammatory and antioxidant sirtuins pathways, quercetin, vitamin C, zinc, melatonin, lactoferrin and glutathione. These agents could be highly beneficial for subjects who have altered immune responses. In this review, we discuss the antiviral and metabolic effects of these dietary factors and propose their combination for potential applications in the prevention and treatment of COVID-19. Rigorous studies will be fundamental for validating preventive and therapeutic protocols that could be of assistance to mitigate disease progression following SARS-CoV-2 infection.

Sarshar M, Behzadi P, Scribano D, Palamara AT, Ambrosi C.

***Acinetobacter baumannii*: an ancient commensal with weapons of a pathogen.**

Pathogens. 2021 Mar 24;10(4):387.

Acinetobacter baumannii is regarded as a life-threatening pathogen associated with community-acquired and nosocomial infections, mainly pneumonia. The rise in the number of *A. baumannii* antibiotic-resistant strains reduces effective therapies and increases mortality. Bacterial comparative genomic studies have unraveled the innate and acquired virulence factors of *A. baumannii*. These virulence factors are involved in antibiotic resistance, environmental persistence, host-pathogen interactions, and immune evasion. Studies on host-pathogen interactions revealed that *A. baumannii* evolved different mechanisms to adhere to in order to invade host respiratory cells as well as evade the host immune system. In this review, we discuss current data on *A. baumannii* genetic features and virulence factors. An emphasis is given to the players in host-pathogen interaction in the respiratory tract. In addition, we report recent investigations into host defense systems using *in vitro* and *in vivo* models, providing new insights into the innate immune response to *A. baumannii* infections. Increasing our knowledge of *A. baumannii* pathogenesis may help the development of novel therapeutic strategies based on anti-adhesive, anti-virulence, and anti-cell to cell signaling pathways drugs.

Fraternale A, Zara C, De Angelis M, Nencioni L, Palamara AT, Retini M, Di Mambro T, Magnani M, Crinelli R.

Intracellular redox-modulated pathways as targets for effective approaches in the treatment of viral infection.

Int J Mol Sci. 2021 Mar 30;22(7):3603.

Host-directed therapy using drugs that target cellular pathways required for virus lifecycle or its clearance might represent an effective approach for treating infectious diseases. Changes in redox homeostasis, including intracellular glutathione (GSH) depletion, are one of the key events that favor virus replication and contribute to the pathogenesis of virus-induced disease. Redox homeostasis has an important role in maintaining an appropriate Th1/Th2 balance, which is necessary to mount an effective immune response against viral infection and to avoid excessive inflammatory responses. It is known that excessive production of reactive oxygen species (ROS) induced by viral infection activates nuclear factor (NF)- κ B, which orchestrates the expression of viral and host genes involved in the viral replication and inflammatory response. Moreover, redox-regulated protein disulfide isomerase (PDI) chaperones have an essential role in catalyzing formation of disulfide bonds in viral proteins. This review aims at describing the role of GSH in modulating redox sensitive pathways, in particular that mediated by NF- κ B, and PDI activity. The second part of the review discusses the effectiveness of GSH-boosting molecules as broad-spectrum antivirals acting in a multifaceted way that includes the modulation of immune and inflammatory responses.

Matteucci C, Minutolo A, Balestrieri E, Petrone V, Fanelli M, Malagnino V, Ianetta M, Giovinazzo A, Barreca F, Di Cesare S, De Marco P, Miele MT, Toschi N, Mastino A, Sinibaldi Vallebona P, Bernardini S, Rogliani P, Sarmati L, Andreoni M, Grelli S, Garaci E.

Thymosin alpha 1 mitigates cytokine storm in blood cells from Coronavirus disease 2019 patients.

Open Forum Infect Dis. 2020 Dec 5;8(1):ofaa588.

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is characterized by immune-mediated lung injury and complex alterations of the immune system, such as lymphopenia and cytokine storm, that have been associated with adverse outcomes underlining a fundamental role of host response in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection and the pathogenesis of the disease. Thymosin alpha 1 ($T\alpha 1$) is one of the molecules used in the management of COVID-19, because it is known to restore the homeostasis of the immune system during infections and cancer.

In this study, we captured the interconnected biological processes regulated by T α 1 in CD8+ T cells under inflammatory conditions.

Genes associated with cytokine signaling and production were upregulated in blood cells from patients with COVID-19, and the ex vivo treatment with T α 1-mitigated cytokine expression, and inhibited lymphocyte activation in a CD8+ T-cell subset specifically.

These data suggest the potential role of T α 1 in modulating the immune response homeostasis and the cytokine storm in vivo.

Prezioso C, Carletti R, Obregon F, Piacentini F, Manicone AM, Soda G, Moens U, Di Gioia C, Pietropaolo V.

Evaluation of Merkel cell polyomavirus DNA in tissue samples from Italian patients with diagnosis of MCC.

Viruses. 2021 Jan 5;13(1):61.

Because the incidence of Merkel cell carcinoma (MCC) has increased significantly during the last 10 years and it is recognized that Merkel cell polyomavirus (MCPyV) and ultraviolet (UV) radiation represent two different etiological inputs sharing clinical, histopathological, and prognostic similar features, although with different prognosis, this study investigated the detection of MCPyV in skin and lymph nodes with histological diagnosis of MCC. Formalin-fixed paraffin-embedded tissue (FFPE) were retrieved from archived specimens and MCPyV non-coding control region (NCCR) and viral capsid protein 1 (VP1) sequences were amplified and sequenced. Results provide an interesting observation concerning the discrepancy between the MCPyV DNA status in primary and metastatic sites: in fact, in all cases in which primary and metastatic lesions were investigated, MCPyV DNA was detected only in the primary lesions. Our data further support the "hit-and-run" theory, also proposed by other authors, and may lead to speculation that in some MCCs the virus is only necessary for the process of tumor initiation and that further mutations may render the tumor independent from the virus. Few point mutations were detected in the NCCR and only silent mutations were observed in the VP1 sequence compared to the MCPyV MCC350 isolate. To unequivocally establish a role of MCPyV in malignancies, additional well-controlled investigations are required, and larger cohorts should be examined.

Prezioso C, Van Ghelue M, Moens U, Pietropaolo V.

HPyV6 and HPyV7 in urine from immunocompromised patients.

Virol J. 2021 Jan 22;18(1):24.

Human polyomavirus 6 (HPyV6) and HPyV7 are two of the novel polyomaviruses that were originally detected in non-diseased skin. Serological studies have shown that these viruses are ubiquitous in the healthy adult population with seroprevalence up to 88% for HPyV6 and 72% for HPyV7. Both viruses are associated with pruritic skin eruption in immunocompromised patients, but a role with other diseases in immunoincompetent patients or malignancies has not been established.

PCR was used to determine the presence of HPyV6 and HPyV7 DNA in urine samples from systemic lupus erythematosus (n = 73), multiple sclerosis (n = 50), psoriasis vulgaris (n = 15), arthritic psoriasis (n = 15) and HIV-positive patients (n = 66). In addition, urine from pregnant women (n = 47) and healthy blood donors (n = 20) was investigated.

HPyV6 DNA was detected in 21 (28.8%) of the urine specimens from SLE patients, in 6 (9.1%) of the urine samples from the HIV-positive cohort, and in 19 (40.4%) samples from pregnant women. HPyV7 DNA was only found in 6 (8.2%) of the urine specimens from SLE patients and in 4 (8.5%) samples from pregnant women. No HPyV6 and HPyV7 viruria was detected in the urine samples from the other patients.

HPyV6, and to a lesser extent HPyV7, viruria seems to be common in SLE and HIV-positive patients, and pregnant women. Whether these viruses are of clinical relevance in these patients is not known.

Balestrieri E, Minutolo A, Petrone V, Fanelli M, Iannetta M, Malagnino V, Zordan M, Vitale P, Charvet B, Horvat B, Bernardini S, Garaci E, di Francesco P, Sinibaldi Vallebona P, Sarmati L, Grelli S, Andreoni M, Perron H, Matteucci C.

Evidence of the pathogenic HERV-W envelope expression in T lymphocytes in association with the respiratory outcome of COVID-19 patients.

EBioMedicine. 2021 Apr;66:103341. Epub 2021 Apr 15.

Despite an impressive effort in clinical research, no standard therapeutic approach for coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients has been established, highlighting the need to identify early biomarkers for predicting disease progression and new therapeutic interventions for patient management. The present study aimed to evaluate the involvement of the human endogenous retrovirus -W envelope (HERV-W ENV) in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection considering recent findings that HERVs are activated in response to infectious agents and lead to various immunopathological effects. We analysed HERV-W ENV expression in blood cells of COVID-19 patients in correlation with clinical characteristics and have discussed its potential role in the outcome of the disease.

We analysed HERV-W ENV expression in blood samples of COVID-19 patients and healthy donors by flow cytometry and quantitative reverse transcriptase PCR analysis, and evaluated its correlation with clinical signs, inflammatory markers, cytokine expression, and disease progression.

HERV-W ENV was highly expressed in the leukocytes of COVID-19 patients but not in those of healthy donors. Its expression correlated with the markers of T-cell differentiation and exhaustion and blood cytokine levels. The percentage of HERV-W ENV-positive lymphocytes correlated with inflammatory markers and pneumonia severity in COVID-19 patients. Notably, HERV-W ENV expression reflects the respiratory outcome of patients during hospitalization.

Given the known immuno- and neuro-pathogenicity of HERV-W ENV protein, it could promote certain pathogenic features of COVID-19 and therefore serve as a biomarker to predict clinical progression of disease and open to further studies for therapeutic intervention.

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. 2021 Jan1;209:112921.

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 alpha1 (T α 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 α 1 can also have beneficial effects in extrapulmonary pathology. Specifically, T α 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 α 1 also extended to pancreas and liver, further emphasizing the beneficial effects of T α 1 in extra-pulmonary complications of CF. By performing wide-ranging multi-organ anti-inflammatory effects, T α 1 could potentially integrate current therapeutic approaches to tackle the complex symptomatology of CF disease.

Prezioso C, Moens U, Oliveto G, Brazzini G, Piacentini F, Frasca F, Viscido A, Scordio M, Guerrizio G, Rodio DM, Pierangeli A, d'Ettore G, Turriziani O, Antonelli G, Scagnolari C, Pietropaolo V. **KI and WU Polyomavirus in respiratory samples of SARS-CoV-2 infected patients.**

Microorganisms. 2021 Jun 9;9(6):1259

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) has been declared a global pandemic. Our goal was to determine whether co-infections with respiratory polyomaviruses, such as Karolinska Institutet polyomavirus (KIPyV) and Washington University polyomavirus (WUPyV) occur in SARS-CoV-2 infected patients. Oropharyngeal swabs from 150 individuals, 112 symptomatic COVID-19 patients and 38 healthcare workers not infected by SARS-CoV-2, were collected from March 2020 through May 2020 and tested for KIPyV and WUPyV DNA presence. Of the 112 SARS-CoV-2 positive patients, 27 (24.1%) were co-infected with KIPyV, 5 (4.5%) were positive for WUPyV, and 3 (2.7%) were infected simultaneously by KIPyV and WUPyV. Neither KIPyV nor WUPyV DNA was detected in samples of healthcare workers. Significant correlations were found in patients co-infected with SARS-CoV-2 and KIPyV ($p < 0.05$) and between SARS-CoV-2 cycle threshold values and KIPyV, WUPyV and KIPyV and WUPyV concurrently detected ($p < 0.05$). These results suggest that KIPyV and WUPyV may behave as opportunistic respiratory pathogens. Additional investigations are needed to understand the epidemiology and the prevalence of respiratory polyomavirus in COVID-19 patients and whether KIPyV and WUPyV could potentially drive viral interference or influence disease outcomes by upregulating SARS-CoV-2 replicative potential.

Prezioso C, Van Ghelue M, Pietropaolo V, Moens U.

Detection of Quebec polyomavirus DNA in samples from different patient groups.

Microorganisms. 2021 May 18;9(5):1082.

Polyomaviruses infect many species, including humans. So far, 15 polyomaviruses have been described in humans, but it remains to be established whether all of these are genuine human polyomaviruses. The most recent polyomavirus to be detected in a person is Quebec polyomavirus (QPyV), which was identified in a metagenomic analysis of a stool sample from an 85-year-old hospitalized man. We used PCR to investigate the presence of QPyV DNA in urine samples from systemic lupus erythematosus (SLE) patients (67 patients; 135 samples), multiple sclerosis patients ($n = 35$), HIV-positive patients ($n = 66$) and pregnant women ($n = 65$). Moreover, cerebrospinal fluid from patients with suspected neurological diseases ($n = 63$), nasopharyngeal aspirates from patients ($n = 80$) with respiratory symptoms and plasma samples from HIV-positive patients ($n = 65$) were examined. QPyV DNA was found in urine from 11 (16.4%), 10 (15.4%) and 5 (14.3%) SLE patients, pregnant women, and multiple sclerosis patients, respectively. No QPyV DNA could be detected in the other samples. Alignment with the only available QPyV sequence in the GenBank revealed amino acid substitutions in the HI-loop of capsid protein VP1 in 6/28 of the isolates. Our results show that QPyV viruria can occur, but whether it may cause clinical symptoms in the patients remains to be determined.

Prezioso C, Pietropaolo V.

BK virus and transplantation.

Viruses. 2021 Apr 22;13(5):733.

Iebba V, Zanotta N, Campisciano G, Zerbato V, Di Bella S, Cason C, Luzzati R, Confalonieri M, Palamara AT, Comar M

Profiling of oral microbiota and cytokines in COVID-19 patients.

Front Microbiol. 2021 Jul 30;12:671813.

The presence of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has been recently demonstrated in the sputum or saliva, suggesting how the shedding of viral RNA outlasts the end of symptoms. Recent data from transcriptome analysis show that the oral cavity mucosa harbors high levels of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and transmembrane protease, serine 2 (TMPRSS2), highlighting its role as a double-edged sword for SARS-CoV-2 body entrance or interpersonal transmission. Here, we studied the oral microbiota structure and inflammatory profile of 26 naive severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients and 15 controls by 16S rRNA V2 automated targeted sequencing and magnetic bead-based multiplex immunoassays, respectively. A significant diminution in species richness was observed in COVID-19 patients, along with a marked difference in beta-diversity. Species such as *Prevotella salivae* and

Veillonella infantium were distinctive for COVID-19 patients, while *Neisseria perflava* and *Rothia mucilaginosa* were predominant in controls. Interestingly, these two groups of oral species oppositely clustered within the bacterial network, defining two distinct Species Interacting Groups (SIGs). COVID-19-related pro-inflammatory cytokines were found in both oral and serum samples, along with a specific bacterial consortium able to counteract them. We introduced a new parameter, named CytoCOV, able to predict COVID-19 susceptibility for an unknown subject at 71% of power with an Area Under Curve (AUC) equal to 0.995. This pilot study evidenced a distinctive oral microbiota composition in COVID-19 subjects, with a definite structural network in relation to secreted cytokines. Our results would be usable in clinics against COVID-19, using bacterial consortia as biomarkers or to reduce local inflammation.

Prezioso C, Grimaldi A, Landi D, Nicoletti CG, Brazzini G, Piacentini F, Passerini S, Limongi D, Ciotti M, Palamara AT, Marfia GA, Pietropaolo V.

Risk assessment of progressive multifocal leukoencephalopathy in multiple sclerosis patients during 1 year of ocrelizumab treatment.

Viruses. 2021 Aug 25;13(9):1684.

Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) caused by the JC virus is the main limitation to the use of disease modifying therapies for treatment of multiple sclerosis (MS).

To assess the PML risk in course of ocrelizumab, urine and blood samples were collected from 42 MS patients at baseline (T0), at 6 (T2) and 12 months (T4) from the beginning of therapy. After JCPyV-DNA extraction, a quantitative-PCR (Q-PCR) was performed. Moreover, assessment of JCV-serostatus was obtained and arrangements' analysis of non-coding control region (NCCR) and of viral capsid protein 1 (VP1) was carried out.

Q-PCR revealed JCPyV-DNA in urine at all selected time points, while JCPyV-DNA was detected in plasma at T4. From T0 to T4, JC viral load in urine was detected, increased in two logarithms and, significantly higher, compared to viremia. NCCR from urine was archetypal. Plasmatic NCCR displayed deletion, duplication, and point mutations. VP1 showed the S269F substitution involving the receptor-binding region. Anti-JCV index and IgM titer were found to statistically decrease during ocrelizumab treatment.

Ocrelizumab in JCPyV-DNA positive patients is safe and did not determine PML cases. Combined monitoring of ocrelizumab's effects on JCPyV pathogenicity and on host immunity might offer a complete insight towards predicting PML risk.

Lupacchini L, Maggi F, Tomino C, De Dominicis C, Mollinari C, Fini M, Bonassi S, Merlo D, Russo P.

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. 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. 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. 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.

Cardinale A, Saladini S, Lupacchini L, Ruspantini I, De Dominicis C, Papale M, Silvagno F, Garaci E, Mollinari C, Merlo D.

DNA repair protein DNA-PK protects PC12 cells from oxidative stress-induced apoptosis involving AKT phosphorylation.

Mol Biol Rep. 2021 Nov 19.

Emerging evidence suggest that DNA-PK complex plays a role in the cellular response to oxidative stress, in addition to its function of double strand break (DSB) repair. In this study we evaluated whether DNA-PK participates in oxidative stress response and whether this role is independent of its function in DNA repair. We used a model of H₂O₂-induced DNA damage in PC12 cells (rat pheochromocytoma), a well-known neuronal tumor cell line. We found that H₂O₂ treatment of PC12 cells induces an increase in DNA-PK protein complex levels, along with an elevation of DNA damage, measured both by the formation of γ H2AX foci, detected by immunofluorescence, and γ H2AX levels detected by western blot analysis. After 24 h of cell recovery, γ H2AX foci are repaired both in the absence and presence of DNA-PK kinase inhibitor NU7026, while an increase of apoptotic cells is observed when DNA-PK activity is inhibited, as revealed by counting pycnotic nuclei and confirmed by FACS analysis. Our results suggest a role of DNA-PK as an anti-apoptotic factor in proliferating PC12 cells under oxidative stress conditions. The anti-apoptotic role of DNA-PK is associated with AKT phosphorylation in Ser473. On the contrary, in differentiated PC12 cells, where the main pathway to repair DSBs is DNA-PK-mediated, the inhibition of DNA-PK activity causes an accumulation of DNA damage.

Taken together, our results show that DNA-PK can protect cells from oxidative stress induced-apoptosis independently from its function of DSB repair enzyme.

Picconi B, Galati S.

Progress of clinical neuroscience in movement disorders: technical and methodological developments.

J Neurosci Methods. 2021 Feb 1;349:109034.

Campanelli F, Laricchiuta D, Natale G, Marino G, Calabrese V, Picconi B, Petrosini L, Calabresi P, Ghiglieri V.

Long-term shaping of corticostriatal synaptic activity by acute fasting.

Int J Mol Sci. 2021 Feb 15;22(4):1916.

Food restriction is a robust nongenetic, nonsurgical and nonpharmacologic intervention known to improve health and extend lifespan in various species. Food is considered the most essential and frequently consumed natural reward, and current observations have demonstrated homeostatic responses and neuroadaptations to sustained intermittent or chronic deprivation. Results obtained to date indicate that food deprivation affects glutamatergic synapses, favoring the insertion of GluA2-lacking α -Amino-3-idrossi-5-Metil-4-idrossazol-Propionic Acid receptors (AMPA receptors) in postsynaptic membranes. Despite an increasing number of studies pointing towards specific changes in response to dietary restrictions in brain regions, such as the nucleus accumbens and hippocampus, none have investigated the long-term effects of such practice in the dorsal striatum. This basal ganglia nucleus is involved in habit formation and in eating behavior, especially that based on dopaminergic control of motivation for food in both humans and animals. Here, we explored whether we could retrieve long-term signs of changes in AMPAR subunit composition in dorsal striatal neurons of mice acutely deprived for 12 hours/day for two consecutive days by analyzing glutamatergic neurotransmission and the principal forms of dopamine and glutamate-dependent synaptic plasticity. Overall, our data show that a moderate food deprivation in experimental animals is a salient event mirrored by a series of neuroadaptations and suggest that dietary restriction may be determinant in shaping striatal synaptic plasticity in the physiological state.

Cardinale A, Calabrese V, de Iure A, Picconi B.

Alpha-synuclein as a prominent actor in the inflammatory synaptopathy of Parkinson's Disease.

Int J Mol Sci. 2021 Jun 17;22(12):6517.

Parkinson's disease (PD) is considered the most common disorder of synucleinopathy, which is characterised by intracellular inclusions of aggregated and misfolded α -synuclein (α -syn) protein in various brain regions, and the loss of dopaminergic neurons. During the early prodromal phase of PD, synaptic alterations happen before cell death, which is linked to the synaptic accumulation of toxic α -syn specifically in the presynaptic terminals, affecting neurotransmitter release. The oligomers and protofibrils of α -syn are the most toxic species, and their overexpression impairs the distribution and activation of synaptic proteins, such as the SNARE complex, preventing neurotransmitter exocytosis and neuronal synaptic communication. In the last few years, the role of the immune system in PD has been increasingly considered. Microglial and astrocyte activation, the gene expression of proinflammatory factors, and the infiltration of immune cells from the periphery to the central nervous system (CNS) represent the main features of the inflammatory response. One of the actors of these processes is α -syn accumulation. In light of this, here, we provide a systematic review of PD-related α -syn and inflammation inter-players.

Tozzi A, Sciaccaluga M, Loffredo V, Megaro A, Ledonne A, Cardinale A, Federici M, Bellingacci L, Paciotti S, Ferrari E, La Rocca A, Martini A, Mercuri NB, Gardoni F, Picconi B, Ghiglieri V, De Leonibus E, Calabresi P.

Dopamine-dependent early synaptic and motor dysfunctions induced by α -synuclein in the nigrostriatal circuit.

Brain. 2021 Dec 16;144(11):3477-3491.

Misfolding and aggregation of α -synuclein are specific features of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases defined as synucleinopathies. Parkinson's disease progression has been correlated with the formation and extracellular release of α -synuclein aggregates, as well as with their spread from neuron to neuron. Therapeutic interventions in the initial stages of Parkinson's disease require a clear understanding of the mechanisms by which α -synuclein disrupts the physiological synaptic and plastic activity of the basal ganglia. For this reason, we identified two early time points to clarify how the intrastriatal injection of α -synuclein-preformed fibrils in rodents via retrograde transmission induces time-dependent electrophysiological and behavioural alterations. We found that intrastriatal α -synuclein-preformed fibrils perturb the firing rate of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta, while the discharge of putative GABAergic cells of the substantia nigra pars reticulata is unchanged. The α -synuclein-induced dysregulation of nigrostriatal function also impairs, in a time-dependent manner, the two main forms of striatal synaptic plasticity, long-term potentiation and long-term depression. We also observed an increased glutamatergic transmission measured as an augmented frequency of spontaneous excitatory synaptic currents. These changes in neuronal function in the substantia nigra pars compacta and striatum were observed before overt neuronal death occurred. In an additional set of experiments, we were able to rescue α -synuclein-induced alterations of motor function, striatal synaptic plasticity and increased spontaneous excitatory synaptic currents by subchronic treatment with L-DOPA, a precursor of dopamine widely used in the therapy of Parkinson's disease, clearly demonstrating that a dysfunctional dopamine system plays a critical role in the early phases of the disease.

Campanelli F, Marino G, Barsotti N, Natale G, Calabrese V, Cardinale A, Ghiglieri V, Maddaloni G, Usiello A, Calabresi P, Pasqualetti M, Picconi B.

Serotonin drives striatal synaptic plasticity in a sex-related manner.

Neurobiol Dis. 2021 Oct;158:105448. Epub 2021 Jul 16.

Plasticity at corticostriatal synapses is a key substrate for a variety of brain functions - including motor control, learning and reward processing - and is often disrupted in disease conditions. Despite intense

research pointing toward a dynamic interplay between glutamate, dopamine (DA), and serotonin (5-HT) neurotransmission, their precise circuit and synaptic mechanisms regulating their role in striatal plasticity are still unclear. Here, we analyze the role of serotonergic raphe-striatal innervation in the regulation of DA-dependent corticostriatal plasticity.

Mice (males and females, 2-6 months of age) were housed in standard plexiglass cages at constant temperature ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) and maintained on a 12/12h light/dark cycle with food and demineralized water ad libitum. In the present study, we used a knock-in mouse line in which the green fluorescent protein reporter gene (GFP) replaced the 1 Tph2 exon (Tph2GFP mice), allowing selective expression of GFP in the whole 5-HT system, highlighting both somata and neurites of serotonergic neurons. Heterozygous, Tph2+/GFP, mice were intercrossed to obtain experimental cohorts, which included Wild-type (Tph2+/+), Heterozygous (Tph2+/GFP), and Mutant serotonin-depleted (Tph2GFP/GFP) animals.

Using male and female mice, carrying on different Tph2 gene dosages, we show that Tph2 gene modulation results in sex-specific corticostriatal abnormalities, encompassing the abnormal amplitude of spontaneous glutamatergic transmission and the loss of Long Term Potentiation (LTP) in Tph2GFP/GFP mice of both sexes, while this form of plasticity is normally expressed in control mice (Tph2+/+). Once LTP is induced, only the Tph2+/GFP female mice present a loss of synaptic depotentiation.

We showed a relevant role of the interaction between dopaminergic and serotonergic systems in controlling striatal synaptic plasticity. Overall, our data unveil that 5-HT plays a primary role in regulating DA-dependent corticostriatal plasticity in a sex-related manner and propose altered 5-HT levels as a critical determinant of disease-associated plasticity defects.

Natale G, Pignataro A, Marino G, Campanelli F, Calabrese V, Cardinale A, Pelucchi S, Marcello E, Gardoni F, Viscomi MT, Picconi B, Ammassari-Teule M, Calabresi P, Ghiglieri V.

Transcranial magnetic stimulation exerts "Rejuvenation" effects on corticostriatal synapses after partial dopamine depletion.

Mov Disord. 2021 Oct;36(10):2254-2263.

In experimental models of Parkinson's disease (PD), different degrees of degeneration to the nigrostriatal pathway produce distinct profiles of synaptic alterations that depend on progressive changes in N-methyl-D-aspartate receptors (NMDAR)-mediated functions. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) induces modifications in glutamatergic and dopaminergic systems, suggesting that it may have an impact on glutamatergic synapses modulated by dopamine neurotransmission. However, no studies have so far explored the mechanisms of rTMS effects at early stages of PD.

We tested the hypothesis that in vivo application of rTMS with intermittent theta-burst stimulation (iTBS) pattern alleviates corticostriatal dysfunctions by modulating NMDAR-dependent plasticity in a rat model of early parkinsonism.

Dorsolateral striatal spiny projection neurons (SPNs) activity was studied through ex vivo whole-cell patch-clamp recordings in corticostriatal slices obtained from 6-hydroxydopamine-lesioned rats, subjected to a single session (acute) of iTBS and tested for forelimb akinesia with the stepping test. Immunohistochemical analyses were performed to analyze morphological correlates of plasticity in SPNs.

Acute iTBS ameliorated limb akinesia and rescued corticostriatal long-term potentiation (LTP) in SPNs of partially lesioned rats. This effect was abolished by applying a selective inhibitor of GluN2B-subunit-containing NMDAR, suggesting that iTBS treatment could be associated with an enhanced activation of specific NMDAR subunits, which are major regulators of structural plasticity during synapse development. Morphological analyses of SPNs revealed that iTBS treatment reverted dendritic spine loss inducing a prevalence of thin-elongated spines in the biocytin-filled SPNs.

Taken together, our data identify that an acute iTBS treatment produces a series of plastic changes underlying striatal compensatory adaptation in the parkinsonian basal ganglia circuit. © 2021 The Authors. Movement Disorders published by Wiley Periodicals LLC on behalf of International Parkinson and Movement Disorder Society.

Crittenden JR, Zhai S, Sauvage M, Kitsukawa T, Burguière E, Thomsen M, Zhang H, Costa C, Martella G, Ghiglieri V, Picconi B, Pescatore KA, Unterwald EM, Jackson WS, Housman DE, Caine SB, Sulzer D, Calabresi P, Smith AC, Surmeier DJ, Graybiel AM.

Cal DAG-GEFI mediates striatal cholinergic modulation of dendritic excitability, synaptic plasticity and psychomotor behaviors.

Neurobiol Dis. 2021 Aug 8;158:105473. Epub 2021 Aug 8.

CalDAG-GEFI (CDGI) is a protein highly enriched in the striatum, particularly in the principal spiny projection neurons (SPNs). CDGI is strongly down-regulated in two hyperkinetic conditions related to striatal dysfunction: Huntington's disease and levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease. We demonstrate that genetic deletion of CDGI in mice disrupts dendritic, but not somatic, M1 muscarinic receptors (M1Rs) signaling in indirect pathway SPNs. Loss of CDGI reduced temporal integration of excitatory postsynaptic potentials at dendritic glutamatergic synapses and impaired the induction of activity-dependent long-term potentiation. CDGI deletion selectively increased psychostimulant-induced repetitive behaviors, disrupted sequence learning, and eliminated M1R blockade of cocaine self-administration. These findings place CDGI as a major, but previously unrecognized, mediator of cholinergic signaling in the striatum. The effects of CDGI deletion on the self-administration of drugs of abuse and its marked alterations in hyperkinetic extrapyramidal disorders highlight CDGI's therapeutic potential.

Natale G, Calabrese V, Marino G, Campanelli F, Urciuolo F, de Iure A, Ghiglieri V, Calabresi P, Bossola M, Picconi B.

Effects of uremic toxins on hippocampal synaptic transmission: implication for neurodegeneration in chronic kidney disease.

Cell Death Discov. 2021 Oct 16;7(1):295.

Patients affected by chronic kidney disease (CKD) have an increased risk of developing cognitive impairment. The cause of mental health disorders in CKD and in chronic hemodialysis patients is multifactorial, due to the interaction of classical cardiovascular disease risk factors, kidney- and dialysis-related risk factors with depression, and multiple drugs overuse. A large number of compounds, defined as uremic toxins that normally are excreted by healthy kidneys, accumulate in the circulations, in the tissues, and in the organs of CKD patients. Among the candidate uremic toxins are several guanidino compounds, such as Guanidine. Uremic toxins may also accumulate in the brain and may have detrimental effects on cerebral resident cells (neurons, astrocytes, microglia) and microcirculation. The present study aims to analyze the effect of Guanidine on hippocampal excitatory postsynaptic field potentials (fEPSPs) and in CA1 pyramidal neurons recorded intracellularly. Moreover, we compared these effects with the alterations induced in vitro by CKD patients derived serum samples. Our results show an increased, dose-dependent, synaptic activity in the CA1 area in response to both synthetic Guanidine and patient's serum, through a mechanism involving glutamatergic transmission. In particular, the concomitant increase of both NMDA and AMPA component of the excitatory postsynaptic currents (EPSCs) suggests a presynaptic mechanism. Interestingly, in presence of the lower dose of guanidine, we measure a significant reduction of EPSCs, in fact the compound does not inhibit GABA receptors allowing their inhibitory effect of glutamate release. These findings suggest that cognitive symptoms induced by the increase of uremic compounds in the serum of CKD patients are caused, at least in part, by an increased glutamatergic transmission in the hippocampus.

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.

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. 2021;21(7):1183-1195.

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. 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 effector-triggered immunity (ETI). Both PTI and ETI contribute to plant systemic acquired resistance as an expression of immunological memory or trained immunity. 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. Plant chloroplasts contribute to both PTI and ETI through the production of peptides, which act as hormones or phytochemicals. Salicylic acid, jasmonic acid and ethylene are the major compounds involved in plant defense. The interaction between plant receptors and/or their products and bacterial components will be discussed. Also, emphasis will be placed on plant microbiome for its contribution to plant immune response. Finally, the mutual interplay between insects and plants will also be illustrated. A better knowledge of plant immunity may pave the way for the exploitation of plant derivatives in the field of agriculture and medicine, as well.

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. 2021;21(2):374-384.

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.

Frustaci A, De Luca A, Galea N, Verardo R, Guida V, Carrozzo R, Chimenti C, Frustaci E, Sansone L, Russo MA.

Novel dilated cardiomyopathy associated to Calreticulin and Myo7A gene mutation in Usher syndrome.

ESC Heart Fail. 2021 Jun;8(3):2310-2315.

We report a novel cardiomyopathy associated to Usher syndrome and related to combined mutation of MYO7A and Calreticulin genes. A 37-year-old man with deafness and vision impairment because of retinitis pigmentosa since childhood and a MYO7A gene mutation suggesting Usher syndrome, developed a dilated cardiomyopathy with ventricular tachyarrhythmias and recurrent syncope. At magnetic resonance cardiomyopathy was characterized by left ventricular dilatation with hypo-contraction and mitral prolapse with valve regurgitation. At left ventricular endomyocardial biopsy, it was documented cardiomyocyte disconnection because of cytoskeletal disorganization of cell-to-cell contacts, including intercalated discs, and mitochondrial damage and dysfunction with significant reduction of adenosine triphosphate production in patient cultured fibroblasts. At an extensive analysis by next-generation-sequencing of 4183 genes potentially related to the cardiomyopathy a pathogenic mutation of calreticulin was found. The cardiomyopathy appeared to be functionally and electrically stabilized by a combination therapy including carvedilol and amiodarone at a follow-up of 18 months.

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 2021;21(7):1196-1218.

Platelets are cellular fragments derived from bone-marrow megacaryocytes and they are mostly involved in the 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 also be discussed 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.

Pontemezzo E, Foglio E, Vernucci E, Magenta A, D'Agostino M, Sileno S, Astanina E, Bussolino F, Pellegrini L, Germani A, Russo MA, Limana F.

miR-200c-3p regulates epithelial-to-mesenchymal transition in epicardial mesothelial cells by targeting epicardial follistatin-related protein 1.

Recent findings suggest that epithelial to mesenchymal transition (EMT), a key step during heart development, is involved in cardiac tissue repair following myocardial infarction (MI). MicroRNAs (miRNAs) act as key regulators in EMT processes; however, the mechanisms by which miRNAs target epicardial EMT remain largely unknown. Here, by using an in vitro model of epicardial EMT, we investigated the role of miRNAs as regulators of this process and their potential targets. EMT was induced in murine epicardial-mesothelial cells (EMCs) through TGF β 1 treatment for 48, 72, and 96 h as indicated by the expression of EMT-related genes by qRT-PCR, WB, and immunofluorescence. Further, enhanced expression of stemness genes was also detected. Among several EMT-related miRNAs, miR-200c-3p expression resulted as the most strongly suppressed. Interestingly, we also found a significant upregulation of Follistatin-related protein 1 (FSTL1), a miR-200c predicted target already identified as a potent cardiogenic factor produced by epicardial cells that promotes regeneration following MI. Dual-luciferase reporter assay demonstrated that miR-200c-3p directly targeted the 3'-untranslated region of FSTL1 in EMCs. Consistently, WB analysis showed that knockdown of miR-200c-3p significantly increased FSTL1 expression, whereas overexpression of miR-200c-3p counteracted TGF β 1-mediated FSTL1 upregulation. Importantly, FSTL1 silencing maintained epithelial features in EMCs, despite EMT induction by TGF β 1, and attenuated EMT-associated traits, including migration and stemness. In conclusion, epicardial FSTL1, an important cardiogenic factor in its secreted form, induces EMT, stemness, and migration of EMCs in a miR-200c-3p dependent pathway.

Russo M et al.

Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition).

Autophagy 2021 Jan;17(1):1-382.

Frustaci A, Francone M, Verardo R, Scialla R, Bagnato G, Alfarano M, Chimenti C, Frustaci E, Sansone L, Russo M.

Pemphigus-associated cardiomyopathy: report of autoimmune myocarditis and review of literature.

ESC Heart Fail 2021 Oct;8(5):3690-3695.

Pemphigus is a rare disease characterized by bullous lesions of the skin and mucous membranes. The aetiology is autoimmune and related to the formation of IgG autoantibodies against desmogleins, which are structural proteins of desmosomes that ensure the stability of contacts between cells. Cardiac involvement in patients with pemphigus is poorly documented. We report the data in the literature on this topic and a case of pemphigus-associated autoimmune myocarditis with damage of intercalated disc responding to immunosuppressive therapy. The occurrence of cardiomyopathy with left ventricular dysfunction in patients affected by pemphigus should be appropriately screened with endomyocardial biopsy as it could be the myocardial extension of a potentially reversible autoimmune disorder.

Frustaci A, Letizia C, Chimenti C, Verardo R, Alfarano M, Scialla R, Russo MA.

Myocardial aldosterone receptor and aquaporin 1 up-regulation is associated with cardiomyocyte remodeling in human heart failure.

Journal of Clinical Medicine 2021 Oct 22;10(21):4854.

Abnormal aldosterone signaling is a recognized source of cardiovascular damage. Its influence on cardiomyocyte structure, function, and hormonal receptors when associated with heart failure is still unreported.

Twenty-six consecutive patients with heart failure (LVEF < 40%) and normal coronaries and valves underwent left ventricular endomyocardial biopsy (EMB) for evaluation of myocardial substrate. Biopsy samples were processed for histology, electron microscopy, immunohistochemistry, and Western blot analysis of myocardial aldosterone receptor and aquaporin-1 correlated with plasma aldosterone (AD) and

renin activity (PRA). Eight patients with virus-negative inflammatory cardiomyopathy (ICM) had a control EMB after 6 months of immunosuppressive therapy and recovery of cardiac function with re-evaluation of cardiomyocyte structure and receptor expression.

EMB in addition to the diagnosis of myocarditis (15 cases), dilated cardiomyopathy CM (6), alcohol CM (2), and diabetic CM (3) showed vacuolar degeneration and cloudy swelling of cardiomyocytes corresponding at electron microscopy to ions and water accumulation into cytosol, membrane-bound vesicles, nucleus, and other organelles, and was associated with an increased AD, PRA, and myocardial expression of aldosterone receptor (2.6 fold) and aquaporin 1 (2.7 fold). In the 8 patients recovered from ICM, cardiomyocyte diameter reduced with disappearance of intracellular vacuoles and normalization of cytosol, nucleus, and cell organelles' electron-density, along with down-regulation of aldosterone receptor and aquaporin-1.

Human heart failure is associated with overexpression of myocardial aldosterone receptor and aquaporin-1. These molecular changes are paralleled by intracellular water overloading and cardiomyocyte swelling and dysfunction. Cardiac recovery is accompanied by down-regulation of hormonal receptors and normalization of cell structure and composition.

Zinger A, Sushnitha M, Naoi T, Baudo G, De Rosa E, Chang J, Tasciotti E, Taraballi F.

Enhancing inflammation targeting using tunable leukocyte-based biomimetic nanoparticles.

ACS Nano. 2021 Mar 16. Epub ahead of print.

Biomimetic nanoparticles aim to effectively emulate the behavior of either cells or exosomes. Leukocyte-based biomimetic nanoparticles, for instance, incorporate cell membrane proteins to transfer the natural tropism of leukocytes to the final delivery platform. However, tuning the protein integration can affect the in vivo behavior of these nanoparticles and alter their efficacy. Here we show that, while increasing the protein:lipid ratio to a maximum of 1:20 (w/w) maintained the nanoparticle's structural properties, increasing protein content resulted in improved targeting of inflamed endothelium in two different animal models. Our combined use of a microfluidic, bottom-up approach and tuning of a key synthesis parameter enabled the synthesis of reproducible, enhanced biomimetic nanoparticles that have the potential to improve the treatment of inflammatory-based conditions through targeted nanodelivery.

De Vita A, Liverani C, Molinaro R, Martinez JO, Hartman KA, Spadazzi C, Misericocchi G, Taraballi F, Evangelopoulos M, Pieri F, Bongiovanni A, Mercatali L, Tasciotti E, Ibrahim T.

Lysyl oxidase engineered lipid nanovesicles for the treatment of triple negative breast cancer.

Sci Rep. 2021 Mar 3;11(1):5107.

In the field of oncology research, a deeper understanding of tumor biology has shed light on the role of environmental conditions surrounding cancer cells. In this regard, targeting the tumor microenvironment has recently emerged as a new way to access this disease. In this work, a novel extracellular matrix (ECM)-targeting nanotherapeutic was engineered using a lipid-based nanoparticle chemically linked to an inhibitor of the ECM-related enzyme, lysyl oxidase 1 (LOX), that inhibits the crosslinking of elastin and collagen fibers. We demonstrated that, when the conjugated vesicles were loaded with the chemotherapeutic epirubicin, superior inhibition of triple negative breast cancer (TNBC) cell growth was observed both in vitro and in vivo. Moreover, in vivo results displayed prolonged survival, minimal cytotoxicity, and enhanced biocompatibility compared to free epirubicin and epirubicin-loaded nanoparticles. This all-in-one nano-based ECM-targeting chemotherapeutic may provide a key-enabling technology for the treatment of TNBC.

Fernandez-Moure JS, Van Eps JL, Scherba JC, Yazdi IK, Robbins A, Cabrera F, Vatsaas C, Moreno M, Weiner BK, Tasciotti E.

Platelet-rich plasma enhances mechanical strength of strattice in rat model of ventral hernia repair.

J Tissue Eng Regen Med. 2021 Jul;15(7):634-647.

Incisional hernia is a common complication of hernia repair despite the development of various synthetic and bio-synthetic repair materials. Poor long-term mechanical strength, leading to high recurrence rates,

Liverani C, De Vita A, Spadazzi C, Misericocchi G, Cocchi C, Bongiovanni A, De Lucia A, La Manna F, Fabbri F, Tebaldi M, Amadori D, **Tasciotti E**, Martinelli G, has limited the use of acellular dermal matrices (ADMs) in ventral hernia repair (VHR). Biologically derived meshes have been an area of increasing interest. Still these materials bring the risk of more aggressive immune response and fibrosis in addition to the mechanical failures suffered by the synthetic materials. Platelet-rich plasma (PRP), a growth-factor-rich autologous blood product, has been shown to improve early neovascularization, tissue deposition, and to decrease the rates of recurrence. Here, we demonstrate that PRP promotes the release of growth factors stromal derived factor (SDF)-1, transforming growth factor-beta, and platelet-derived growth factor in a dose-dependent manner. Additionally, we utilize an aortic ring angiogenesis assay to show that PRP promotes angiogenesis in vitro. A rat model of VHR using Strattice™ ADM demonstrates similar findings in vivo, corresponding with the increased expression of vascular endothelial growth factor and collagen type 1 alpha 1. Finally, we show that the molecular and cellular activity initiated by PRP results in an increased mechanical stiffness of the hernia repair mesh over time. Collectively, these data represent an essential step in demonstrating the utility and the mechanism of platelet-derived plasma in biomaterial-aided wound healing and provide promising preclinical data that suggest such materials may improve surgical outcomes.

Liu L, Bai X, Martikainen MV, Kårlund A, Roponen M, Xu W, Hu G, Tasciotti E, Lehto VP.

Cell membrane coating integrity affects the internalization mechanism of biomimetic nanoparticles.

Nat Commun. 2021 Sep 30;12(1):5726.

Cell membrane coated nanoparticles (NPs) have recently been recognized as attractive nanomedical tools because of their unique properties such as immune escape, long blood circulation time, specific molecular recognition and cell targeting. However, the integrity of the cell membrane coating on NPs, a key metrics related to the quality of these biomimetic-systems and their resulting biomedical function, has remained largely unexplored. Here, we report a fluorescence quenching assay to probe the integrity of cell membrane coating. In contradiction to the common assumption of perfect coating, we uncover that up to 90% of the biomimetic NPs are only partially coated. Using in vitro homologous targeting studies, we demonstrate that partially coated NPs could still be internalized by the target cells. By combining molecular simulations with experimental analysis, we further identify an endocytic entry mechanism for these NPs. We unravel that NPs with a high coating degree ($\geq 50\%$) enter the cells individually, whereas the NPs with a low coating degree ($< 50\%$) need to aggregate together before internalization. This quantitative method and the fundamental understanding of how cell membrane coated NPs enter the cells will enhance the rational designing of biomimetic nanosystems and pave the way for more effective cancer nanomedicine.

Mercatali L, Ibrahim T.

Lineage-specific mechanisms and drivers of breast cancer chemoresistance revealed by 3D biomimetic culture.

Mol Oncol. 2021 Jun 10. Online ahead of print.

To improve the success rate of current preclinical drug trials, there is a growing need for more complex and relevant models that can help predict clinical resistance to anticancer agents. Here, we present a three-dimensional (3D) technology, based on biomimetic collagen scaffolds, that enables the modeling of the tumor hypoxic state and the prediction of in vivo chemotherapy responses in terms of efficacy, molecular alterations, and emergence of resistance mechanisms. The human breast cancer cell lines MDA-MB-231 (triple negative) and MCF-7 (luminal A) were treated with scaling doses of doxorubicin in monolayer cultures, 3D collagen scaffolds, or orthotopically transplanted murine models. Lineage-specific resistance mechanisms were revealed by the 3D tumor model. Reduced drug uptake, increased drug efflux, and drug lysosomal confinement were observed in triple-negative MDA-MB-231 cells. In luminal A MCF-7 cells, the selection of a drug-resistant subline from parental cells with deregulation of p53 pathways occurred. These cells were demonstrated to be insensitive to DNA damage. Transcriptome analysis was carried out to identify differentially expressed genes (DEGs) in treated cells. DEG evaluation in breast cancer patients

demonstrated their potential role as predictive biomarkers. High expression of the transporter associated with antigen processing 1 (TAP1) and the tumor protein p53-inducible protein 3 (TP53I3) was associated with shorter relapse in patients affected by ER+ breast tumor. Likewise, the same clinical outcome was associated with high expression of the lysosomal-associated membrane protein 1 LAMP1 in triple-negative breast cancer. Hypoxia inhibition by resveratrol treatment was found to partially re-sensitize cells to doxorubicin treatment. Our model might improve preclinical in vitro analysis for the translation of anticancer compounds as it provides: (a) more accurate data on drug efficacy and (b) enhanced understanding of resistance mechanisms and molecular drivers.

Chiappini C, Chen Y, Aslanoglou S, Mariano A, Mollo V, Mu H, De Rosa E, He G, **Tasciotti E**, Xie X, Santoro F, Zhao W, Voelcker NH, Elnathan R.

Tutorial: using nanoneedles for intracellular delivery.

Nat Protoc. 2021 Oct;16(10):4539-4563.

Intracellular delivery of advanced therapeutics, including biologicals and supramolecular agents, is complex because of the natural biological barriers that have evolved to protect the cell. Efficient delivery of therapeutic nucleic acids, proteins, peptides and nanoparticles is crucial for clinical adoption of emerging technologies that can benefit disease treatment through gene and cell therapy. Nanoneedles are arrays of vertical high-aspect-ratio nanostructures that can precisely manipulate complex processes at the cell interface, enabling effective intracellular delivery. This emerging technology has already enabled the development of efficient and non-destructive routes for direct access to intracellular environments and delivery of cell-impermeant payloads. However, successful implementation of this technology requires knowledge of several scientific fields, making it complex to access and adopt by researchers who are not directly involved in developing nanoneedle platforms. This presents an obstacle to the widespread adoption of nanoneedle technologies for drug delivery. This tutorial aims to equip researchers with the knowledge required to develop a nanoinjection workflow. It discusses the selection of nanoneedle devices, approaches for cargo loading and strategies for interfacing to biological systems and summarises an array of bioassays that can be used to evaluate the efficacy of intracellular delivery.

D'Argenio V, Dittfeld L, Lazzeri P, Tomaiuolo R, Tasciotti E. Unraveling the **Balance between genes, microbes, lifestyle and the environment to improve healthy reproduction.**

Genes (Basel). 2021 Apr 20;12(4):605.

Humans' health is the result of a complex and balanced interplay between genetic factors, environmental stimuli, lifestyle habits, and the microbiota composition. The knowledge about their single contributions, as well as the complex network linking each to the others, is pivotal to understand the mechanisms underlying the onset of many diseases and can provide key information for their prevention, diagnosis and therapy. This applies also to reproduction. Reproduction, involving almost 10% of our genetic code, is one of the most critical human's functions and is a key element to assess the well-being of a population. The last decades revealed a progressive decline of reproductive outcomes worldwide. As a consequence, there is a growing interest in unveiling the role of the different factors involved in human reproduction and great efforts have been carried out to improve its outcomes. As for many other diseases, it is now clear that the interplay between the underlying genetics, our commensal microbiome, the lifestyle habits and the environment we live in can either exacerbate the outcome or mitigate the adverse effects. Here, we aim to analyze how each of these factors contribute to reproduction highlighting their individual contribution and providing supporting evidence of how to modify their impact and overall contribution to a healthy reproductive status.

LINEA 2

Clinica della disabilità

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Indagine retrospettiva sulle persone con amputazione di arto inferiore trattate con protesizzazione

L'amputazione degli arti inferiori (LLA) è ancora un problema di salute che richiede riabilitazione e assistenza a lungo termine, nonostante i grandi progressi in materia di medicina e prevenzione degli infortuni in ambito industriale [Willey et al., 2018]. Diverse revisioni sistematiche e dati epidemiologici su LLA si sono concentrati sull'efficacia della riabilitazione in termini di uso di protesi [Moxey et al., 2011] per compensare la perdita funzionale [Blumentritt et al., 2001] nell'ambito di un percorso riabilitativo finalizzato al recupero della capacità di stare in piedi e di camminare mentre si indossa una protesi. Studi sul ritorno al lavoro o all'attività sociale nelle persone con LLA includono molti fattori confondenti che riducono l'identificazione di predittori di outcome. Pertanto, studi sui fondamentali fattori sociodemografici (sesso, età, condizione lavorativa) e parametri clinici (come il lato, il dolore e il livello di amputazione) dovrebbero essere eseguiti cercando di minimizzare l'effetto confondente di variabili come differenti programmi di riabilitazione e/o fabbricazione di protesi. I dati della letteratura sul recupero della capacità di camminare all'aperto, e quindi di partecipare alla vita sociale in questa popolazione di pazienti, sono limitati. È necessario, quindi, indagare le potenziali correlazioni tra fattori sociodemografici e clinici e l'uso della protesi per il cammino indoor e outdoor, detto Community Ambulation (CA), in soggetti con LLA.

Lo scopo di questo studio è di indagare potenziali correlazioni tra fattori sociodemografici e clinici e l'uso della protesi indoor e outdoor in termini di partecipazione in persone con LLA, riducendo al minimo i fattori confondenti.

Risultati attesi potrebbero includere un quadro globale dello stato di soggetti con LLA in termini di attività e partecipazione, poiché la perdita di funzionalità e mobilità incide direttamente sulla riduzione della partecipazione. Di conseguenza, i risultati di questo studio potrebbero fornire ulteriori indicazioni sull'utilità della CA come fattore predittivo e per identificare sottogruppi di soggetti che possono meglio rispondere ad una riabilitazione su misura per camminare in autonomia.

Lo studio vuole analizzare e confermare che l'uso regolare di una protesi nelle persone con LLA aiuti a ripristinare un buon livello di partecipazione in termini di capacità di camminare indoor e outdoor. L'identificazione di indicatori per una prognosi mirata permette di ottimizzare un programma riabilitativo personalizzato. Trovare sottogruppi di soggetti con LLA che potrebbero avere una migliore possibilità di recuperare la CA e tornare a partecipare autonomamente nei contesti sociali, sulla base di specifiche sociodemografiche e le caratteristiche cliniche potrebbero guidare i medici per pianificare un programma riabilitativo più efficace.

È stato condotto uno studio di coorte osservazionale su 687 soggetti con LLA. Caratteristiche sociodemografiche e cliniche di soggetti che hanno ricevuto un trattamento riabilitativo simile rispetto al protocollo standard sono stati raccolti da un sondaggio telefonico con un questionario strutturato. Il recupero della CA, in termini di autonomia e partecipazione del paziente, valutata dalla Walking Handicap Scale, è stato considerato come primary outcome.

L'analisi univariata ha mostrato una correlazione positiva statisticamente significativa tra CA e genere ($\chi^2=3.901$, $P=.048$); livello di amputazione ($\chi^2=24.657$, $P<.001$); attività lavorativa pre-LLA ($\chi^2=6.338$, $P=.012$) e in corso ($\chi^2=25.192$, $P<.001$); utilizzo protesi ($\chi^2=187.037$, $P<.01$); e tempo trascorso da LLA ($r=0,183$, $P<.001$); l'aumento dell'età è correlato negativamente con l'esito ($r=-0.329$, $P<.001$), mentre l'intensità del dolore non è risultata significativa. Essere maschi (75,4%); livello di amputazione transtibiale (TT) (9,79%); lavorare prima della LLA (3,81%) e dopo LLA (7,68%); e l'uso della protesi (24,63%) ha aumentato la probabilità di

recupero della CA. L'analisi statistica ha confermato che l'uso della protesi ($P < .001$) e il livello di amputazione TT ($P = .042$) sono predittori di una Walking Handicap Scale 4–6.

I risultati trovati evidenziano l'importanza dell'uso della protesi nelle persone con LLA per il ripristino di una buona capacità di partecipazione (CA), soprattutto nei soggetti con livello di amputazione TT. L'identificazione di fattori predittivi può aiutare la personalizzazione di nuovi approcci riabilitativi volti a un precoce reinserimento nella vita sociale.

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).

Lo studio 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 riguarda la standardizzazione della valutazione strumentale dell'arto superiore. Analisi della cinematica dell'arto superiore durante il BBT e valutazione di soggetti sani e di soggetti con Malattia di Parkinson.

Gli obiettivi secondari dello studio consistono in: 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 elaborare un database contenente dati di cinematica articolare durante l'esecuzione del BBT: dati soggetti normodotati e patologici. La definizione di uno strumento oggettivo e avanzato di valutazione della performance motoria dell'arto superiore da poter utilizzare ampiamente nell'IRCCS San Raffaele Roma, è importante per comprendere quantitativamente gli effetti delle terapie per l'arto superiore.

L'attività di ricerca del 2021 ha riguardato attività sperimentale di acquisizione su soggetti sani e con malattia di Parkinson e l'analisi dei dati.

Lo studio integra un sistema ecologico di unità di misura inerziale (IMU) per l'analisi della cinematica della parte superiore del corpo durante l'esecuzione di una versione targeted di BBT, da parte di persone normodotate con soggetti con malattia di Parkinson (PD). Parametri descrittivi degli angoli articolari (angolo medio e range di movimenti) e di indici cinematici della traiettoria della mano (velocità media, accelerazione media e jerk adimensionale) sono stati calcolati dai segnali acquisiti da una rete composta da 7 IMU. I sensori sono stati applicati sul tronco, testa e arto superiore per caratterizzare la strategia motoria utilizzata durante l'esecuzione della BBT.

Criteri per il reclutamento del Gruppo di controllo (CG): soggetti adulti normodotati tra i 60 e gli 80 anni senza patologie degli arti superiori (danno neurologico periferico, gravi malattie infiammatorie degenerative articolari, frattura, o risultati di traumi), deficit cognitivo e/o visivo grave.

Criteri per il reclutamento del Gruppo Malattia di Parkinson (PDG): diagnosi di PD idiopatica secondo i criteri della UK Brain Bank; Hoehn e Yahr- H&Y fase 2–3; di età compresa tra i 50 e gli 80 anni; in grado di mantenere una posizione seduta su a sedia senza supporto per almeno 30 min; moderato deficit delle prestazioni motorie degli arti superiori correlato alla malattia; trattamento farmacologico stabilizzato.

Tredici soggetti con PD e undici soggetti normodotati sono stati arruolati nello studio. Due pazienti nel PDG sono stati esclusi dall'analisi per la presenza di artefatti nei dati IMU. Tutti i partecipanti hanno condotto il test BBT con IMU senza alcuna difficoltà e l'analisi dei dati IMU ha permesso di calcolare la cinematica articolare: i risultati dei soggetti normodotati sono in accordo con la letteratura su studi simili basati sulla stereofotogrammetria [Kontson et al., 2017]; i risultati dei soggetti con PD ci ha consentito di caratterizzare la qualità dei movimenti e le strategie compensative tipiche di questa malattia [Tresilian, et al., 1997]. In particolare, il polso ha evidenziato una flessione media e deviazione ulnare significativamente maggiore nel PDG rispetto al CG, mentre la flessione-estensione di polso è risultata simile in entrambi i gruppi. La spalla è caratterizzata da un range of execution significativamente più piccolo in tutti i compiti motori, rivelando così una limitata escursione angolare nel PDG. Il tronco ha esibito più in alto range of execution nel PDG rispetto al CG, confermando così l'impiego di una strategia compensativa in soggetti con PD [Tresilian, et al., 1997].

L'attività di ricerca proseguirà nel 2022 e riguarderà il reclutamento di ulteriori soggetti normodotati, con malattia di Parkinson e con esiti da Ictus cerebrale. L'analisi comparativa dei dati permetterà, quindi, di caratterizzare in modo quantitativo e oggettivo le strategie di esecuzione del task motorio nei diversi gruppi di soggetti.

Lo sviluppo di un protocollo di valutazione strumentale dell'arto superiore consentirà 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 nell'ambito dei servizi di riabilitazione. Infatti, sarà possibile quantificare gli effetti del trattamento riabilitativo e quindi ottimizzare i servizi offerti.

Studio epidemiologico riabilitativo nelle persone con Ictus Cerebrale

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 nella definizione di 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) può 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 e ricco di evidenze scientifiche 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. Un esempio su tutti è l'importanza di un semplice atto riabilitativo in senso lato cui spesso possono attendere gli Infermieri dei reparti, se ben addestrati ad una cultura di nursing riabilitativo. Questo consiste in una rapida mobilitazione con passaggio alla posizione seduta, appena possibile, della persona coinvolta nell'evento lesivo già a poche ore/giorni dall'episodio acuto.

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 dovranno 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 sarà poi il monitoraggio dei tempi di passaggio tra le varie strutture: Reparti dell'acuzie, Reparti Riabilitativi e Territorio. Infatti, è ormai sempre più evidente che la precocità dell'intervento riabilitativo assume un ruolo importante rispetto l'outcome a distanza

di tempo. In dettaglio, è 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 postraumatica 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.

L’obiettivo dello studio consiste nel 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 verificare anche se la rete dei servizi analizzata nello studio mostri delle limitazioni o mancanza di appropriatezza di intervento.

Lo studio dovrebbe mettere 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 anche di come si modificano alla dimissione. Questo dato dovrebbe trovare una correlazione coi dati di percorso come possibile causa della presenza di tali menomazioni secondarie all’ingresso in riabilitazione.

Infine, al termine della ricerca potrebbero essere messe in luce delle falle nella rete dei percorsi per il paziente.

L’aspetto innovativo di questo studio è 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 possono 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: L'uso di protocolli di valutazione standardizzati è fortemente raccomandato per identificare i bisogni del paziente e per predire le risposte a interventi specifici nella riabilitazione post-ictus. Nel 2008 Società Italiana di Fisica e Riabilitazione Medicina (SIMFER) ha pubblicato il protocollo di minima per la persona con ictus (PMIC), in riferimento alla ICF. Nel 2019, la SIMFER ha nominato un gruppo di lavoro (WG) per fornire una revisione e una versione aggiornata in linea con la più recente letteratura e adatta a tutte le riabilitazioni: PMIC2020. È stato condotto uno studio descrittivo basato sul consenso di un panel di esperti su persone con disabilità sopravvissute a un ictus. Il coordinatore della Sezione nazionale Stroke SIMFER ha nominato il WG composto dagli 8 membri del consiglio della Sezione Stroke e altri 4 esperti (3 fisiatrici; 1 neurologo). È stata condotta un'ampia revisione della letteratura internazionale sulla valutazione dell'ictus e sulle le raccomandazioni.

Il PMIC2020 è un modulo unico, da somministrare in qualsiasi momento del percorso riabilitativo, comprensivo di un insieme minimo di variabili, costituito da una sezione demografica/anamnestica e una sezione valutazione clinica/funzionale. Di recente gli strumenti introdotti includevano misure di malnutrizione (BMI<18,5); dolore nei pazienti verbali e non

verbali (Numeric Rating Scale-pain, Pain Assessment in Advanced Dementia Scale); impairment neurologico (National Institute of Health-stroke scale); attività (Modified Barthel Index, Short Physical Performance Battery); e partecipazione (Frenchay Activity Index). Il PMIC2020 fornisce uno strumento aggiornato per la valutazione multidimensionale riabilitativa del paziente post-ictus, in qualsiasi fase del percorso riabilitativo; esso mira a fornire un insieme minimo condiviso di variabili che definiscono i bisogni e gli esiti del paziente in diverse strutture e contesti riabilitativi.

STUDIO 2: L'outcome funzionale rappresenta l'obiettivo centrale dei programmi di riabilitazione. Comprendere quali fattori potrebbero influenzare l'outcome funzionale alla dimissione è fondamentale per la pianificazione di trattamenti appropriati sia nei pazienti neurologici che ortopedici. Questo studio vuole indagare quali variabili cliniche e demografiche, raccolte al ricovero del paziente, possano influenzare l'outcome funzionale, valutato dall'indice di Barthel modificato (mBI), alla dimissione. Uno studio retrospettivo è stato condotto su un'ampia coorte (n = 3.548) di pazienti ortopedici e neurologici. Sono stati raccolti i record funzionali, demografici e clinici all'ammissione del paziente e il punteggio mBI alla dimissione. È stata eseguita un'analisi del modello lineare generale per valutare l'influenza di queste variabili sul risultato funzionale alla dimissione.

I risultati hanno riportato un effetto significativo di mBI all'ammissione (valore $p < 0,0001$), età (valore $p < 0,0001$) e tempo dall'evento acuto (valore $p < 0,0001$) su mBI alla dimissione. Inoltre, il tipo di malattia (neurologica o ortopedica) aggiustato per sesso (maschio o femmina) e presenza di diverse menomazioni (menomazioni cognitive e comportamentali) e complicanze (ipertensione e malattie cardiovascolari) hanno influenzato in modo significativo il mBI alla dimissione (valore $p < 0,05$) ($R^2 = 0,497$). Non sono state trovate interazioni significative tra altri fattori (valore $p > 0,05$). In conclusione, diversi fattori prognostici dovrebbero essere considerati quando si pianifica un appropriato programma di riabilitazione su misura.

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 familiari, indipendentemente dalla gravità della patologie disabilitanti.

Validazione di misure di outcome in riabilitazione

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), troviamo 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 corretta misurazione, 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, dobbiamo considerare le seguenti tre proprietà psicometriche come calibrazione (Mokkink et al., 2010): l'affidabilità indica il grado con il quale una misura è libera dall'errore di misurazione; la validità, invece indica il grado con il quale lo strumento di misura è un appropriato riflesso della variabile che si intende misurare; 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 è somministrato.

Il progetto intende 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:

- Determinare quali sono i punti di forza e debolezza di questi strumenti;
- 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.

Ci si aspetta di poter 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.

STUDIO 1: Nel corso del 2021 sono state valutate le proprietà psicometriche della Dutch-Flemish Patient-Reported Outcome Measurement Information System Scale v1.2 – Global Health (PROMIS-GH). Il PROMIS-GH (indicato anche come PROMIS-10) è stato somministrato a 4370 persone olandesi. Sono stati valutati: unidimensionalità ($CFI \geq 0,95$; $TLI \geq 0,95$; $RMSEA \leq 0,06$; $SRMR \leq 0,08$), indipendenza locale (correlazioni residue $< 0,20$), monotonia ($H > 0,30$), modello fit con il modello di risposta graduata (GRM, $p < 0,001$), consistenza interna ($\alpha > 0,75$), precisione (informazioni sul punteggio totale attraverso il tratto latente), invarianza della misurazione (nessuna differenza Item Functioning [DIF]) e validità interculturale (nessun DIF per la lingua, olandese e inglese degli Stati Uniti) delle sue sottoscale, composte ciascuna da quattro elementi, Global Mental Health (GMH) e Global Physical Health (GPH).

STUDIO 2: Lo scopo di questo studio è stato indagare la conoscenza, la gestione e la pratica clinica di fisioterapisti italiani su pazienti con sindrome del tunnel carpale (STC). Un'indagine trasversale nazionale composta da 24 domande è stata somministrata da dicembre 2019 a febbraio 2020. È stato eseguito un test di indipendenza del chi quadrato per studiare eventuali differenze tra i sottogruppi del campione e le risposte al questionario.

STUDIO 3: Obiettivo di questo studio è stata la revisione sistematica della letteratura sulle proprietà di misurazione del Gross Motor Function Classification System (GMFCS), Gross Motor Function Classification System Expanded & Revised (GMFCS-E&R), Manual Ability Classification System (MACS), e Communication Function Classification System (CFC) nei bambini con

paralisi cerebrale (CP). Sono stati analizzati articoli pubblicati in sei database e sono stati inclusi studi che somministravano GMFCS, GMFCS-E&R, MACS e CFCS a bambini con PC. La qualità è stata valutata per mezzo della checklist Consensus-based Standards for the selection of health Measurement Instruments (COSMIN) Risk of Bias checklist.

STUDIO 4: L'obiettivo di questo studio è stato quello di adattare in modo interculturale la versione italiana del Forgotten Joint Score (FJS-I) e studiarne le proprietà psicometriche in pazienti con artroplastica totale dell'anca (THA). Nel 2021, il FJS-I è stato tradotto secondo le linee guida internazionali e somministrato a 111 pazienti con THA, insieme alla Western Ontario and McMaster Universities (WOMAC), Numerical Pain Rating Scale (NPRS) e EuroQol 5D-5L (EQ-5D-5L). Validità strutturale (Analisi fattoriale di conferma [CFA]), coerenza interna (alfa di Cronbach), affidabilità test-retest (coefficiente di correlazione intraclasse [ICC]), errore di misurazione (errore standard della misurazione [SEM], modifica minima rilevabile [MDC]) e è stata valutata la validità del costrutto (test di ipotesi con correlazione di WOMAC, NPRS ed EQ-5D-5L).

STUDIO 5: Il dolore di spalla causa dolore e limitazioni nei movimenti e influenza le abilità funzionale, lavorative e sportive, così come le attività della vita quotidiana, e di conseguenza impatta sulla qualità di vita dei pazienti. Negli ultimi anni è stato sviluppato un grande numero di questionari per valutare le funzioni e i cambiamenti clinici nei pazienti con problematiche alla spalla. La Patient Specific Functional Scale è una misura di outcome sviluppata nel 1995 con l'obiettivo di costruire una misura standard per registrare le condizioni dei pazienti che avesse le seguenti caratteristiche: applicabile ad un gran numero di presentazioni cliniche, efficiente e facile da somministrare, efficiente ed facile da registrare all'interno di un report medico, affidabile, valida, capace di identificare i cambiamenti nel tempo e in grado di confrontare i livelli delle attività specifiche per il singolo paziente in un dato momento rispetto al livello pre infortunio o pre-disabilità.

Inizialmente validata per il low back pain, negli anni successivi sono stati effettuati studi per dimostrarne la validità anche in altre disturbi muscoloscheletrici. Validazioni e adattamenti cross culturali sono stati pubblicati in diverse lingue, per diversi disturbi muscoloscheletrici.

Attualmente nessuna traduzione e validazione è stata effettuata in lingua italiana e lo studio si propone come scopo di effettuarne una in pazienti con spalla dolorosa.

Risultati ottenuti:

STUDIO 1: Le analisi fattoriali confermate, su entrambe le sottoscale, hanno rivelato lievi scostamenti dall'unidimensionalità per GMH (CFI=0,98; TLI=0,95, RMSEA=0,22; SRMR=0,04) e GPH (CFI=0,99; TLI=0,97; RMSEA=0,12; SRMR=0,03). Lo erano l'indipendenza locale, la monotonia, il modello GRM, la coerenza interna, la precisione e la validità interculturale. Tuttavia, il Global10 (problemi emotivi) ha mostrato confusione nella sottoscala GMH, mentre Global08 (stanchezza) ha presentato DIF per età. In conclusione, le proprietà psicometriche del PROMIS-GH nella popolazione olandese sono state considerate accettabili.

STUDIO 2: Cinquecento otto persone intervistate hanno completato il sondaggio. La maggior parte degli intervistati (n = 225/508; 44,3%) ha meno di 29 anni, sono donne (n = 256/508; 50,4%) e hanno lavorato come fisioterapista da meno di 5 anni (n = 213/508; 41,9%). La maggior parte degli intervistati conosce correttamente la causa (n = 455/508, 89,6%), i principali segni e sintomi di CTS (n = 415/508, 81,70%) e somministra terapia manuale, tecniche miofasciali ed esercizi terapeutici (n = 457/508, 89,88%). Trecentosessantaquattro (71,68%) intervistati sono conoscenza dell'influenza dei fattori psicosociali sugli esiti del paziente. L'indagine ha mostrato una maggiore adesione evidenze da parte di fisioterapisti in possesso di laurea magistrale. I risultati sono per lo più comparabili con altri sondaggi strutturati in tutto il mondo sullo stesso argomento.

STUDIO 3: Quarantaquattro articoli sono stati inclusi nella revisione sistematica e 37 articoli nella metanalisi. Il livello (classificazione) delle prove è forte (positivo) per affidabilità e validità di costrutto. La validità del contenuto mostra un livello di evidenza sconosciuto per il GMFCS, evidenza limitata (positiva) per MACS e evidenza moderata (positiva) per il CFC. Questi strumenti possono essere utilizzati da operatori sanitari per quantificare i costrutti necessari per misurare l'abilità nei bambini con PC.

STUDIO 3: L'attività del 2021, ha riguardato il reclutamento del campione previsto dal sample size. Dopo aver tenuto conto della dipendenza locale, il CFA ha confermato la struttura a fattore unico (one-factor structure) (CFI=0,985; TLI=0,981; RMSEA=0,087; SRMR=0,047). È stata supportata la coerenza interna ($\alpha=0,944$). Un'elevata affidabilità test-retest (ICC=0,958; IC 95%: 0,914-0,980) è stata trovata con un SEM e MDC rispettivamente di 6,0 e 16,7 punti. La validità del costrutto è stata soddisfacente, poiché il 100% delle ipotesi a priori è stato soddisfatto. In conclusione, la FJS è stata tradotta con successo e adattata interculturale in italiano e le sue proprietà psicometriche sono state confermate. FJS-I può essere utilizzato per misurazioni di singole persone nella pratica clinica e nella ricerca. Ulteriori ricerche sono state suggerite per affinarne la validità strutturale. Nel 2022, è prevista la pubblicazione dei dati analizzati ed interpretati sulle riviste impattate internazionali.

STUDIO 4: Nel 2021, 90 pazienti con spalla dolorosa sono stati reclutati e valutati. La raccolta dei dati è stata effettuata con una CRF dedicata ed anonimizzata, un registro master è tenuto a cura del principal investigator. Nel 2022, si proseguirà il reclutamento e la valutazione di ulteriori pazienti per raggiungere il sample size calcolato per questo studio. I dati ottenuti saranno elaborati ed analizzati. I risultati saranno interpretati e verrà preparato il manoscritto per la pubblicazione sulle riviste internazionali impattate.

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 Roma 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 Roma, 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, 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, dovute 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 ci si attende di ottenere:

- 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: Lo scopo di questo studio è di calcolare i parametri cinematici di pre-trattamento punto-punto raggiungendo target in diverse direzioni e per identificare biomarcatori del recupero motorio degli arti superiori in soggetti con ictus subacuto dopo riabilitazione robotica dell'arto superiore (uIRT). È stato condotto uno studio osservazionale retrospettivo su 66 soggetti con ictus subacuto sottoposti a uIRT con un robot end-effector. I parametri cinematici sono stati calcolati dalle traiettorie misurate dal robot durante i movimenti in diverse direzioni. È stato applicato un modello lineare generalizzato (GLM) considerando i seguenti indicatori post-trattamento Motricity Index dell'arto superiore; parametri cinematici (da diverse direzioni di movimento) come variabili dipendenti, e i parametri cinematici di pretrattamento come variabili indipendenti.

Un sottoinsieme di parametri cinematici ha predetto significativamente il danno motorio (Motricity Index) dopo uIRT: l'accuratezza nei movimenti di adduzione e rotazione interna della spalla è stato trovato come principale fattore predittivo del Motricity Index degli arti superiori post-trattamento. I parametri cinematici post-trattamento dalle direzioni di movimento più difficili da eseguire dipendevano in modo significativo dalla capacità di eseguire flessione-estensione e abduzione del gomito e movimenti di rotazione della spalla alla baseline. In

conclusione, l'analisi multidirezionale dei dati cinematici misurati dal robot è in grado di predire il recupero motorio nei sopravvissuti a ictus subacuto e apre la strada all'identificazione di soggetti chi può beneficiare maggiormente della uIRT.

STUDIO 2: In letteratura sono stati proposti diversi strumenti per indagare in modo ristretto e ripetitivo i comportamenti (RRB) in soggetti con Disturbo dello Spettro Autistico (ASD). Video osservazioni sistematiche possono superare i limiti di questionari e interviste per indagare i RRB. Questo studio ha analizzato modelli stereotipati attraverso registrazioni video e per determinare una correlazione tra il numero e l'aspetto degli RRB e la gravità dell'ASD. Venti soggetti del personale sanitario hanno indossato una body webcam che ha registrato 780 RRB specifici durante le attività quotidiane di 67 individui con ASD per tre mesi. Ogni stereotipia è stata classificata in base alla sua complessità di pattern (semplice o complesso) basata sulle parti del corpo e sui canali sensoriali coinvolti.

Lo spettro RRB per ciascun soggetto variava da uno a 33 modelli diversi. Gli individui con un numero inferiore di stereotipi hanno mostrato una gravità di ASD inferiore rispetto ai soggetti con un numero maggiore di stereotipie. Non sono state osservate differenze significative tra individui che esibiscono schemi semplici (n = 40) e complessi (n = 27) di stereotipi sulla gravità dell'ASD, età, sesso e numero di stereotipi. Conclusioni: Questo studio rappresenta il primo tentativo di documentare sistematicamente i modelli di espressione degli RRB con un approccio basato sui dati e può fornire una migliore comprensione della fisiopatologia e della gestione degli RRB.

Analisi del trattamento logopedico classico per la disartria ipocinetica nella Malattia di Parkinson con comparazione di valutazioni cliniche soggettive e strumentali mediante dispositivo IOPI

Nella classificazione delle disartrie, i problemi di voce ed eloquio nella Malattia di Parkinson (MP) vengono definiti "Disartria ipocinetica" (Darley et al. 1969) e si caratterizzano per: riduzione dell'intensità vocale (ipofonia); qualità di voce soffiata, rauca e aspra; imprecisione articolatoria a causa del ridotto range di movimenti articolatori che tendono a decadere o accelerare verso la fine della frase; monotono; eloquio affrettato, disfluente o esitante. Oltre a queste caratteristiche si possono rilevare anche palilalia e balbuzie. Queste caratteristiche unitamente ad amimia (facies a maschera) contribuiscono a limitare la comunicazione della maggior parte dei pazienti con MP (Saper 2011), con effetti significativi in ambito psicologico, sociale e lavorativo. L'alterazione della comunicazione è considerata dai pazienti e dai loro familiari uno dei problemi più rilevanti della malattia (Miller 2006). Nei primi anni '90 è stato sviluppato lo IOPI (Iowa Oral Performance Instrument) per esaminare le relazioni tra la forza, la resistenza della lingua, delle labbra e il controllo motorio dello speech.

Lo IOPI è un dispositivo portatile, palmare che misura la pressione massima che un paziente può produrre in un sensore linguale IOPI premendo il bulbo contro il palato con la lingua. La pressione di picco è una misura della forza, espressa in unità di pressione, il chilo Pascal (kPa). Lo strumento contiene una funzione peak-hold (picco massimo – picco minimo) e un timer ed è così composto: linguetta di plastica flessibile piena d'aria (di circa 3,5 centimetri lunghezza e 4.5 cm di diametro con un volume interno approssimativo di 2,8 ml) collegata tramite un tubo di plastica di 11,5 cm di lunghezza a un sensore linguale monouso sul quale si esercita la pressione di picco [in kiloPascal (kPa)]. I ricercatori hanno utilizzato questo dispositivo in molti studi 43-57-63 per misurare la forza e la resistenza della lingua, in quanto i pazienti affetti da disartria presentano affaticabilità oro-motoria. La resistenza infatti è inversamente proporzionale all'affaticabilità: bassi valori di resistenza sono indicativi di elevata affaticabilità.

Attualmente è una delle tecniche di misurazione disponibili più comunemente usate per misurare in maniera oggettiva la forza e la resistenza della lingua.

Lo studio si propone di esaminare la validità del trattamento logopedico classico per la disartria con l'obiettivo di migliorare la qualità della vita dei pazienti afflitti da MP, comparando valutazioni cliniche soggettive con misure strumentali oggettive (IOPI).

Lo studio si prefigge di:

- Osservare eventuali modificazioni cliniche e strumentali (attraverso l'uso del dispositivo IOPI) nel gruppo che esegue una rieducazione logopedica classica.
- Dimostrare con dati oggettivi che il training riabilitativo logopedico porta a benefici funzionali a livello pneumofonoarticolatorio.
- Fornire al paziente l'opportunità di osservare i risultati del proprio lavoro e dei propri sforzi per essere sempre maggiormente stimolato e motivato durante la riabilitazione.
- Valutare la forza della lingua e delle labbra con il dispositivo IOPI pre- e post- trattamento logopedico classico per la disartria.
- Valutare la resistenza della lingua e delle labbra con il dispositivo IOPI pre e post trattamento logopedico classico per la disartria.
- Migliorare la prosodia e aumentare l'intelligibilità dello speech.
- Migliorare il livello di comunicazione del paziente.
- Migliorare l'intenzionalità comunicativa del paziente.
- Migliorare la qualità di vita dei pazienti.

Coerentemente con l'ipotesi dello studio è atteso un miglioramento in termini di incremento della forza e della resistenza linguale e buccale (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.

Il reclutamento è concluso e si procede alla stesura finale del paper per un totale di 30 pazienti affetti da malattia di Parkinson afferenti al Day Hospital neuromotorio dell'IRCCS San Raffaele Pisana.

L'elaborazione dei risultati ha 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 dai dati, come sperato e ipotizzato, 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 la malattia di Parkinson.

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 (NCDs, malattie non trasmissibili). Tra queste patologie, la Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva – BPCO - rappresenta l'entità nosologica più frequente, che si stima arriverà ad essere entro il 2030 la seconda causa di morte nel mondo, dopo cardiopatia e ictus [European Lung Foundation, 2012].

La BPCO è una malattia respiratoria progressiva, non completamente reversibile e altamente invalidante che compromette la qualità di vita dei soggetti che ne sono affetti [Vermeire, 2002]. Provoca una persistente ostruzione delle vie aeree e i sintomi respiratori più comuni comprendono la dispnea, la tosse e/o la produzione di espettorato. Tale condizione rende difficile la respirazione ed è dovuta alla somma degli insulti che si verificano nei polmoni nel corso degli anni, principalmente a causa del fumo di sigaretta. Tende ad essere progressiva e si associa ad una 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/>].

Una 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 che lo stato mentale può influire sulla gravità di una malattia fisica in un dato momento, è stato riportato che la BPCO è una sorta di malattia "somatopsichica" [Chen et al., 2015].

"Il sintomo non è mai una entità fenomenica unica, ma l'effetto finale, non standardizzato, di un convergere di molteplici azioni e reazioni. Indica un'alterazione della normale sensazione di sé e del proprio corpo in relazione ad uno stato patologico, riferito dal paziente. Si differenzia dal segno che è invece un reperto obiettivo patologico riconosciuto dal medico all'esame obiettivo del paziente stesso. La malattia è sempre un linguaggio dell'uomo totale, una parola che vuole essere capita. Non esiste la malattia, ma "l'uomo malato" [Antonio Meneghetti, 2008].

Un intervento psicologico, basato sia sul supporto psicologico ed emotivo sia sulla psicoeducazione, potrebbe rivelarsi una chiave importante nel processo di promozione della qualità di vita di tali pazienti, aiutandoli a sviluppare una maggiore percezione, responsabilizzazione e consapevolezza del proprio stato di salute, nell'ambito di una malattia cronica complessa, quale è la BPCO. Inoltre tale intervento potrebbe risultare efficace nel mantenere la capacità funzionale di tali pazienti dopo il percorso di Riabilitazione Respiratoria.

Il punto di vista del paziente, attraverso le sue percezioni, credenze, emozioni, esperienze di vita quotidiana, è un nuovo parametro, che si affianca agli indicatori medico/clinici nella valutazione dell'esito di trattamenti, o di cambiamenti nello stato di salute e si rivela tanto più importante quanto più la pratica medica ed epidemiologica si trova di fronte a quadri clinici complessi, spesso composti da più patologie ad andamento cronico.

In accordo con un approccio multidisciplinare e personalizzato al paziente, obiettivo primario del presente studio è di valutare gli effetti di un intervento psicologico, condotto mediante colloqui clinici vis à vis e telefonici, su pazienti affetti da BPCO, volto al miglioramento del benessere e della qualità di vita di tali pazienti.

Inoltre tale intervento potrebbe risultare efficace nel mantenere la capacità funzionale di tali pazienti dopo il percorso di Riabilitazione Respiratoria (obiettivo secondario).

In accordo con un approccio multidisciplinare e personalizzato al paziente, obiettivo primario del presente studio è di valutare gli effetti di un intervento psicologico, condotto mediante colloqui clinici vis à vis e telefonici, su pazienti affetti da BPCO, volto al miglioramento del benessere e della qualità di vita di tali pazienti.

Inoltre tale intervento potrebbe risultare efficace nel mantenere la capacità funzionale di tali pazienti dopo il percorso di Riabilitazione Respiratoria (obiettivo secondario).

Seguendo tale approccio, ci si attende di poter determinare:

1. 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).

2. Mantenimento della capacità funzionale e respiratoria, valutato mediante i seguenti: il test del cammino (Six Minute Walking Test); The Medical Research Council; The Borg scale; The Barthel scale.

3. Cambiamento dello stato psicologico e dell'uso delle strategie di coping del paziente, valutati mediante i seguenti test: 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 di medicina personalizzata. Un intervento psicologico focalizzato sul supporto psicologico e sulla psicoeducazione nei pazienti con BPCO è una possibile chiave per migliorare la loro QdV, per alleviare l'ansia-depressione e per portare questi soggetti a mostrare una maggiore consapevolezza del loro stato di salute. Il miglioramento della QdV e dello stato psicologico è chiaramente significativo, dal momento che gli interventi che migliorano la gestione del proprio stato emotivo nei pazienti con BPCO sono correlati ad un'alta assistenza sanitaria.

La popolazione in studio consiste di uomini e donne, arruolati presso l'Unità Operativa di Riabilitazione Respiratoria, dell'IRCCS San Raffaele, 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

maggior 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 previsto 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 stati 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.

I pazienti dei due gruppi sperimentali, che hanno effettuato un percorso di supporto psicologico e di psicoeducazione, hanno mostrato un cambiamento significativo in specifici settori di qualità di vita rispetto a chi non aveva usufruito del trattamento: minori limitazioni di ruolo dovute alla salute fisica (SF-36- di) di circa 4 volte miglioramento nell'espressione delle proprie emozioni (Q-Les-Q) di circa 4-5 volte minore impatto psicologico della malattia respiratoria sulla loro qualità di vita (MRF-26) di circa 4 volte, percepita come meno invalidante seppur accettandone la cronicità. È stato valutato inoltre il cambiamento dello stato psicologico e dell'uso delle strategie di coping mediante specifiche scale ampiamente riconosciute in ambito clinico e validate a livello internazionale (SCL-90-R, BDI-II, STAI-Y e Brief COPE). La sintomatologia depressiva di livello lieve/moderato presente nei pazienti facenti parte dei due gruppi sperimentali, dopo i sei mesi di trattamento, si è notevolmente ridotta, rispetto ai soggetti del gruppo di controllo che invece hanno riportato un aumento di questa. I tre gruppi comunque, mediamente, non presentavano all'inizio dello studio livelli gravi di depressione. I livelli di ansia in entrambi i gruppi sperimentali mostrano un trend positivo rispetto al gruppo di controllo (valori di STAI I-II confermati dalla scala di Ansia fobica della SCL-90). Nello specifico i pazienti trattati hanno riportato un trend di diminuzione nella modalità ansiosa abituale di risposta agli stimoli ed alle situazioni ambientali (ansia di tratto) e nella sperimentazione di sensazioni soggettive di tensione, apprensione, nervosismo, inquietudine (ansia di stato). I tre gruppi comunque, mediamente, non presentavano all'inizio dello studio livelli gravi di ansia di stato e di tratto. I pazienti appartenenti ai gruppi sperimentali hanno mostrato un cambiamento nell'utilizzo di specifiche strategie di coping, a sostegno di una maggiore attivazione delle proprie risorse personali legate all'empowerment. Entrambi i gruppi infatti hanno riportato un più frequente ricorso nei momenti di difficoltà a richiedere aiuto e supporto dagli altri (più alti livelli di Supporto strumentale) ed una maggiore tendenza ad accettare la propria condizione di vita/salute (più bassi livelli di Negazione). Collegato al coping è il concetto di empowerment, ovvero la capacità di ciascuno di praticare e rendere operative le proprie risorse, che contribuisce al percorso individuale verso il benessere. Il coping e l'empowerment sono determinati rispettivamente dalle caratteristiche interne del soggetto e dal contesto, che favoriscono entrambi l'incremento e la gestione delle risorse personali, promuovendo, così, un miglioramento della propria condizione. Grazie ad un intervento psicologico, si arriva a quello che viene definito benessere psicologico, dove l'individuo è partecipe della realtà nella quale vive.

A distanza di tre mesi dalla fine dello studio IMPROVE inoltre i due gruppi sperimentali hanno riportato valori stabili nella percezione della loro malattia (MRF-26) a dimostrazione di un minore impatto psicologico della malattia respiratoria sulla loro qualità di vita. Il gruppo di controllo, al contrario, ha riportato i valori iniziali di percezione dello stato di malattia, antecedenti la riabilitazione polmonare, indicanti un peggioramento significativo.

In letteratura è riportato che i benefici della riabilitazione polmonare a distanza di 9 mesi/1 anno si riducono significativamente in termini di qualità di vita e di metri camminati [Guell et al. 2017]. Recentemente è stato riportato la presenza di un cluster di comorbidità specifico di pazienti affetti da BPCO con età >65 anni, denominato "Psychologic", che non è presente negli anziani della stessa età senza patologia respiratoria: tale cluster si distingue per una peggiore qualità di vita e relativo stato psicologico, a parità tuttavia di sintomatologia clinica che caratterizza la BPCO. Queste osservazioni sottolineano la necessità di inquadrare dettagliatamente i pazienti con BPCO anche sotto il profilo psicologico, oltre i parametri medici clinici classici [Triest et al., 2019].

In merito a tali evidenze di letteratura, obiettivo secondario dello studio IMPROVE è stato di valutare potenziali benefici dell'intervento psicologico sulla risposta riabilitativa, in termini di capacità funzionale. È risultato che il supporto psicologico integrato con la psicoeducazione prolunga i benefici della riabilitazione: i pazienti dei due gruppi sperimentali hanno riportato un miglioramento nella tolleranza all'esercizio fisico (6MWT) guadagnando un ulteriore 15% rispetto ai metri camminati alla fine del percorso di riabilitazione effettuato presso l'IRCCS San Raffaele Roma, a differenza del gruppo di controllo che ha perso tali benefici dopo sei mesi (-15% dei metri camminati).

I risultati mostrano che un intervento psicologico, basato sull'integrazione di supporto psicologico e di psicoeducazione, rappresenta uno strumento di promozione della qualità di vita dei pazienti con BPCO, rispetto a "nessun intervento", utile nell'aiutare tali pazienti a sviluppare una maggiore percezione, responsabilizzazione e consapevolezza del proprio stato di salute ed una maggiore accettazione della cronicità della propria condizione.

Il numero limitato di pazienti, essendo uno studio pilota, raccomanda cautela nella generalizzazione dei risultati, suggerendo tuttavia di estendere tale approccio di riabilitazione integrata ad una popolazione più ampia di pazienti.

Studi futuri dovrebbero quindi affrontare insieme, nella loro complessità, i seguenti fattori: gli eventi avversi, la qualità di vita, l'entità della dispnea, la tolleranza all'esercizio fisico, le possibili riacutizzazioni, l'aderenza alle terapie, la partecipazione e i costi benefici per il sistema sanitario nazionale

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 [http://www.salute.gov.it/portale/temi/p2_6.jsp?id=1603&area=gard&menu=vuoto]. 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 [http://www.salute.gov.it/portale/temi/p2_6.jsp?id=1603&area=gard&menu=vuoto].

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 [Broe GA, Jorm AF, Creasey H, et al. Impact of chronic systemic and neurological disorders on disability, depression, and life satisfaction. *Int J Geriatr Psychiatry* 1998; 13: 667–673; Laurin C, Lavoie KM, Bacon SL, et al. Sex Differences in the Prevalence of Psychiatric Disorders and Psychological Distress in Patients With COPD. *Chest* 2007; 132: 148-155].

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 [Laurin C, Lavoie KM, Bacon SL, et al. Sex Differences in the Prevalence of Psychiatric Disorders and Psychological Distress in Patients With COPD. *Chest* 2007; 132: 148-155]. 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 [Felce D, Perry J. Quality of life: its definition and measurement. Res Dev Disabil 1995; 16:51-74. Sprangers MA, Schwartz CE. Integrating response shift into health-related quality of life research: a theoretical model. Soc Sci Med 1999; 48:1507-15].

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 [Colombo et al. Approccio palliativo nella Insufficienza respiratoria cronica avanzata, Centro Universitario Interdipartimentale per le cure palliative, su <http://www.fondazione.luvi.org/centrouniversitario/wp-content/uploads/2014/01/Gruppo-di-lavoro-insuff-cronica-avanzata.pdf>].

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:

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 vista l'esperienza e la collaborazione tra le due unità di Riabilitazione Respiratoria e di Epidemiologia Clinica e Molecolare .

Si prevede un'estensione di questo approccio ad altre malattie croniche (neuro)degenerative nel corso dei 36 mesi.

Expected Outcomes

1. Miglioramento nel Management dei percorsi riabilitativi dei pazienti con malattie respiratorie in una prospettiva di Real Word Evidence.
2. Individuazione di dati QoL per la costruzione di profili di aderenza terapeutica e riabilitativa dei pazienti.
3. 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 [M. Robin Di Matteo. Social support and Patient Adherence to medical treatment: A meta- analysis. Health Psychology 2004, Vol 23 no 2 207-218; Lamouroux A. Magnan A. Vervloet D. Compliance therapeutic observance and therapeutic adherence:" what do wes speak about." Rev Mal RESP 2005; 22:31-4].

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 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.

1. 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) 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. I dati sono riportati nelle tabelle 1,2,3, 4.

Table 1 Sociodemographic and clinical characteristics of the study population (N = 70), stratified according to FKBP5rs4713916 genotype (GG or GA).

Characteristics	GG (N = 57)	GA (N = 13)	P-value
Sex			n.s.
Male	40.35%	53.85%	
Female	59.65%	46.15%	
Age	72.66 ± 8.6	74.76 ± 6.4	n.s.
Education (years)	9.21 ± 4.3	7.0 ± 2.3	n.s.
Marital status			n.s.
Married/with partner	50%	61.54%	
Widower	35.09%	15.38%	
Unmarried	3.51%	7.69%	
Separated/divorced	12.28%	15.38%	
Smoking habit			n.s.
Current smoker	16.33%	15.38%	
Exsmoker	73.47%	76.92%	
Nonsmoker	10.20%	7.69%	
Living situation			n.s.
Caregiver presence	73.69%	76.92%	
None	26.32%	23.08%	
Current occupation			n.s.
Employed	18.74%	0	
Housewife	10.42%	23.08%	
Retired	70.83%	76.92%	
LTOT	33.3%	30.77%	n.s.
ICS therapy	100%	100%	n.s.
BMI	27.95 ± 8.5	28.83 ± 9.5	n.s.
CIRS			n.s.
Severity	1.614 ± 0.242	1.531 ± 0.192	
Comorbidity	2.449 ± 1.444	2.889 ± 1.054	
Number x patients	3.593 ± 1.807	3.100 ± 1.595	n.s.
Comorbidity condition			
Circulatory system diseases (ICD-9-CM 390-459)	44 (77.2%)	10 (76.9%)	n.s.
Endocrine, nutritional, metabolic, and immunity disorders (240-279)	24 (42.1%)	6 (38.5%)	n.s.
Genitourinary system diseases (580-629)	7 (12.3%)	2 (15.4%)	n.s.
Neoplasms	3 (5.3%)	1 (7.7%)	n.s.
Drugs for neurological diseases			
Anti-anxiety, antidepressant, antipsychotic, hypnotic –sedative	19 (33.33 %)	4 (30.71%)	n.s.
Antiepileptic	4 (7.02%)	1 (7.69%)	n.s.
Anti-Parkinson	1 (1.75%)	0	n.s.
Analgesic	2 (3.51%)	0	n.s.
Anti-dizziness	1 (1.75%)	0	n.s.
No SNC drugs	30 (52.63%)	8 (61.54%)	n.s.

Table 2 Cognitive characteristics of the study population (N = 70), stratified according to FKBP5 rs4713916 genotype (GG, GA)

Characteristics	GG (N = 57)	GA (N = 13)	p
MMSE	25.81 ± 2.37	26.32 ± 3.36	0.1246 ^a
Adjusted scores			
Score range	0	0	0.082 ^b
30	48	10	
23.9–30	(84.2%)	(76.9%)	
≤23.8	9 (15.4%)	3 (23.1%)	
MoCA ^c			
Adjusted scores	22.77 ± 4.45	26.34 ± 3.57	0.0094 ^a
ES = 0 (0 → 17.362)	9 (17.4%)	0	0.0361 ^b
ES = 1 (17.363 → 19.500)	6 (11.5%)	1 (7.7%)	
ES = 2 (19.501 → 21.562)	4 (7.7%)	0	
ES = 3 (21.563 → 23.361)	14 (26.9%)	1 (7.7%)	
ES = 4 (>23.361)	19 (36.5%)	11 (84.6%)	
ROCF ^c			
Direct copy	26.97 ± 6.79	28.56 ± 10.58	0.124 ^a
ES = 0 (≤28.87)	28 (53.8%)	3 (25%)	0.0055 ^b
ES = 1 (28.88 → 30.04)	7 (13.5%)	0	
ES = 2 (30.05 → 31.21)	1 (1.9%)	3 (25%)	
ES = 3 (31.22 → 32.40)	0	0	
ES = 4 (≥32.41)	16 (30.8%)	6 (50%)	
Delayed copy	13.32 ± 5.77	12.75 ± 7.0	0.134 ^a
ES = 0 (≤9.46)	11 (21.2%)	4 (33.3%)	0.092 ^b
ES = 1 (9.47 → 11.22)	7 (13.5%)	0	
ES = 2 (11.23 → 12.98)	7 (13.5%)	4 (33.3%)	
ES = 3 (12.99 → 14.73)	7 (13.5%)	0	
ES = 4 (≥14.74)	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).

MMSE, Mini-Mental State Examination; ROCF, Rey-Osterrieth complex figure test.

^aUnpaired T-Test.

^bAnalysis of contingency table: chi-square.

^c5 GG carriers refused the MoCA and ROCF questionnaires; 1 GA carrier refused the ROCF questionnaire.

Table 3 Psychological and quality of life parameters of the study population (N = 70), stratified according to FKBP5 rs4713916 genotype (GG, GA)

Characteristics	GG (N = 57)	GA (N = 13)	P ^a
BDI-II	15.12 ± 8.16	5.80 ± 2.17	0.0054
CES-D	12.50 ± 10.07	4.73 ± 6.65	0.0046
Depressive affect	3.10 ± 4.62	0.64 ± 1.57	0.0231
Well-being	4.21 ± 2.77	2.64 ± 2.80	0.0842
Somatic	5.00 ± 4.31	1.45 ± 2.77	0.0043
Inter-personal	0.19 ± 0.57	0.0 ± 0.0	0.0922
SAS	29.50 ± 8.46	22.55 ± 2.25	0.0017
Affective symptoms	7.27 ± 2.15	5.67 ± 1.12	0.0104
Well-being	9.77 ± 3.35	7.00 ± 1.94	0.0111
Somatic symptoms	22.50 ± 6.84	17.00 ± 1.77	0.0062
SF-36			
General health	73.21 ± 12.49	74.42 ± 7.42	0.084
Mental health	61.64 ± 8.79	67.67 ± 9.26	0.0455
Brief COPE ^b			
Denial	3.682 ± 1.567	4.877	0.018
Positive reframing	4.659 ± 1.916	5.750 ± 1.165	0.0798
Self-distraction	4.886 ± 1.660	6.625 ± 0.916	0.007
Use of emotional support	4.273 ± 1.453	5.250 ± 0.886	0.05

Data are expressed as mean ± SD.

^aNon-parametric Mann-Whitney test.

^bKruskal-Wallis test.

Data are expressed as mean ± SD.

Table 4 Quality of life characteristics and degree of dependence of the study population ($N = 70$), stratified according to *FKBP5* rs4713916 genotype (GG, GA), before and after the respiratory rehabilitation

Characteristics	GG ($N = 57$)			GA ($N = 13$)		
	Before PR	After PR		Before PR	After PR	
MRF-26	71.84 ± 1	52.23 ± 18.9	-19.60 ± 22.3	71.79 ± 13.6	45.73 ± 18.6	-26.07 ± 13.01
Total score	6.43	4	2	0	8	-32.48 ± 14.28
Daily activities	76.05 ± 20.63	56.33 ± 20.68	-19.73 ± 25.72	78.63 ± 18.75	46.15 ± 19.23	-19.66 ± 15.44
Disability perceived	67.87 ± 15.78	47.39 ± 21.12	-20.47 ± 24.52	64.96 ± 16.95	45.30 ± 20.51	
ADL	5.15 ± 1.72	5.21 ± 1.45	0.06 ± 2.0	5.15 ± 1.72	5.61 ± 0.96	-0.46 ± 0.88
Degree of dependence**						
None	65.95%	75%		75%	77.78%	
1	2.13%	0		0	0	
2-3	10.64%	14.28%		8.33%	22.22%	
>3	21.28%	10.72%		16.67%	0	
IADL	5.04 ± 2.64	5.97 ± 2.54	0.93 ± 1.02	5.82 ± 1.47	5.88 ± 1.96	0.06 ± 0.18
Degree of dependence ***	36.17%	57.14%		45.45%	50.0%	
None						
1	17.02%	17.87%		18.18%	12.5%	
2-4	29.79%	10.71%		36.37%	37.5%	
>4	17.02%	14.28%		0	0	

Data are expressed as mean ± SD or in percentage.

ADL, activities of daily living; IADL, instrumental activities of daily living; PR, pulmonary rehabilitation.

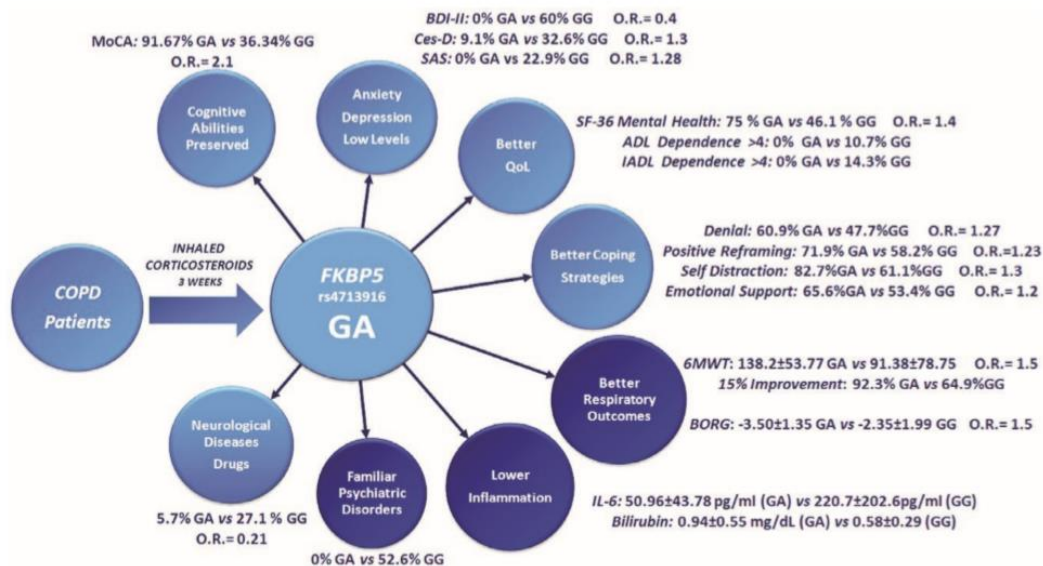
* $P = 0.0455$.

** $P < 0.001$ between 'before PR' and 'after PR' in GA patients.

*** $P = 0.0025$ between 'before PR' and 'after PR' in G/G patients; $P = 0.003$ at basal level between GG and GA patients; $P < 0.001$ after rehabilitation between GG and GA.

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.

Fig. 1



Schematic representation of the influence of the GA genotype on clinical, cognitive, and psychological features of COPD patients undergoing pulmonary rehabilitation. Previously published data (Russo et al., 2019b) are reported in darker color. COPD, chronic obstructive pulmonary disease.

IRG

AREA DI RICERCA CEFALEA E DOLORE NEUROPATICO

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

La metodica denominata Mindfulness-Based Stress Reduction (MBSR) è stata inclusa come trattamento non-farmacologico per la riabilitazione del dolore cronico negli ultimi decenni. Il protocollo MBSR è stato ideato nel 1979 dal medico statunitense Jon Kabat-Zinn, presso l'Università del Massachusetts. La Mindfulness (letteralmente: "presenza mentale") è definibile come *"la consapevolezza che emerge se si presta attenzione in maniera intenzionale e non giudicante al dispiegarsi dell'esperienza momento dopo momento"*. Tale definizione introduce due concetti fondamentali: a) l'importanza del porre attenzione al fine di sviluppare consapevolezza e b) la dimensione del non giudizio, così invece fortemente caratterizzante l'esperienza umana. Da qualche tempo l'interesse dei ricercatori si è volto a sperimentare la MBSR anche nel campo dell'emicrania e della cefalea di tipo tensivo come approccio terapeutico alternativo o complementare. Il razionale è quello di aumentare la consapevolezza del dolore da parte del paziente cefalalgico, migliorando la capacità di gestione dell'attacco prima di ricorrere al farmaco. Inoltre, essendo lo stress psicosociale il principale fattore scatenante l'emicrania, la provata efficacia del protocollo MBSR nella riduzione dello stress potrebbe permettere di ridurre numero e/o intensità e/o durata degli attacchi. I risultati sembrano essere molto promettenti, specie nelle forme croniche ed in presenza di iperuso di analgesici. Nella cefalea di tipo tensivo cronica, la MBSR si è dimostrata in grado di ridurre significativamente la frequenza dei giorni di cefalea ($p = 0.016$) e di migliorare l'intensità del dolore e la sua consapevolezza ($p < 0.001$). Nell'emicrania cronica, la MBSR ha evidenziato una significativa riduzione della percezione dell'intensità del dolore ($p \leq 0.001$) ed il miglioramento significativo nelle scale di valutazione di benessere fisico, funzionamento sociale e dolore fisico

($p < 0.05$). Un recente studio italiano condotto su 50 emicranici cronici ha evidenziato una sostanziale sovrapposibilità dell'outcome clinico nei trattati con MBSR rispetto a quelli trattati con terapia farmacologica di profilassi. Alle medesime conclusioni è giunto un ulteriore studio su 51 pazienti cefalalgici, comprensivo però di soggetti affetti da emicrania, cefalea tensiva e cefalea grappolo. L'impiego della MBSR si è inoltre dimostrato efficace anche in gruppo di 20 adolescenti affetti da emicrania. Nei soggetti trattati si è osservato un miglioramento della qualità della vita e del benessere fisico, riduzione dei sintomi depressivi ed incremento della capacità di accettazione del dolore.

Obiettivo primario del presente studio consiste nel 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 comorbidità confondenti che possono inquinare la comprensione del risultato clinico. Inoltre lo studio consentirà 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.

Il progetto 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.

Il progetto prevede la randomizzazione di 100 pazienti in due bracci: 50 saranno 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 viene inoltre tenuto ad eseguire al proprio domicilio gli esercizi richiesti. Questi esercizi consistono in 30-45 minuti al giorno (6 giorni su 7 per otto settimane) di pratiche formali di meditazione di consapevolezza eseguite seguendo delle tracce audio fornite dalle guide, più delle semplici pratiche informali caratterizzate ad esempio dal compiere con attenzione, momento per momento, una serie di attività abituali, come lavarsi i denti o lavare i piatti. Man mano che il protocollo va avanti, si è incoraggiati a porre lo stesso tipo di attenzione ad eventi che accadono nel mondo esterno, ed in particolare alle situazioni che possiamo percepire come fonte di stress. Viene inoltre valutato tramite citofluorimetria lo stato del sistema immunitario dei soggetti emicranici, con particolare riferimento alle cellule T infiammatorie e regolatorie. I pazienti effettuano i seguenti prelievi seriati di campioni ematici (emocromo, glicemia, ALT, AST, gammaGT, creatinina, Na⁺, K⁺, TSH, eventuale fT4), parametri di infiammazione (IL-6, proteina C Reattiva, rapporto Neutrofili/Leucociti, rapporto Monociti/Piastre).

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. Al momento il reclutamento è stato interrotto per analizzare i primi risultati ottenuti e valutare come procedere con il reclutamento dello studio.

La metodica denominata Mindfulness-Based Stress Reduction (MBSR) è stata inclusa come trattamento non-farmacologico per la riabilitazione del dolore cronico negli ultimi decenni. È stato dimostrato che un uso combinato di farmaci e tecniche non farmacologiche migliora sensibilmente la gestione del paziente e che la risposta al trattamento farmacologico ed il mantenimento dei benefici ottenuti sono maggiori fornendo istruzioni e sostegno sull'utilizzo appropriato dei farmaci e insegnando strategie per evitare eventuali ricadute.

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 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. Il progetto prevede anche l'analisi tramite citofluorimetria dello 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. È noto infatti che il tessuto adiposo, producendo adipochine, ha un'azione di controllo delle cellule dell'immunità innata e adattativa. Individui obesi o con problemi di cattiva alimentazione hanno sistemi immunitari pronti allo sviluppo di patologie autoimmunitarie o di infiammazione cronica. L'efficacia della terapia chetogenica (KD) negli

emicranici si basa sulla sua azione a livello cerebrale nel ristabilire un corretto metabolismo neuronale garantendo un maggior supporto energetico e nel combattere la neuroinfiammazione ed i meccanismi di ossidoriduzione che si verificano durante l'attacco emicranico.

Il reclutamento è stato effettuato dal 1 Marzo 2018 al 31 Dicembre 2020. I pazienti sono stati inclusi in modo consecutivo selezionati tra quelli 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 si chiede di firmare un consenso informato allo studio e viene somministrata un'intervista semistrutturata diretta face to face per la raccolta dei dati socio epidemiologici e clinici (familiarità per emicrania, esordio del dolore, durata di malattia, localizzazione, tipo, frequenza, intensità, durata del dolore, prodromi, fenomeni d'accompagnamento, allodinia, terapia per l'attacco, farmaci di profilassi). A tutti i partecipanti è richiesta la compilazione di un diario che attesti la frequenza dei giorni di emicrania, la durata degli attacchi e l'eventuale consumo di analgesici. In tutte le visite dello studio (tranne le visite telefoniche), oltre alla rilevazione di parametri quali misurazione pressoria, peso, altezza, circonferenza vita, verranno 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 seguirà 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 segue un regime dietetico a basso indice glicemico, senza assunzione di pasti sostitutivi. Al termine delle 12 settimane dei due regimi dietetici, tutti i pazienti proseguiranno con una dieta a basso indice glicemico per ulteriori 12 settimane. Durante lo studio vengono eseguiti ai pazienti prelievi seriati di campioni ematici per esami di laboratorio (emocromo, glicemia, ALT, AST, gammaGT, creatinina, Na⁺, K⁺, TSH, eventuale fT₄), parametri di infiammazione (IL-6, proteina C Reattiva, rapporto Neutrofili/Leucociti, rapporto Monociti/Piastri) ed immunofenotipo.

L'arruolamento dei soggetti è iniziato nel Marzo 2020 ed è stato chiuso il 31 Dicembre 2021.

Sono stati arruolati nello studio 59 pazienti, di cui 3 maschi e 56 donne. 30 pazienti sono stati arruolati in dieta chetogenica e 29 in regime dietetico standard. 18 sono usciti dallo studio e 41 lo hanno completato. Il protocollo è stato chiuso ed attualmente è in corso l'analisi dei dati.

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

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 HFEM di attacchi (≥ 8 al mese). La 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, affliggono 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. La disponibilità degli anticorpi monoclonali diretti contro la molecola del CGRP (fremanezumab, galcanezumab) ha modificato l'approccio terapeutico dell'emicrania. 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. Valutazione dell'impatto di erenumab come trattamento di prevenzione dell'emicrania in soggetti adulti che hanno presentano ≥ 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: 1. 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: 2. 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: 3. 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: 4. 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). - 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, 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, 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, Roma
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 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 PARKINSON E DISTURBI DEL MOVIMENTO

Applicazione clinica di nuove strategie terapeutiche per la cura di pazienti con malattia di Parkinson: 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 (MdP). 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 continua a condurre numerose sperimentazioni farmacologiche che si possono sintetizzare in tre direzioni:

1. Studiare nuove formulazioni di molecole già consolidate nel trattamento dei sintomi della malattia;
2. Migliorare l'utilizzo di farmaci già utilizzati correntemente alla luce delle maggiori conoscenze acquisite;
3. Validare sicurezza, tollerabilità ed efficacia di nuove molecole, che si inseriscono sia nell'obiettivo di rallentare/bloccare il decorso della malattia (anticorpi monoclonali in testa) sia nel migliorare i sintomi della malattia già in corso (discinesie, blocchi, disturbi cognitivi, sintomi non motori, ecc).

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 ci sono la progressiva riduzione dei recettori dopaminergici, causata dalla progressione della malattia, e la prolungata terapia con levodopa. È dunque cruciale comprendere l'importanza del modo di somministrare i farmaci antiparkinsoniani per prevenire lo sviluppo delle complicazioni motorie e per superare il sopraggiungere di OFF improvvisi. 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). Nel corso di quest'anno sono proseguiti gli studi sulla somministrazione di levodopa in infusione continua sottocutanea, la valutazione di terapie che potenziano l'efficacia della Levodopa agendo su altri sistemi neuro-trasmittoriali o sul catabolismo enzimatico, l'utilizzo di "rescue therapy" in nuove formulazioni (apomorfina sub-linguale) per il superamento di OFF resistenti.

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:

1. Studio multicentrico, internazionale, in aperto, volto a valutare la sicurezza di ND0612, una soluzione di levodopa/carbidopa somministrata tramite un sistema di infusione sottocutanea continua a pompa, in soggetti affetti da morbo di Parkinson in fase avanzata (BeyoND)

L'infusione continua sottocutanea di levodopa/carbidopa con ND0612 è in fase di sviluppo come trattamento per i pazienti con MdP e fluttuazioni motorie. Abbiamo valutato i dati di safety a 1 anno dello studio multicentrico a cui il nostro IRCSS ha partecipato.

Variable	24 h/d regimen (N = 90)	16 h/d regimen (N = 124)	Total (N = 214)
Age (year); mean \pm SD	64.2 \pm 8.9	63.9 \pm 8.9	64.0 \pm 8.9
<65 y	43 (47.8)	63 (50.8)	106 (49.5)
\geq 65 y	47 (52.2)	61 (49.2)	108 (50.5)
Sex (female/male); n (%)	32 (35.6)/58 (64.4)	40 (32.3)/84 (67.7)	72 (33.6)/142 (66.4)
Ethnicity; n (%)			
Caucasian	86 (95.6)	116 (93.5)	202 (94.4)
Other	4 (4.4)	8 (6.5)	12 (5.6)
BMI (kg/m ²); mean \pm SD	27.0 \pm 5.5	27.2 \pm 5.9	27.1 \pm 5.7
<20	11 (12.2)	11 (8.9)	22 (10.3)
\geq 20	79 (87.8)	113 (91.1)	192 (89.7)
Modified Hoehn & Yahr; n (%)			
<2	4 (4.4)	5 (4.0)	9 (4.2)
2	37 (41.1)	52 (41.9)	89 (41.6)
2.5	17 (18.9)	32 (25.8)	49 (22.9)
3	32 (35.6)	35 (28.2)	67 (31.3)
MMSE total score; mean \pm SD	28.8 \pm 1.2	28.8 \pm 1.2	28.8 \pm 1.2
Time since PD diagnosis (y); mean \pm SD	10.6 \pm 5.3	7.9 \pm 3.8	9.0 \pm 4.7
Time since onset of fluctuations (y); mean \pm SD	5.3 \pm 4.3	5.2 \pm 4.2	5.3 \pm 4.2
Total daily levodopa; mean \pm SD			
Dose (mg)	1090 \pm 623	1004 \pm 540	1040 \pm 577
Frequency	5.9 \pm 2.2	5.1 \pm 1.7	5.5 \pm 2.0
Concomitant medications; n (%)			
Dopamine agonists	52 (57.8)	58 (46.8)	110 (51.4)
MAO-B inhibitors	37 (41.1)	44 (35.5)	81 (37.9)
COMT inhibitors	28 (22.6)	24 (26.7)	52 (24.3)
Amantadine	25 (27.8)	30 (24.2)	55 (25.7)

Abbreviations: h, hour; d, day; y, year; SD, standard deviation; BMI, body mass index; MMSE, Mini-Mental State Examination; PD, Parkinson's disease; MAO-B, monoamine oxidase B; COMT, catechol-O-methyltransferase.

Dei 214 pazienti arruolati (infusione SC di 24 ore: n = 90; infusione SC di 16 ore: n = 124), 120 (56%) hanno completato 12 mesi di trattamento. Le principali cause di interruzione dello studio sono state il ritiro del consenso (19,6%), eventi avversi (17,3%). Le percentuali di interruzione si sono ridotte dal 49% al 29% dopo una revisione e adattamento del protocollo. La maggior parte dei pazienti ha manifestato reazioni sul sito di infusione, in particolare noduli (30,8%) ed ematomi (25,2%), che sono stati giudicati per lo più da lievi a moderati e hanno portato all'interruzione solo nel 10,3% dei partecipanti. In conclusione, l'infusione continua sottocutanea di levodopa/carbidopa con ND0612 è generalmente sicura, con reazioni in sede di infusione per la somministrazione sottocutanea.

2. Revisione delle terapie on demand per gli episodi OFF nella malattia di Parkinson (PD)

La levodopa è la terapia più efficace per la malattia di Parkinson; tuttavia, il trattamento cronico è associato allo sviluppo di episodi di OFF, in cui vi è un ritorno delle caratteristiche parkinsoniane dopo una dose di levodopa e prima dell'inizio del beneficio dalla dose successiva. Gli episodi di OFF possono essere una delle principali fonti di disabilità per i pazienti con PD e spesso provocano depressione, apatia e riluttanza a partecipare alle attività sociali. La maggior parte delle terapie mediche e chirurgiche attualmente disponibili sono progettate per ridurre il tempo totale giornaliero di OFF, ma non forniscono una terapia "on-demand" rapida e affidabile per i singoli episodi di OFF. In effetti, le risposte alle singole dosi di levodopa durante un episodio acuto di OFF sono inaffidabili, portando spesso a risposte di ON parziale, ON ritardato o no anche in momenti diversi nello stesso paziente. Sono ora disponibili 3 terapie per il trattamento on-demand degli episodi OFF; iniezione sottocutanea di apomorfina, film di apomorfina sublinguale e levodopa per via inalatoria. La prima non ha goduto di un uso diffuso nella comunità PD, mentre le ultime 2 terapie sono state approvate solo di recente. La capacità di ridurre al minimo la disabilità associata agli episodi di OFF potrebbe limitare la necessità di introdurre terapie mediche aggiuntive e potenzialmente ritardare e persino evitare la necessità di un intervento chirurgico. Essere in grado di trattare periodi di OFF individuali potrebbe anche avere benefici a lungo termine come prolungare l'occupazione, consentire la partecipazione a sport e hobby e ridurre il rischio di cadere per frattura, soffocamento per aspirazione, ricovero

in ospedale per acuti e collocamento in una casa di cura. La capacità di trattare in modo affidabile e rapido i periodi OFF potrebbe anche aumentare la volontà dei pazienti di essere socialmente più attivi e ridurre la depressione e il ritiro sociale. La scelta della terapia su richiesta da impiegare per un particolare paziente dovrebbe essere una decisione individuale basata sull'esperienza del medico e sulle preferenze del paziente, nonché sulla facilità d'uso, sul profilo degli effetti collaterali e sulla tollerabilità per ogni singolo paziente. L'educazione e la formazione del paziente sono di fondamentale importanza per massimizzare il potenziale beneficio di queste terapie.

3. Studio in aperto per l'ottimizzazione della dose del film sublinguale di apomorfina per il trattamento di episodi "OFF" nella malattia di Parkinson

Gli episodi "OFF" possono essere seri e disabilitanti per molti pazienti con MdP, e spesso non rispondono in modo rapido o prevedibile alla somministrazione orale di levodopa dovuto in parte alla variabilità nel trasporto gastrointestinale e alla biodisponibilità. Il film sublinguale di apomorfina è stato studiato per il trattamento "on-demand" di episodi "OFF" nella malattia di Parkinson (MdP), come "rescue therapy" per evitare questi problemi e quindi può potenzialmente fornire ai pazienti un trattamento più prevedibile per gli episodi "OFF". In tutti gli studi, i pazienti devono essere sottoposti a titolazione della dose per determinare quella più efficace e tollerabile. L'obiettivo dello studio risiedeva nel valutare se dosi più elevate di quelle che normalmente sono utilizzate per ottenere una fase di ON possono produrre un miglioramento più efficace. I pazienti con MdP sono stati valutati nello stato "OFF" e la dose del film sublinguale di apomorfina è stata scelta in base al raggiungimento e alla tollerabilità di una buona risposta "ON". Dopo la somministrazione del dosaggio che ha permesso l'"ON" soddisfacente e dopo il dosaggio più alto, è stato effettuato un confronto nei punteggi della parte III della Movement Disorder Society Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS). Sono stati segnalati anche eventi avversi emergenti dal trattamento.

Trentacinque pazienti sono stati titolati a dosi di film sublinguale di apomorfina più elevate rispetto a quelli che hanno fornito una risposta iniziale "ON". È stato osservato un miglioramento medio del punteggio MDS-UPDRS Parte III rispetto alla dose iniziale di 5,6 punti ($P = 0,034$), 4,4 punti ($P = 0,009$) e 3,7 punti ($P = 0,018$) a 30, 60 e 90 minuti rispettivamente dopo la dose. Gli eventi avversi sono stati lievi o moderati e si sono risolti con la riduzione della dose senza trattamento concomitante. Conclusione: dosi più elevate di film sublinguale di apomorfina rispetto a quelle inizialmente percepite per fornire una risposta "ON" possono essere tollerate e fornire un ulteriore miglioramento della funzione motoria in molti pazienti.

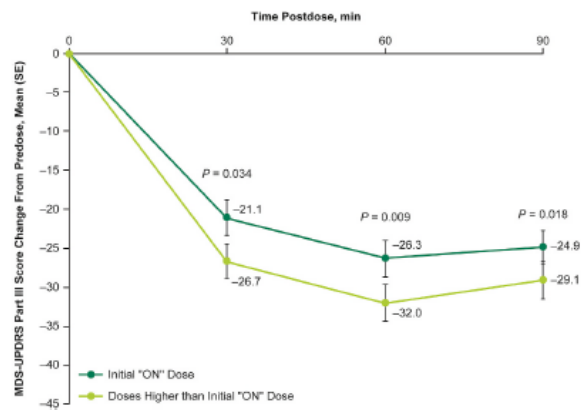


Fig. 1. MDS-UPDRS Part III score at the initial dose that provided an "ON" response and at doses higher than the initial "ON" dose (N = 35). Note: P values were derived from a within-patient paired t-test and are included for descriptive purposes only. Abbreviations: MDS-UPDRS = Movement Disorder Society Unified Parkinson's Disease Rating Scale; SE = standard error.

4. Opicapone :il suo vantaggio all'inizio delle fluttuazioni motorie indotte da levodopa nei pazienti con malattia di Parkinson: un'analisi post-hoc di BIPARK-I e -II.

L'Opicapone (OPC) si è dimostrato efficace nel ridurre il tempo di OFF in due studi cardine su pazienti con MDP e fluttuazioni motorie di fine dose (BIPARK-I e -II).

I dati dei bracci di trattamento in BIPARK-I e -II sono stati combinati in gruppi placebo (PLC) e OPC 50 mg e sono state eseguite analisi esplorative post-hoc per studiare l'efficacia di OPC 50 mg rispetto a PLC nei sottogruppi di pazienti rispetto agli anni di malattia (p. es., durata del PD <6 anni vs. ≥6 anni) e del dosaggio di levodopa (p. es., numero di assunzioni giornaliere di levodopa <4 vs. ≥4). Le variabili di efficacia includevano le modifiche rispetto al basale. Sono stati analizzati 517 pazienti (PLC, n = 255; OPC 50 mg, n = 262). OPC 50 mg si è rivelato significativamente più efficace del PLC nel ridurre il tempo di OFF e aumentare il tempo di ON nella maggior parte delle analisi dei sottogruppi (p <0,05). Inoltre, i pazienti nei primi stadi di malattia e nel con un assunzione più recente di levodopa hanno sperimentato un'efficacia maggiore quando hanno utilizzato OPC 50 mg, rispetto ai soggetti in stadio avanzato. In conclusione, OPC 50 mg è risultato un dosaggio efficace nel controllo delle fluttuazioni motorie nei pazienti con MDP ed è un ausilio importante nella terapia di questi pazienti.

5. Efficacia di un derivato erbaceo, PHGG, più ialuronato di sodio nel trattamento della costipazione cronica nei pazienti con malattia di Parkinson: uno studio pilota

La stitichezza cronica è il sintomo gastrointestinale più frequentemente riferito dai pazienti con MDP e può costituire una delle manifestazioni d'esordio della malattia.

La fibra PHGG è estratta da una pianta erbacea (Cyamopsis tetra-gonolobus, famiglia delle Leguminose) di origine indiana, che produce dei baccelli contenenti 5/9 semi dai quali si ricava la famosa gomma di guar, che è un polisaccaride naturale. Per il suo alto contenuto di galatomannano si differenzia da fibre ricavate da altre specie vegetali. La gomma di guar (indicata come GG) è classificata nella lista europea degli additivi con la sigla E 412. Recentemente è stata perfezionata una gomma di guar parzialmente idrolizzata, indicata con la sigla PHGG che, a differenza dell'originale e di altre fibre (es. Psillium) rimane sempre liquida e, grazie al suo basso peso molecolare, non gelifica. L'introduzione di molecole d'acqua (idrolisi), mediante un enzima chiamato Mannanasi, riduce la lunghezza e il peso molecolare della gomma di guar e la rende una fibra dalla proprietà uniche: rimanendo liquida, infatti, non

provoca gonfiore, flatulenza e meteorismo, tipici inconvenienti delle altre fibre. L'associazione con ialuronato di sodio a basso peso molecolare depolimerizza rapidamente richiamando acqua e amplificando l'effetto clinico desiderato. Lo scopo di questo studio pilota, esplorativo, è quello di confermare e quantificare l'efficacia di questa preparazione nei pazienti con MP (Stick pack 30 ml contenente: PHGG 5 gr e Acido ialuronico 100/200 mg).

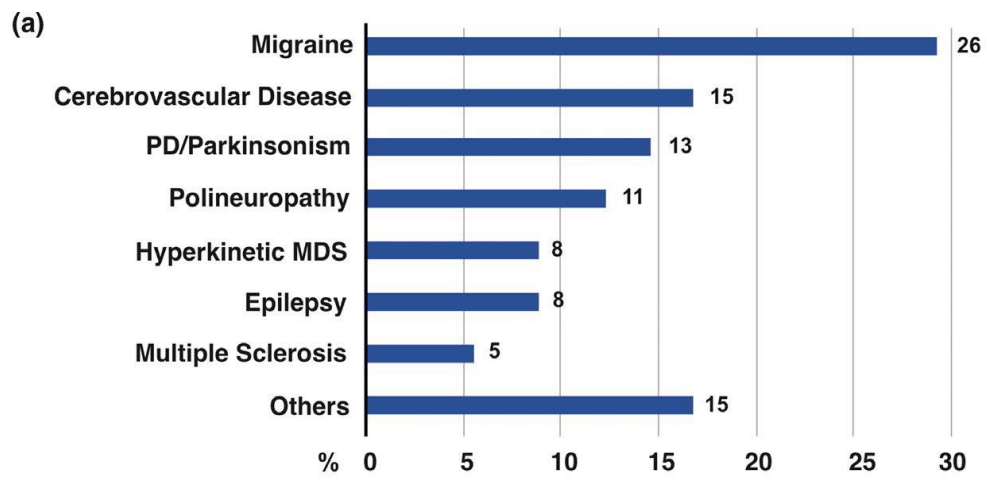
Trentaquattro pazienti con PD sono stati reclutati nello studio pilota in aperto. PHGG+ ha dimostrato di avere un effetto minimo ma significativo nel miglioramento della stitichezza misurato dalle scale PAC Symp e CGI-S. PHGG+, risulta essere sicuro e ben tollerato. I dati suggeriscono che PHGG+ può essere considerato efficace nell'alleviare i sintomi della stitichezza nei pazienti con MDP.

Studio sulle alterazioni posturali nei pazienti con Malattia di Parkinson: incidenza, tipologia e management.

I disturbi dell'andatura e della postura sono una caratteristica fondamentale e una delle principali fonti di disabilità e scarsa qualità della vita in molte condizioni neurologiche croniche. La International Classification of Functioning, Disability and Health suggerisce che i disturbi dell'andatura e le alterazioni posturali possano essere una manifestazione importante dei disturbi motori funzionali (FMD), che rappresentano dal 2-20% dei pazienti che fanno riferimento agli ambulatori per disturbi del movimento. La fenomenologia dei disturbi dell'andatura funzionali (FGDs) comprendono una varietà di alterazioni (cioè, andatura lenta, flessione del ginocchio) che possono apparire isolatamente o in combinazione con altri FMD come tremore, debolezza e parkinsonismo. La diagnosi di FGD è difficile ed è associata a un minore accordo diagnostico tra i neurologi.

Lo scopo dello studio era di descrivere la prevalenza e le caratteristiche clinico-demografiche di pazienti con disturbi funzionali dell'andatura (FGD) e di confrontarli con pazienti con disturbi motori funzionali (FMD) senza FGD (No-FGDs).

Si tratta di uno studio osservazionale multicentrico; sono stati arruolati pazienti in 25 centri per i disturbi del movimento incluso l'IRCCS San Raffaele Pisana. Ogni soggetto è stato sottoposto a una valutazione clinica completa, con valutazione e screening dei diversi sottotipi di disturbi dell'andatura funzionale. I risultati dello studio effettuati su 410 FMD, hanno rilevato che il 26,6% (n = 109) dei pazienti ha mostrato FGD. Le FGD più frequenti sono state l'andatura lenta (n = 43, 39,4%), l'astasia-abasia (n = 26, 23,8%) e l'instabilità del ginocchio (n = 24, 22%). I FGD singoli sono stati riscontrati nel 51,4% (n = 56) e FGD complessi (più di un tipo di FGD) nel 48,6% (n = 53) dei casi. All'analisi di regressione multivariata, la presenza di FGD era più probabilmente associata all'età avanzata (OR 1,03, IC 95% 1,01-1,04), sintomi visivi funzionali (OR 2,19, IC 95% 1,08-4,45) e alla diagnosi di disturbo da sintomi somatici (OR 2,97, IC 95% 1,08-8,17). Gli FGD avevano anche maggiori probabilità di sottoporsi a fisioterapia (OR 1,81, IC 95% 1,08-3,03). In conclusione le persone con diagnosi di disturbi motori funzionali possono presentarsi con FGD, che possono verificarsi in età avanzata.



Frequenza assoluta (e percentuale) di pazienti con disturbi motori funzionali (FMD) con una o più malattie neurologiche

AREA DI RICERCA RIABILITAZIONE CARDIOVASCOLARE, TELEMEDICINA, E-HEALTH

Effetti di due programmi di training combinato (aerobico continuo + forza versus interval training + forza) sulla pressione arteriosa e sulla variabilità a breve termine della pressione arteriosa di pazienti con ipertensione arteriosa

L'esercizio fisico è un intervento non farmacologico efficace nella gestione dell'ipertensione arteriosa (PA); le linee guida congiunte ESH-ESC, raccomandano il training fisico con livello di evidenza IA per la prevenzione e per il trattamento dell'ipertensione. L'esercizio aerobico continuo è la modalità di training più studiata per quanto riguarda l'effetto anti-ipertensivo, ed è noto che esso determina una riduzione della PA di 5-10 mmHg. Nell'ultimo decennio, altre modalità di training sono state studiate e, fra esse, anche l'esercizio di resistenza e l'interval training si sono dimostrati in grado di ridurre la PA. L'associazione fra l'esercizio aerobico continuo ed esercizi di resistenza coinvolgenti diversi gruppi muscolari, viene definito "esercizio combinato". L'effetto anti-ipertensivo prodotto dall'esercizio combinato è stato confrontato con il non esercizio e con l'esercizio aerobico continuo: la riduzione della pressione che si osserva dopo una sessione di esercizio combinato è simile a quella prodotta da una sessione di esercizio aerobico continuo. A parità di effetto anti-ipertensivo, comunque, l'esercizio combinato può farsi preferire in determinate categorie di pazienti come gli anziani ed i diabetici in quanto la componente "resistenza" della sessione presenta uno spiccato effetto sul trofismo muscolare e potenzia gli effetti metabolici della componente aerobica. Pertanto, le linee guida raccomandano di aggiungere due sessioni/settimana di esercizi di resistenza all'attività aerobica continua.

Recentemente, alcuni autori hanno valutato l'efficacia di un particolare tipo di esercizio combinato in cui la componente aerobica non è organizzata in forma di esercizio continuo bensì in forma di interval training. L'effetto anti-ipertensivo, in acuto ed a medio-lungo termine, prodotto da un training combinato "interval-resistenza" non è noto. Non sono inoltre disponibili lavori di confronto fra training combinato "continuo" versus "interval" in cui l'endpoint primario sia l'effetto prodotto sulla pressione arteriosa. Tuttavia, sulla base di recenti lavori, la combinazione interval-forza rappresenta una attraente modalità di training. Il gruppo ha recentemente confrontato tre differenti sedute di esercizio, aerobico continuo, interval ed esercizio combinato (aerobico continuo + resistenza) in pazienti ipertesi con cardiopatia ischemica, valutando l'effetto anti-ipertensivo prodotto nelle 24/h successive alla sessione di allenamento. È stata osservata una maggiore riduzione della pressione sistolica e diastolica nelle prime 5-6 h dopo l'esercizio in favore dell'esercizio aerobico continuo e combinato, mentre l'interval determinava una maggior riduzione pressoria durante la notte ed al mattino successivo, rispetto alle altre due modalità. Si può pertanto supporre che, combinando le diverse modalità di training, si possa ottenere il migliore effetto anti-ipertensivo.

Lo studio è un trial randomizzato a tre bracci.

A- Training combinato "continuo" (TCC);

B- Training combinato "interval" (TCI).

C- Gruppo di controllo senza esercizio

Su un totale di 50 pazienti previsti per l'arruolamento, 20 pazienti sono allocati nel gruppo di esercizio "TCC"; 20 pazienti nel gruppo "TCI"; 10 pazienti nel gruppo di controllo, "no esercizio".

Il 60% dei pazienti arruolati è di genere maschile e il 40% di genere femminile.

Lo studio si sviluppa in 3 mesi, e prevede 3 fasi così articolate:

Ogni soggetto effettua 3 visite: V1 (Screening), V2 (randomizzazione), V3 (fine studio).

L'obiettivo del presente studio è pertanto, di confrontare gli effetti prodotti da 2 diverse modalità di training combinato, in acuto e dopo un periodo di 12 settimane, sulla PA di pazienti ipertesi con cardiopatia ischemica. L'ipotesi degli investigatori è che un training combinato di tipo "interval", possa determinare una più prolungata riduzione della PA nell'arco delle 24/h rispetto al training combinato "continuo". L'endpoint primario dello studio è il confronto degli effetti sulla pressione sistolica delle 24/h. Endpoints secondari saranno: cambiamenti della pressione sistolica diurna; pressione diastolica; variabilità pressoria sistolica delle 24/h, funzione atriale sinistra e funzione diastolica ventricolare sinistra, comparazione dei cambiamenti pressori tra genere maschile e femminile.

Il presente studio è concepito come uno studio pilota, pensato per verificare l'adeguatezza e la fattibilità del progetto, e per ricavare dati preliminari che permettano di determinare la grandezza del campione dello studio definitivo. La numerosità del campione pertanto sarà di 50 pazienti.

ASTREX – Confronto tra gli effetti acuti ed a 12 settimane di 2 diverse modalità di training fisico sulla funzione atriale sinistra in pazienti ipertesi

Gli effetti prodotti dall'esercizio fisico sulla struttura e la funzione dell'atrio sinistro sono ad oggi controversi. Dati derivanti da studi condotti su atleti hanno rilevato che una attività fisica intensa si può associare a dilatazione atriale, compromissione del riempimento diastolico ed aumentata suscettibilità a sviluppare tachiaritmie, fra cui la fibrillazione atriale. Il livello di compromissione della funzione degli atri esercizio-indotta sembra essere correlato al livello di intensità dell'esercizio stesso ed è maggiore fra gli atleti che praticano endurance rispetto a quelli che fanno esercizi di forza. Sanz-de la Garza et al. hanno valutato la risposta acuta degli atri, prima e dopo una attività fisica di variabile intensità, ed hanno documentato che all'aumentare del livello di intensità dell'attività aerobica aumentava il grado di compromissione della funzione degli atri; in particolare hanno osservato dapprima una riduzione della funzione di reservoir atriale (per esercizio di intensità media), quindi una compromissione della fase contrattile (per esercizio sforzi di alta intensità). In un recente studio condotto in soggetti sani, 10 mesi di intenso esercizio aerobico hanno determinato rimodellamento dell'atrio sinistro maggiore rispetto al Ventricolo sinistro. Viceversa dati ottenuti in soggetti cardiopatici sembrano indicare che l'esercizio fisico determina effetti positivi a livello atriale. Un programma di esercizio fisico della durata di 6 mesi in pazienti con pregresso infarto miocardico, nel contesto della riabilitazione cardiologica, ha determinato una riduzione volumetrica dell'atrio sinistro. E' probabile che, così come nei soggetti sani, anche nell'ambito patologico gli effetti dell'esercizio siano diversi in funzione della sua intensità, durata e modalità. Tuttavia, studi di confronto fra differenti modalità di esercizio sono scarsi e non è chiaro, ad oggi, se differenti modalità di esercizio promuovano diverse risposte nel volume e nella funzione atriale sinistra. Lo strain dell'atrio sinistro valutato attraverso la tecnica "speckle-tracking echocardiography in 2 dimensioni", è una metodica ecocardiografica, ancora poco diffusa in ambito clinico, che consente una accurata valutazione delle diverse fasi funzionali dell'atrio sinistro (reservoir, conduzione, contrazione). Lo strain dell'atrio sinistro consente una valutazione più accurata della funzione diastolica ventricolare sinistra. L'obiettivo dello studio consiste nel valutare gli effetti prodotti da 2 diverse modalità di esercizio, interval training e training combinato, in acuto ovvero dopo una singola sessione di esercizio, e dopo un periodo di training di 12 settimane, sulla funzione dell'atrio sinistro valutata attraverso lo strain, in pazienti ipertesi e con cardiopatia nota.

Lo studio è monocentrico, prospettico, osservazionale, non farmacologico, in aperto, condotto presso l'IRCCS San Raffaele Roma, volto a comparare e verificare l'effetto prodotto da 2 modalità di esercizio sulla funzione atriale sinistra di pazienti ipertesi con cardiopatia nota.

Il protocollo coinvolge un totale di 50 pazienti così distribuiti: 20 pazienti nel gruppo di esercizio "interval training"; 20 pazienti nel gruppo "esercizio combinato"; 10 pazienti nel gruppo di controllo, "no esercizio". I pazienti hanno età compresa fra i 55 e gli 80 anni, di genere maschile. I tre gruppi sono così formati:

1. Interval training (20)
2. Training combinato (20)
3. Controllo, no esercizio (10)

Lo studio si sviluppa in 3 mesi, e prevede 4 fasi così articolate: ogni soggetto effettua 4 visite: V1 (Screening), V2 (randomizzazione), V3 (valutazione in acuto) e V4 (fine studio).

Durante V1, dopo la firma del consenso informato, precedentemente approvato dal Comitato Etico di riferimento, gli individui sono sottoposti presso lo studio medico ad un ecocardiogramma c/d (SIEMENS Acuson SC2000 prime) con valutazione della qualità della finestra acustica ed acquisizione delle immagini in 2D; 2) test ergometrico (mortara) che serve ad escludere ischemia da sforzo, a valutare la capacità funzionale e a programmare l'intensità dell'allenamento.

Dopo 3-7gg (visita 2), i soggetti vengono sottoposti ad una nuova valutazione ecocardiografica volta a valutare la riproducibilità della metodica. I soggetti vengono quindi randomizzati in uno dei tre gruppi di studio

V3: prima sessione di esercizio (valutazione in "acuto": A) per i 40 pazienti inclusi nei 2 gruppi di training: viene eseguito ecocardiogramma prima e dopo 30'- 60' minuti dopo la fine della sessione di esercizio. B) gruppo di controllo: viene eseguito ecocardiogramma in condizioni di riposo a distanza di 1 h circa.

V4- Visita di fine studio. Viene effettuata entro 1 settimana dalla fine dei protocolli di esercizio ed include l'esecuzione di nuovo ecocardiogramma c/d a riposo ed un test ergometrico.

Nel corso del 2021 sono stati arruolati 15 pazienti. La fine dell'arruolamento è prevista per il mese di giugno 2022, mentre la fine dello studio per dicembre 2022.

Valutazione prospettica di parametri innovativi di rischio cardiovascolare in pazienti con aumentato rischio cardiovascolare e/o malattie cardiovascolari

Le malattie cardiovascolari (CV), in particolare scompenso cardiaco, ipertensione arteriosa, angina pectoris, fibrillazione atriale, malattia coronarica e cardiopatia valvolare, rappresentano la principale causa di morbidità e mortalità nella popolazione mondiale, in entrambi i sessi, e la loro incidenza è destinata ad aumentare nei prossimi decenni.

L'attuale sistema di prevenzione basato sulla stratificazione del rischio non è capace di stimare in maniera ottimale il rischio, sottostimandolo in popolazioni ad alto rischio CV e sovrastimando il medesimo in popolazioni a basso rischio CV, e inoltre non tiene conto del diverso impatto che i fattori di rischio CV e le risposte ai trattamenti farmacologici, hanno nei due sessi. Tutto ciò impone la ricerca di nuovi parametri con un valore prognostico forte, anche basato sulle differenze di genere.

Negli ultimi anni lo studio della funzione endoteliale e della elasticità vascolare e nuovi biomarkers hanno dimostrato la possibilità di predire il rischio cardiovascolare futuro indipendentemente dai classici fattori di rischio sia in prevenzione primaria, sia secondaria, nella popolazione generale e nei pazienti con malattie CV, pur non rivelando ancora differenze

di genere nel determinismo della importanza prognostica anche di questi nuovi fattori di rischio.

Inoltre, se la riabilitazione cardio-metabolica si è dimostrata capace di ridurre l'incidenza di eventi CV, non è ancora noto l'impatto che una stratificazione del rischio elaborata utilizzando anche i nuovi parametri suddetti possa avere sulla risposta alla riabilitazione.

Lo studio, di tipo osservazionale longitudinale prospettico, prevede l'arruolamento di un minimo di 100 e fino a un massimo di 200 soggetti/pazienti anno, di ambo i sessi, età 18-80 anni, diagnosi di malattia CV (in particolare scompenso cardiaco, ipertensione arteriosa, angina pectoris, fibrillazione atriale, malattia coronarica e cardiopatia valvolare, etc.) o presenza di malattia dismetabolica (metabolismo glucidico o lipidico) afferenti all' Unità di Medicina dell' IRCCS San Raffaele.

Le malattie cardiovascolari (CV) rappresentano la principale causa di morbidità e mortalità nella popolazione mondiale, in entrambi i sessi, con crescente incidenza. L'attuale sistema di prevenzione e valutazione del rischio di CV non tiene conto dell'impatto differenziale che i fattori di rischio e le risposte ai trattamenti farmacologici hanno nei due sessi. La ricerca di parametri innovativi ad alto valore prognostico, anche basati sulle differenze di genere, è perciò di primaria importanza. Negli ultimi anni lo studio della funzione endoteliale e della elasticità vascolare e nuovi biomarkers hanno dimostrato la possibilità di predire il rischio cardiovascolare futuro indipendentemente dai classici fattori di rischio, pur non rivelando ancora differenze di genere nel determinismo della importanza prognostica anche di questi nuovi fattori di rischio.

Obiettivi primari:

1. valutare prospetticamente la rilevanza di parametri innovativi di rischio CV;
2. valutare l'effetto dell'esercizio fisico in pazienti con aumentato rischio e/o malattie CV;
3. valutare il rischio di insorgenza di eventi CV futuri in pazienti con aumentato rischio CV e/o malattie CV;
4. identificare il ruolo di fattori di rischio emergenti (fattori psico-ambientali, qualità di vita, umore) e/o di indici precoci di aterosclerosi (stiffness e funzionalità vascolare, microalbuminuria e nuovi biomarcatori) in pazienti a basso rischio CV.

Obiettivi secondari:

1. valutare la concordanza di diverse carte del rischio CV (SCORE e carta del Rischio del Progetto Cuore dell'Istituto Superiore di Sanità) in una popolazione di soggetti a basso rischio;
2. valutare prospetticamente l'effetto dell'aderenza alle diverse strategie di prevenzione e/o di intervento (educazionali e/o terapeutiche) riabilitativo.

Expected outcomes

1. Valutare prospetticamente la modificazione dei fattori di rischio CV, da soli o in associazione a nuovi fattori di rischio emergenti.
2. identificare il ruolo di fattori di rischio emergenti (fattori psico-ambientali, qualità di vita, umore, tempo di inizio della menopausa) e/o indici precoci di morbidità cardiovascolare (stiffness e funzionalità vascolare, biomarcatori).
3. definire prospetticamente il ruolo e l'importanza della associazione dei fattori di rischio tradizionali ed emergenti nella progressione delle malattie CV.
4. Implementare il dialogo fra diversi specialisti (medici di medicina generale, internisti, cardiologi, ginecologi, etc) al fine di ottimizzare le strategie di prevenzione e/o intervento nei pazienti ad aumentato rischio cardiovascolare.

Il presente studio osservazionale è volto a valutare parametri innovativi di rischio CV in pazienti con aumentato rischio CV e/o malattie CV.

I pazienti vengono sottoposti a una valutazione basale del rischio individuale di eventi CV (morte, infarto del miocardio o ictus) per mezzo di carte del rischio CV validate (carta SCORE e

carta del rischio del Progetto Cuore dell'Istituto Superiore di Sanità), e a una valutazione dei fattori di rischio emergenti (fattori psico-ambientali, valutazione della qualità di vita (mediante WHOQOL test), valutazione dello stato cognitivo (mediante MMSE test), valutazione dello stato dell'umore (mediante GDS test) e valutazione dei disturbi del desiderio sessuale (Hypoactive Sexual Desire Disorder - IIEF). Inoltre i pazienti sono sottoposti ad una valutazione della funzionalità e morfologia del cuore (ecocardiogramma), alla registrazione grafica dell'attività elettrica del cuore (elettrocardiogramma) e suo monitoraggio nelle 24 ore (ECG Holter delle 24 ore con valutazione di Heart Rate Variability), degli indici precoci di aterosclerosi (stiffness vascolare, valutazione della velocità dell'onda di polso e della pressione aortica centrale, mediante devices dedicati, quali il Complior e lo Sphygmocor), della funzione endoteliale (mediante EndoPAT, pletismografia e/o metodica ecografica), di parametri basali (peso, altezza, circonferenza vita e fianchi e misurazione della pressione arteriosa). Infine i pazienti sono sottoposti ad un prelievo di sangue (due aliquote di sangue saranno trasferite in bio-banca) e alla raccolta delle urine. Tutti i pazienti sono sottoposti ad un ecocardiogramma Doppler, colorDoppler con valutazione di parametri emergenti di contrattilità loco-regionale e di flusso intracardiaco e ad un test da sforzo con, quando appropriato, uno studio del consumo di ossigeno.

I soggetti con aumentato rischio cardiovascolare ed i pazienti con malattie cardiovascolari e/o metaboliche vengono sottoposti, a discrezione del medico, a prova da sforzo con o senza consumo di ossigeno, ecocardiogramma, ecoDoppler vascolare, monitoraggio ambulatoriale dell'ECG o della Pressione Arteriosa, TC cardiaca, RMN cardiaca. Le suddette valutazioni vengono ripetute annualmente durante il follow-up. I pazienti vengono quindi inclusi in un programma di riabilitazione cardiometabolica che include dieta individualizzata ed esercizio fisico commisurato alle capacità funzionali.

Ad ogni visita annuale, atta a valutare eventi e stato di salute, viene effettuato il calcolo del rischio cardiovascolare.

Il periodo di reclutamento previsto è di 48 mesi ed il follow-up minimo per ciascun soggetto/paziente è di dieci anni.

Studio comparativo fra due diversi integratori alimentari di agire sul profilo lipidico e sulla qualità di vita associati alla malattia venosa cronica

La malattia venosa cronica (CVD) e l'ipercolesterolemia sono frequenti nello stesso paziente. La malattia venosa cronica è una condizione clinica, spesso progressiva, che non solo limita la qualità di vita dei pazienti che ne sono affetti, ma che può evolvere verso patologie gravi, quali la comparsa di ulcere venose. L'ipercolesterolemia è un noto fattore di rischio cardiovascolare ed è un obiettivo di trattamento.

Nei pazienti a basso rischio cardiovascolare, e/o in prevenzione primaria che rifiutano l'assunzione di agenti ipolipemizzanti o nei pazienti intolleranti alle statine, l'uso di integratori alimentari può essere aggiunto allo stile di vita per ottenere una riduzione dei livelli plasmatici del colesterolo. Numerosi sono gli integratori alimentari disponibili; molti di questi sono in grado di agire contemporaneamente su diversi parametri metabolici, quali il colesterolo, ed emodinamici, quali la malattia venosa, aumentando quindi la compliance al trattamento da parte del paziente.

L'obiettivo di questo studio, che fa parte di un progetto più ampio di valutazione dell'efficacia e sicurezza di diversi nutraceutici su parametri metabolici ed emodinamici, è quello di paragonare l'efficacia di integratori alimentari sul metabolismo lipidico e sui sintomi e segni clinici associati alla malattia venosa ed alla qualità di vita.

Il primo di questi studi coinvolge 123 pazienti ambulatoriali affetti da malattia venosa cronica (MVC) e ipercolesterolemia che non abbiano assunto negli ultimi tre mesi farmaci e/o nutraceutici e/o integratori alimentari per il trattamento dell'ipercolesterolemia e/o della MVC. I pazienti eleggibili vengono randomizzati secondo lo schema a blocchi permutati 1:1:1 ed assegnati ad uno dei tre bracci di trattamento: A (Armolid plus, efarma), B (Colven, PhytoActiva Srl), C (placebo).

Nel corso del 2021 è stata svolta una analisi ad interim i cui risultati sono riportati in calce.

Dei 42 pazienti che hanno firmato il consenso informato, 16 non sono stati arruolati per la mancata adesione ai criteri di inclusione e/o di esclusione. Sono stati quindi arruolati n. 26 pazienti, di cui 3 non hanno svolto la visita V2 per problemi personali ad effettuare la visita di follow up (drop out).

Le analisi sono state pertanto svolte su n. 23 pazienti.

I dati mostrano una riduzione significativa del colesterolo totale nel gruppo randomizzato a gruppo A ($p=0,0071$) rispetto al gruppo C e nel gruppo randomizzato a B ($p=0,0133$) rispetto al gruppo C. I due gruppi A e B non differiscono significativamente tra di loro per colesterolo totale.

Per la variabile LDL, i dati sono speculari. Vi è una riduzione significativa dei valori di LDL nel gruppo randomizzato a gruppo A ($p=0,0107$) rispetto a C e nel gruppo randomizzato a gruppo B ($p=0,0149$) rispetto a C. I due gruppi A e B non differiscono significativamente tra di loro per LDL.

Nel corso dello studio, 6 pazienti hanno presentato eventi avversi: di questi 2 non relati alle molecole dello studio (interventi minori programmati).

Studio dei fattori psicologici e neuropsicologici e loro impatto su aderenza terapeutica, prognosi e qualità di vita in pazienti con malattie cardiovascolari: fattori di rischio, di protezione e implicazioni terapeutiche

Le malattie cardiovascolari rappresentano la principale causa di morbidità e mortalità nella popolazione mondiale e la loro incidenza è destinata ad aumentare nei prossimi decenni. Nel caso delle patologie cardiovascolari sono presenti fattori di rischio di diversa natura; alcuni non sono modificabili, mentre altri hanno ampi margini di cambiamento. A tal fine, hanno ricevuto sempre più attenzione nell'ambito della ricerca scientifica i fattori di rischio modificabili collegati allo stile di vita poco salutare (dieta irregolare, scarsa attività fisica, abuso di sostanze alcoliche, tabagismo, stress). Di conseguenza, vi è un crescente riconoscimento dell'importanza dei fattori psicologici nelle patologie cardiovascolari, data la loro associazione con i comportamenti di rischio e l'impatto negativo sulla prognosi e sulla qualità di vita.

Numerose ricerche hanno messo in evidenza il ruolo della depressione come fattore di rischio per lo sviluppo di patologie cardiovascolari e fattore predittivo di cattiva prognosi. Altamente correlati ai disturbi depressivi sono i disturbi d'ansia, particolarmente comuni tra gli individui affetti da malattia cardiovascolare. Nonostante l'impatto di questa variabile sia stato meno studiato rispetto a quello della depressione, diverse sono le evidenze empiriche che dimostrano come i disturbi d'ansia possano costituire un fattore predittivo di cattiva prognosi sia a seguito di un evento acuto che nei pazienti cronici.

Inoltre, è ben nota l'associazione tra fattori psicologici (ansia, depressione, non accettazione della patologia cardiaca) e scarsa aderenza ai farmaci nei pazienti cardiovascolari. Ciò è di notevole importanza nel caso dei pazienti cronici che, in conseguenza delle numerose ricadute e dei molteplici ricoveri ospedalieri, risultano meno propensi all'alleanza terapeutica, che è anche un fattore predittivo di cattiva prognosi.

Per tutte queste ragioni, le Linee Guida Internazionali sulla Riabilitazione Cardiaca e le linee guida italiane di cardiologia riabilitativa e prevenzione secondaria delle malattie cardiovascolari suggeriscono una valutazione multidimensionale volta all'individuazione non solo dei deficit ma anche delle risorse psicologiche e cognitive del paziente cardiovascolare.

Un'area di ricerca in espansione riguarda lo studio dei fattori cognitivi come fattore di rischio delle malattie cardiovascolari. I pazienti cardiovascolari sono a elevato rischio di disturbi neuropsicologici, come dimostrato nel Maastricht Study (Zhou et al. 2019). Il deficit cognitivo rappresenta un problema rilevante, predittivo di mortalità e disabilità, nei pazienti con malattie cardiovascolari, tanto da far sì che negli anni si sia introdotto il concetto di demenza "cardiaca" o demenza "circolatoria".

Per questi motivi, il presente studio è volto ad esaminare in maniera trasversale e longitudinale i fattori psicologici e cognitivi in una popolazione selezionata di pazienti con diagnosi di malattia cardiovascolare. Lo studio prevede l'arruolamento di un minimo di 50 e fino a un massimo di 200 soggetti di controllo/pazienti anno, di ambo i sessi, età 18-80 anni, con diagnosi di malattia cardiovascolare (scompenso cardiaco, ipertensione arteriosa, angina pectoris, fibrillazione atriale, malattia coronarica e cardiopatia valvolare, etc.) in assenza di altre malattie gravi (es tumori), afferenti all'unità di Medicina, seguiti longitudinalmente per 12 anni.

La prima ipotesi è quella di una maggiore prevalenza nei pazienti con diagnosi di malattia cardiovascolare rispetto ai soggetti di controllo dei fattori psicologici riportati dalla letteratura come associati alle patologie cardiovascolari. In particolare ci si aspetta una maggiore prevalenza nel primo gruppo di ansia, depressione, rabbia, ritiro sociale e minori livelli di benessere soggettivo.

Si testa l'ipotesi secondo la quale il gruppo di pazienti con malattia cardiovascolare presenti inoltre una maggiore prevalenza di sintomi cognitivi descritti in letteratura come associati a ridotta funzionalità sottocorticale (rallentamento ideomotorio, deficit nelle funzioni esecutive, disturbi dell'attenzione e del ragionamento complesso) ma si esplorerà anche - senza ipotesi a priori - l'eventuale presenza di differenze tra i pattern neuropsicologici confrontando le patologie cardiache tra loro.

Si ipotizza inoltre che depressione, ansia e deficit cognitivi siano predictors significativi di scarsa prognosi, scarsa compliance farmacologica e peggiore qualità di vita nei pazienti con malattia cardiovascolare.

Si testa l'ipotesi che pazienti con malattia cardiovascolare acuta e cronica differiscano tra loro per pattern comportamentali e neuropsicologici. L'ipotesi è che ci sia una maggiore prevalenza nel secondo gruppo di ansia, depressione, ritiro sociale e minori livelli di benessere soggettivo. Si esplora senza ipotesi a priori l'eventuale presenza di differenze tra i pattern neuropsicologici tra i gruppi.

Vengono inoltre confrontati i profili psicologici all'interno di sottogruppi di età e genere, ipotizzando - come da letteratura- una maggiore prevalenza di ansia e depressione nei sottogruppi "fragili" (soprattutto gli anziani e coloro con deterioramento cognitivo) e nelle donne in quanto più longeve ed esposte a maggior rischio di demenza e correlati disturbi comportamentali.

Si testa infine l'ipotesi di una possibile correlazione tra indici di funzionalità cardiaca e funzioni cognitive e sintomi psicologici, controversa attualmente in letteratura.

Il presente studio osservazionale si compone di una parte trasversale e una longitudinale-prospettica, e a sua volta di una parte hypothesis-driven e di una parte esplorativa.

Il primo obiettivo è quello di valutare i fattori psicologici e cognitivi confrontando un gruppo di pazienti affetti da patologie cardiovascolari con un gruppo di controllo, ovvero non affetto da patologie di tipo cardiovascolare né di altra natura. L'ipotesi da testare è quella di una maggiore

prevalenza nel primo gruppo dei fattori psicologici e neuropsicologici riportati dalla letteratura come associati alle patologie cardiovascolari.

Il secondo consiste nel confrontare i profili psicologici e cognitivi di pazienti affetti da diverse forme di patologia cardiovascolare, distinguendo fra diagnosi di malattia acuta e di malattia di tipo cronico. Vengono inoltre effettuati confronti dei profili psicologici e neuropsicologici per sottogruppi di età e genere. Si provvede così alla sottotipizzazione di pazienti “ad alto rischio” di vulnerabilità psicologica e cognitiva (“frailty”). Lo scopo è l’identificazione di un fenotipo di paziente cardiovascolare “fragile”.

Il terzo obiettivo consiste nel valutare l’impatto dei fattori psicologici e cognitivi sulla aderenza farmacologica e sulla qualità di vita. Si ipotizza che depressione, ansia e deficit cognitivi siano predittori significativi di scarsa compliance farmacologica e peggiore qualità di vita nei pazienti con malattie cardiovascolari.

Il quarto obiettivo consiste nel valutare longitudinalmente l’impatto dei fattori di rischio sulla prognosi, a medio e lungo termine. Si ipotizza una relazione diretta tra ansia, depressione e peggiore prognosi nei pazienti con malattie cardiovascolari.

Il quinto obiettivo riguarda la valutazione longitudinalmente, in un sottogruppo di pazienti che accetteranno di sottoporsi a un ciclo di sedute psicoterapeutiche, dell’effetto di un intervento psicologico a breve termine sul miglioramento della compliance farmacologica (laddove presente scarsa compliance al baseline) e della qualità di vita. Tale parte dello studio è da considerarsi esplorativa ed ha come finalità quella di fornire risultati preliminari da approfondire in un ulteriore studio.

Expected Outcomes

1. Identificare il ruolo di fattori di rischio emergenti (fattori psicologici, sintomi cognitivi anche sotto-soglia) sugli outcomes cardiovascolari, aderenza farmacologica e qualità di vita.
2. Identificare il fenotipo di paziente cardiovascolare “fragile”. Ci si aspetta, in base ai dati di letteratura esistente, che il paziente “fragile” sia anziano, affetto da patologia cardiaca cronica, affetto da comorbidità, con ridotta funzione cardiaca, deficit cognitivo e disturbi comportamentali.
3. Valutare prospetticamente l’andamento dei fattori di rischio psicologici e cognitivi nel tempo.
4. Definire prospetticamente il ruolo e l’importanza della associazione dei fattori di rischio tradizionali ed emergenti nella progressione delle malattie cardiovascolari.
5. Implementare il dialogo fra diversi specialisti (medici di medicina generale, internisti, cardiologi e psicologi) al fine di ottimizzare le strategie di prevenzione e/o intervento nei pazienti con malattia cardiovascolare ad aumentato rischio di demenza e disturbi comportamentali.

I pazienti vengono sottoposti a una valutazione basale della aderenza terapeutica (Indice di Moriski), della qualità di vita (World Health Organization Quality of Life assessment -WHOQOL test), della depressione (Hamilton Depression Rating Scale - HDRS), dell’ansia (State-Trait Anxiety Inventory -STAI), della rabbia (State-Trait Anger Expression Inventory -STAXI), dei sintomi comportamentali e neuropsichiatrici (Neuropsychiatric Inventory Questionnaire -NPI (da sottoporre al caregiver se disponibile)); della consapevolezza di malattia (Clinical Insight Rating Scale -CIRS).

I pazienti vengono sottoposti a uno screening dello stato cognitivo (Mini Mental State Examination -MMSE) e a una valutazione neuropsicologica completa (Mental Deterioration Battery -MDB).

I pazienti sono sottoposti a scan della aorta addominale e vascolare periferico (Ecografo con modulo di analisi vascolare), a valutazione della funzionalità cardiaca (Ecocardiografo per frazione di eiezione), della saturazione (saturimetro), ad elettrocardiogramma, e a valutazione della capacità funzionale (Test da sforzo).

Infine i pazienti sono sottoposti ad un prelievo di sangue (due aliquote di sangue saranno trasferite in bio-banca) e alla raccolta delle urine.

I pazienti vengono quindi inclusi in un programma di riabilitazione psicologica.

Le suddette valutazioni vengono ripetute annualmente durante il follow-up. Ad ogni visita annuale, atta a valutare eventi e stato di salute, viene effettuato il calcolo del rischio cardiovascolare, la capacità funzionale ed i parametri di funzionalità ventricolare oltre alle valutazioni neuropsicologiche, comportamentali e dei parametri ematochimici.

Il periodo di reclutamento previsto è di 48 mesi ed il follow-up minimo per ciascun soggetto/paziente è di dieci anni.

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 come trattamenti riabilitativi nuove strategie non invasive in alternativa a terapie fisiche tradizionali. Il Trattamento di Osservazione dell'Azione (AOT), sostenuto da risultati raccolti attraverso studi clinici controllati randomizzati (RCT), è uno di questi. 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, nata nel campo della neurofisiologia, è un approccio 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 sia l'osservazione di azioni motorie. Il profilo corticomuscolare che affianca le scale cliniche tradizionali viene utilizzato per discriminare tra i pazienti responder e i not-responder all'AOT. Risultati favorevoli dello studio proposto confermeranno la reale potenza traslazionale dell'AOT, ottimizzata tramite l'utilizzo di video classificati secondo diverse categorie di gesti appartenenti alla vita quotidiana, 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, 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). Inoltre, si prefigge di analizzare le caratteristiche elettrofisiologiche e funzionali in grado di prevedere i risultati della riabilitazione e fornire un protocollo terapeutico 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, la progettazione e lo sviluppo di un setup sperimentale per la somministrazione di task motori permettono di estrapolare parametri EEG, EMG e cinematici per fornire una descrizione quantitativa della risposta corticale agli stimoli, dei cambiamenti e del recupero muscolare e motorio. I parametri calcolati quantificano i cambiamenti avvenuti nelle aree corticali coinvolte nella pianificazione e nell'esecuzione motoria dopo la terapia AOT, indica i biomarcatori neurofisiologici per predire l'efficacia AOT correlati ai cambiamenti nel reclutamento muscolare e nel recupero funzionale.

I ricercatori si aspettano che i risultati di questo studio offrono 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.

Il profilo corticale dei pazienti viene utilizzato per discriminare tra i responder e i not-responder all'AOT ed il metodo di indagine dei marcatori cerebrali e muscolari correlati utilizzato nello studio pongono le basi alla validazione di un'analisi multidominio delle riposte a task motori

semplici. 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 cortico-muscolari 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.

Per studiare l'efficacia della terapia dell'osservazione con la visualizzazione di video che proiettano gesti semplici e categorizzati della vita quotidiana, i pazienti reclutati vengono sottoposti a scale di valutazione clinica riconosciute dalla letteratura e dalle linee guida internazionali.

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.

Le valutazioni cliniche sono somministrate da un terapeuta ignaro dell'assegnazione del gruppo. Per ogni paziente idoneo vengono registrati dati EEG, EMG e cinematici 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 viene registrato utilizzando l'elettroencefalografo EGI GEODESIC a 128 canali (0,01-100 Hz passa-banda; frequenza di campionamento: 1000 Hz) dapprima durante lo stato di riposo e successivamente durante un task motorio di puntamento, somministrato per mezzo di un set-up sperimentale implementato in Labview 2020; segnali elettromiografici vengono registrati su 4 muscoli dell'arto superiore con le sonde del sistema BTS FREEEMGN 1000; i parametri biomeccanici che restituiscono il contributo compensativo del tronco al gesto effettuato si ottengono dal software MOVIT SYSTEM- CAPTIKS. Sono stati implementati setup sensorizzati nei quali si prevederà 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.

Sulla base dei risultati ottenuti dalle analisi preliminari del progetto (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.

Sono stati reclutati tre soggetti con esiti di ictus ischemico in fase cronica (distanza dall'evento acuto maggiore di 6 mesi) con deficit dell'arto superiore clinicamente evidente.

Lo studio dei dati preliminari ha permesso di validare il dispositivo implementato in ambiente Labview per la somministrazione del pointing task. Per la valutazione funzionale del recupero motorio l'analisi dei segnali fisiologici ha richiesto la scrittura di un algoritmo automatico in linguaggio MATLAB che importi i dati acquisiti su ciascun soggetto sperimentale per effettuarne l'elaborazione con la finale estrapolazione dei marcatori elettrofisiologici. Il protocollo di analisi si prefigge di ricercare e identificare meccanismi neurali e muscolari che sottintendono il movimento e che contribuiscono all'ottimizzazione delle prestazioni comportamentali durante l'adattamento motorio; gli indici sono calcolati nelle aree cerebrali e nelle bande di frequenza di interesse e includono il rilevamento del potenziale evento-correlato, lo studio della desincronizzazione e risincronizzazione dei ritmi cerebrali in banda alpha e beta a seguito del

gesto motorio con il corrispettivo spettrogramma per l'analisi delle mappe di potenza spettrale tempo-frequenza, il calcolo del valore di coerenza cortico-muscolare e inter-muscolare.

Nel corso del 2022 saranno acquisiti i segnali di soggetti sani e affetti da ictus prima e dopo le sedute di AOT per valutarne l'efficacia e per ricavare informazioni sulla piattaforma implementata e sulla fattibilità e correttezza dell'algoritmo di analisi. Verranno approfonditi i correlati neuro-muscolari delle prove a occhi aperti e occhi chiusi che escludono le criticità dell'acquisizione durante l'attività motoria, poiché privi di artefatti da movimento. I parametri restituiti dalle scale di valutazione clinica verranno correlati con i marcatori restituiti dall'analisi elettrofisiologica.

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 Sistema Nervoso Centrale (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 costituire 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. Il progetto si prefigge di effettuare:

- La valutazione dell'efficacia degli stimoli e delle strategie per l'ottimizzazione della terapia;
- L'indagine sulle componenti di sincronizzazione e desincronizzazione evento-correlata (ERD/ERS) dei ritmi cerebrali in seguito alla presentazione di un determinato stimolo visivo;
- L'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 neuroelettrici, saranno 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.

Ventuno 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 appartenevano a una delle seguenti cinque categorie: Control Videos (CV), Not Finalized Actions (NFA) e Finalized Action (FA), tra cui Self Care Actions (SCA), External Actions (EA), Feeding Actions (FEA).

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, durante la quale l'attore nel video raggiunge l'oggetto manipolato, e una di Completion, durante la quale l'oggetto viene utilizzato per finalizzare l'attività. Nel dominio del tempo, si osserva con ispezione visiva una desincronizzazione maggiore per i video di FA rispetto alle altre categorie.

L'analisi sui dati in frequenza ha evidenziato che sia i video FA (entrambe le fasi di reaching e di completion), sia i video NFA desincronizzavano i ritmi EEG, mentre i video CV tendevano a sincronizzare l'attività cerebrale del ritmo mu, nelle componenti alpha e beta. Inoltre, il rapporto delle densità spettrali di potenza normalizzata rispetto all'intervallo di baseline risulta più evidente durante la fase di raggiungimento di FA rispetto ai video NFA. La fase di raggiungimento dei video FA ha indotto una forte desincronizzazione correlata all'evento nelle bande alpha e beta e nelle aree corticali motorie e premotorie. Considerando le fasi di reaching separatamente, i test hanno rivelato diverse attivazioni corticali: nell'emisfero non affetto, la fase di reaching dei video SCA riportano una significativa desincronizzazione in entrambe le bande rispetto a EA. L'area premotoria ha registrato una simile desincronizzazione relativa agli eventi per FEA e per SCA rispetto a EA.

Lo studio svolto 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.

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.

Nella pratica clinica sono molte le scale di valutazione di cui ci si avvale per lo studio dell'arto di interesse, per indagarne moduli e combinazioni motorie. Tuttavia, se consideriamo ad esempio i metodi clinici in uso per valutare il movimento dell'arto superiore, essi non consentono ancora un'analisi dettagliata della cinematica articolare e delle attività muscolari presenti durante i movimenti tipici delle attività della vita quotidiana. 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. Una piattaforma di acquisizione di dati provenienti da domini diversi consente di restituire un profilo del paziente puntuale, corredato da indici di natura clinica ed elettrofisiologica.

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.

La progettazione e realizzazione di una piattaforma multi-dominio è altamente innovativa per la ricerca, in quanto consente lo studio simultaneo di indici legati a tre diversi segnali; un ulteriore beneficio dell'acquisizione multidominio è la possibilità di diminuire sensibilmente il tempo di intervento sul paziente per le acquisizioni e la possibilità di correlarne i risultati per interpretare i ruoli e le interazioni tra i diversi domini indagati.

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 il recupero della manualità, intesa come la capacità di usare le mani in modo abile e coordinato per afferrare e manipolare oggetti, fattore correlato ad un buon livello di qualità della vita. Uno dei test più utilizzati per valutare la manualità è il Box and Blocks Test (BBT), che è stato applicato in diverse patologie come ictus, sclerosi multipla, lesioni cerebrali traumatiche, morbo di Parkinson e amputazioni degli arti superiori. Il BBT è comunemente usato nella pratica clinica perché è un test rapido, semplice ed economico. Inoltre, è una misura delle prestazioni temporizzate ben convalidata della funzione dell'arto superiore con una buona affidabilità.

Al fine di meglio programmare interventi terapeutici (chirurgici, riabilitativi, farmacologici), gli obiettivi specifici sono:

- Validare un setup sperimentale indossabile per la valutazione delle caratteristiche cinematiche e muscolari della manualità;
- Consentire una misura rapida, pulita, ripetibile, accurata della cinematica articolare durante il test di valutazione clinica sensorizzati (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 e cinematici durante l'evoluzione di un task tra soggetti sani e patologici 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. Raggiungendo questi obiettivi, il BBT basato sui sensori inerziali IMU potrebbe essere un potenziale sistema per la valutazione standardizzata dell'arto superiore.

Ai fini della sperimentazione presentata nel progetto, sono stati arruolati 11 soggetti sani e 11 soggetti affetti da malattia di Parkinson tra 60 e 80 anni e 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.

L'implementazione di un codice versatile in ambiente MATLAB R2019a ha permesso il pre-processing, la segmentazione automatica e l'elaborazione dei dati per calcolare la cinematica dei giunti articolari e la traiettoria percorsa dalla mano nello spazio tridimensionale durante il task: il sistema aumentato con i sensori inerziali ha consentito di ricavare indici di performance motoria per il confronto statistico delle strategie motorie di entrambi gli arti (dominante e non-dominante) tra i soggetti sani e patologici.

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. 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 sono state confrontate le misure cinematiche restituite dagli esperimenti su pazienti affetti da Morbo di Parkinson.

I risultati di questo studio dimostrano che il BBT basato sull'IMU proposto è in grado di valutare quantitativamente e facilmente la cinematica della parte superiore del corpo durante un test di destrezza manuale. Inoltre, l'analisi delle traiettorie angolari articolari permette di caratterizzare la qualità dei movimenti e di trovare le strategie compensative dei soggetti con PD. L'analisi di tali approcci motori compensativi è di sostegno nel comprendere il guadagno funzionale in una prospettiva di valutazione puntuale personalizzata dei pazienti con PD sottoposti a trattamenti riabilitativi.

Il protocollo BBT IMU-based proposto è risultato portabile, facile da utilizzare, ripetibile, a basso costo ed ecologico. Tutti i soggetti reclutati hanno partecipato agli esperimenti ed eseguito i compiti motori senza alcuna difficoltà. In un periodo in cui la riabilitazione necessita sempre più di un'oggettivazione della performance motoria per personalizzare il trattamento, questo sistema permette di eseguire un'analisi quantitativa del movimento in modo semplice e accurato in ambito clinico.

Gli sviluppi futuri si pongono l'obiettivo di acquisire dati su soggetti affetti da Parkinson e da ictus con la piattaforma sensorizzata per l'esecuzione del tBBT (targeted Box and Block Test) aumentata con sonde elettromiografiche per l'acquisizione dei segnali muscolari di tre coppie di muscoli antagonisti dell'arto superiore: la piattaforma sincronizza i segnali provenienti da dispositivi di dominio diverso e restituisce gli istanti caratterizzanti la presa e il rilascio dei blocchi.

Laboratorio di Brain Connectivity

Studio della connettività cerebrale in condizioni fisiologiche e patologiche

Il progetto ha l'obiettivo specifico di individuare dei marcatori neurofisiologici che riflettano lo stato cerebrale che possa identificare alterazioni della plasticità corticale attraverso investigazioni con tecniche elettrofisiologiche (TMS-EEG ed EEG a riposo).

Per fare questo sono studiate tutte le possibili patologie disponibili presso l'Istituto o in tutte le strutture che vogliono essere coinvolte.

Possono essere utilizzate anche registrazioni EEG prima e dopo riabilitazione motoria o cognitiva, e possono essere utili per lo scopo del progetto anche registrazioni riguardanti apprendimento o compiti etici. Dal punto di vista preclinico, possono essere prese in considerazione anche registrazioni su modelli animali come topi o primati.

L'obiettivo di questo progetto è la valutazione dei network cerebrali per lo studio della connettività funzionale, strutturale ed effettiva. L'attività è specificatamente rivolta alla valutazione delle modulazioni dei network cerebrali dovuti a patologie neurodegenerative e non (come ad esempio in pazienti affetti da malattia di Alzheimer, epilessia, sclerosi multipla, morbo di Parkinson, Stroke, ...) come anche al trattamento terapeutico e di riabilitazione motoria o cognitiva (ad esempio in malattia di Alzheimer, Stroke, ...).

Le metodiche di acquisizione utilizzate sono: dati elettroencefalografici (EEG), dati di risonanza magnetica (MRI), registrazioni simultanee di dati elettroencefalografici e stimolazione elettrica e magnetica (EEG-TMS, EEG-tDCS, EEG-tACS).

Le maggiori innovazioni apportate a questo progetto riguardano prima di tutto l'approccio multimodale alla patologia e l'integrazione tra dati di origini diverse, come quelli già elencati, ma anche come dati provenienti da test neuropsicologici e clinici (che permettono una correlazione con le valutazioni neurofisiologiche per seguire il paziente durante la progressione della malattia o il recupero funzionale e cognitivo attraverso nuovi approcci di riabilitazione, come quelli legati a compiti cognitivi e stimolazioni magnetiche ed elettriche mirati allo specifico recupero cognitivo di determinate aree cerebrali).

Ci si aspetta di individuare marcatori neurofisiologici che riflettano lo stato cerebrale che possa identificare alterazioni della plasticità corticale attraverso investigazioni con tecniche elettrofisiologiche:

- Modulazioni EEG nelle bande di frequenza di interesse (delta, theta, alpha 1, alpha 2, beta 1, beta 2, gamma);
- Impatto delle stimolazioni NIBS sui meccanismi di plasticità cerebrale nel recupero funzionale e nel decorso patologico e fisiologico
- Indici di predizione delle patologie e miglioramento ed efficacia delle metodiche di neuroriabilitazione

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

Registrazione EEG ed analisi preliminari:

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

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

Analisi di potenza delle sorgenti EEG:

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

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

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

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

Teoria dei grafi:

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

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

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

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

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

Sono state calcolate correlazioni specifiche tra indici comportamentali e neurofisiologici.

Il progetto è molto ampio e si prevede di individuare marcatori neurofisiologici che riflettano lo stato cerebrale che possa identificare alterazioni della plasticità corticale attraverso investigazioni con tecniche elettrofisiologiche:

Modulazioni EEG nelle bande di frequenza di interesse (delta, theta, alpha 1, alpha 2, beta 1, beta 2, gamma);

Impatto delle stimolazioni NIBS sui meccanismi di plasticità cerebrale nel recupero funzionale e nel decorso patologico e fisiologico

Indici di predizione delle patologie e miglioramento ed efficacia delle metodiche di neuro riabilitazione.

PUBBLICAZIONI

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.* 2021 Jun;67(2):183-189.

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 randomized homogeneous sample of two groups with equal daily caloric reduction but different protein distributions between meals.

Forty-seven men and women (mean age: 32 ± 10 years; Body Mass Index: 28.4 ± 2.4 kg/m²) consumed an energy-restricted diet (788 kcal/d below the requirement) for eight weeks in a free-living context. Subjects consumed 90.1 g protein/d (1.10 ± 0.16 g/kg/day) and were randomized 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.

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.

Mollace V, Rosano GMC, Anker SD, Coats AJS, Seferovic P, Mollace R, Tavernese A, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Maiuolo J, Macrì R, Bosco F, Chiochi M, Romeo F, Metra M, Volterrani M.

Pathophysiological basis for nutraceutical supplementation in heart failure: a comprehensive review.

Nutrients. 2021 Jan 17;13(1):E257.

Klompstra L, Kyriakou M, Lambrinou E, Piepoli MF, Coats AJS, Cohen-Solal A, Cornelis J, Gellen B, Marques-Sule E, Niederseer D, Orso F, Piotrowicz E, Van

There is evidence demonstrating that heart failure (HF) occurs in 1-2% of the global population and is often accompanied by comorbidities which contribute to increasing the prevalence of the disease, the rate of hospitalization and the mortality. Although recent advances in both pharmacological and non-pharmacological approaches have led to a significant improvement in clinical outcomes in patients affected by HF, residual unmet needs remain, mostly related to the occurrence of poorly defined strategies in the early stages of myocardial dysfunction. Nutritional support in patients developing HF and nutraceutical supplementation have recently been shown to possibly contribute to protection of the failing myocardium, although their place in the treatment of HF requires further assessment, in order to find better therapeutic solutions. In this context, the Optimal Nutraceutical Supplementation in Heart Failure (ONUS-HF) working group aimed to assess the optimal nutraceutical approach to HF in the early phases of the disease, in order to counteract selected pathways that are imbalanced in the failing myocardium. In particular, we reviewed several of the most relevant pathophysiological and molecular changes occurring during the early stages of myocardial dysfunction. These include mitochondrial and sarcoplasmic reticulum stress, insufficient nitric oxide (NO) release, impaired cardiac stem cell mobilization and an imbalanced regulation of metalloproteinases. Moreover, we reviewed the potential of the nutraceutical supplementation of several natural products, such as coenzyme Q10 (CoQ10), a grape seed extract, *Olea Europea* L.-related antioxidants, a sodium-glucose cotransporter (SGLT2) inhibitor-rich apple extract and a bergamot polyphenolic fraction, in addition to their support in cardiomyocyte protection, in HF. Such an approach should contribute to optimising the use of nutraceuticals in HF, and the effect needs to be confirmed by means of more targeted clinical trials exploring the efficacy and safety of these compounds.

Craenenbroeck EM, Simonenko M, Witte KK, Wozniak A, **Volterrani M**, Jaarsma T.
Measuring physical activity with activity monitors in patients with heartfailure: 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. 2021 Jan;23(1):83-91.

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.

Anker MS, Sanz AP, Zamorano JL, Mehra MR, Butler J, Riess H, Coats AJS, AnkerSD.
Advanced cancer is also a heart failure syndrome: a hypothesis.
Eur J HeartFail. 2021 Jan;23(1):140-144.

We present the hypothesis that advanced stage cancer is also a heart failure syndrome. It can develop independently of or in addition to cardiotoxic effects of anti-cancer therapies. This includes an increased

risk of ventricular arrhythmias. We suggest the pathophysiologic link for these developments includes generalized muscle wasting (i.e. sarcopenia) due to tissue homeostasis changes leading to cardiac wasting associated cardiomyopathy. Cardiac wasting with thinning of the ventricular wall increases ventricular wall stress, even in the absence of ventricular dilatation. In addition, arrhythmias may be facilitated by cellular wasting processes affecting structure and function of electrical cells and conduction pathways. We submit that in some patients with advanced cancer (but not terminal cancer), heart failure therapy or defibrillators may be relevant treatment options. The key points in selecting patients for such therapies may be the predicted life expectancy, quality of life at intervention time, symptomatic burden, and consequences for further anti-cancer therapies. The cause of death in advanced cancer is difficult to ascertain and consensus on event definitions in cancer is not established yet. Clinical investigations on this are called for. Broader ethical considerations must be taken into account when aiming to target cardiovascular problems in cancer patients. We suggest that focused attention to evaluating cardiac wasting and arrhythmias in cancer will herald a further evolution in the rapidly expanding field of cardio-oncology.

Gentile S, Guarino G, Stollo F.

How to treat improper insulin injection- related lipohypertrophy: a 3-year follow-up of a monster case and an update on treatment.

Diabetes Res Clin Pract. 2021 Jan

Anker MS, von Haehling S, Coats **AJS**, 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. 2021 Jan;23(1):145-153.

Many cancer patients die due to cardiovascular disease and sudden death, but data on ventricular arrhythmia prevalence and prognostic importance are not known.

Between 2005 and 2010, we prospectively enrolled 120 unselected patients with lung, colon, or pancreatic cancer due to one of three diagnoses: colorectal (n = 33), pancreatic (n = 54), or non-small cell lung cancer (n = 33). All were free of manifest cardiovascular disease. They were compared to 43 healthy controls similar in age and sex distribution. Each participant underwent 24 h electrocardiogram recording and cancer patients were followed for up to 12.5 years for survival (median 21 months). Ninety-six cancer patients (80%) died during follow-up [5-year survival: 27% (95% confidence interval 19-35%)]. Non-sustained ventricular tachycardia (NSVT) was more frequent in cancer patients vs. controls (8% vs. 0%, P = 0.021). The number of premature ventricular contractions (PVCs) over 24 h was not increased in cancer patients vs. controls (median 4 vs. 9, P = 0.2). In multivariable analysis, NSVT [hazard ratio (HR) 2.44, P = 0.047] and PVCs (per 100, HR 1.021, P = 0.047) were both significant predictors of mortality, independent of other univariable mortality predictors including tumour stage, cancer type, potassium concentration, prior surgery, prior cardiotoxic chemotherapy, and haemoglobin. In patients with colorectal and pancreatic cancer, ≥ 50 PVCs/24 h predicted mortality (HR 2.30, P = 0.0024), and was identified in 18% and 26% of patients, respectively.

Non-sustained ventricular tachycardia is more frequent in unselected patients with colorectal, pancreatic, and non-small cell lung cancer and together with PVCs predict long-term mortality. This raises the prospect of cardiovascular mortality being a target for future treatment interventions in selected cancers.

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

Advanced cancer is also a heart failure syndrome: a hypothesis.

J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2021 Jun;12(3):533-537.

We present the hypothesis that advanced stage cancer is also a heart failure syndrome. It can develop independently of or in addition to cardiotoxic effects of anti-cancer therapies. This includes an increased risk of ventricular arrhythmias. We suggest the pathophysiologic link for these developments includes generalized muscle wasting (i.e. sarcopenia) due to tissue homeostasis changes leading to cardiac wasting associated cardiomyopathy. Cardiac wasting with thinning of the ventricular wall increases ventricular wall stress, even in the absence of ventricular dilatation. In addition, arrhythmias may be facilitated by cellular wasting processes affecting structure and function of electrical cells and conduction pathways. We submit that in some patients with advanced cancer (but not terminal cancer), heart failure therapy or defibrillators may be relevant treatment options. The key points in selecting patients for such therapies may be the predicted life expectancy, quality of life at intervention time, symptomatic burden, and consequences for further anti-cancer therapies. The cause of death in advanced cancer is difficult to ascertain and consensus on event definitions in cancer is not established yet. Clinical investigations on this are called for. Broader ethical considerations must be taken into account when aiming to target cardiovascular problems in cancer patients. We suggest that focused attention to evaluating cardiac wasting and arrhythmias in cancer will herald a further evolution in the rapidly expanding field of cardio-oncology.

Seferović PM, Vardas P, Jankowska EA, Maggioni AP, Timmis A, Milinković I, Polovina M, Gale CP, Lund LH, Lopatin Y, Lainscak M, Savarese G, Huculeci R, Kazakiewicz D, Coats AJS; National Heart Failure Societies of the ESC membercountries (see Appendix).

The Heart Failure Association Atlas: Heart Failure Epidemiology and Management Statistics 2019.

Eur J Heart Fail. 2021 Jun;23(6):906-914.

The Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC) developed the HFA Atlas to provide a contemporary description of heart failure (HF) epidemiology, resources, reimbursement of guideline-directed medical therapy (GDMT) and activities of the National Heart Failure Societies (NHFS) in ESC member countries.

The HFA Atlas survey was conducted in 2018-2019 in 42 ESC countries. The quality and completeness of source data varied across countries. The median incidence of HF was 3.20 [interquartile range (IQR) 2.66-4.17] cases per 1000 person-years, ranging from ≤ 2 in Italy and Denmark to >6 in Germany. The median HF prevalence was 17.20 (IQR 14.30-21) cases per 1000 people, ranging from ≤ 12 in Greece and Spain to >30 in Lithuania and Germany. The median number of HF hospitalizations was 2671 (IQR 1771-4317) per million people annually, ranging from <1000 in Latvia and North Macedonia to >6000 in Romania, Germany and Norway. The median length of hospital stay for an admission with HF was 8.50 (IQR 7.38-10) days. Diagnostic and management resources for HF varied, with high-income ESC member countries having substantially more resources compared with middle-income countries. The median number of hospitals with dedicated HF centres was 1.16 (IQR 0.51-2.97) per million people, ranging from <0.10 in Russian Federation and Ukraine to >7 in Norway and Italy. Nearly all countries reported full or partial reimbursement of standard GDMT, except ivabradine and sacubitril/valsartan. Almost all countries reported having NHFS or working groups and nearly half had HF patient organizations.

The first report from the HFA Atlas has shown considerable heterogeneity in HF disease burden, the resources available for its management and data quality across ESC member countries. The findings emphasize the need for a systematic approach to the capture of HF statistics so that inequalities and improvements in care may be quantified and addressed.

Muscogiuri G, Barrea L, Caprio M, Ceriani F, Chavez AO, El Ghoch M, Frias-Toral E, Mehta RJ, Mendez V, Paschou SA, Pazderska A, Savastano S, Colao A.

Nutritional guidelines for the management of insulin resistance.

Crit Rev FoodSci Nutr. 2021 Apr 2:1-14.

Obesity and its related co-morbidities, namely type 2 diabetes (T2D), pose a significant global public health problem. Insulin resistance (IR) in muscle and liver is the core pathophysiologic defect that

underlies obesity preceding and predicting the onset of T2D in susceptible humans. There is a broad population with IR that has no indication for prescription of medications, who still need medical consultation and specific advice in this respect. This prevalent need can be achieved by appropriate diet, exercise, and other behavioral therapies for lifestyle interventions. Despite a well-recognized role of IR in the progression to metabolic diseases, no specific nutritional recommendations exist to manage this condition, to the best of our knowledge. An international panel of experts reviewed and critically appraised the updated literature published about this topic. This review primarily examines the evidence for areas of consensus and ongoing uncertainty or controversy about diet and exercise approaches for IR. The aim of this article is to present the most common IR states, namely obesity and Polycystic Ovary Syndrome (PCOS), and provide nutritional advice to manage IR, hyperinsulinemia, and reactive hypoglycemia. These nutritional guidelines could prevent progression or worsening of IR with resultant beta-cell failure and, as a result, T2D.

Gentile S, Guarino G, Della Corte T, Marino G, Satta E, Pasquarella M, Romano C, Alfrone C, Strollo F; AMD-OSDI Study Group on Injection Technique, Nefrocenter Research and Nyx Start-Up.

Role of structured education in reducing lipodystrophy and its metabolic complications in insulin-treated people with type 2 Diabetes: a randomized multicenter case-control study.

Diabetes Ther.2021 May;12(5):1379-1398.

It is essential to use the correct injection technique (IT) to avoid skin complications such as lipohypertrophy (LH), local inflammation, bruising, and consequent repeated unexplained hypoglycemia episodes (hypos) as well as high HbA1c (glycated hemoglobin) levels, glycemic variability (GV), and insulin doses. Structured education plays a prominent role in injection technique improvement. The aim was to assess the ability of structured education to reduce (i) GV and hypos, (ii) HbA1c levels, (iii) insulin daily doses, and (iv) overall healthcare-related costs in outpatients with T2DM who were erroneously injecting insulin into LH.

318 patients aged 19-75 years who had been diagnosed with T2DM for at least 5 years, were being treated with insulin, were routinely followed by a private network of healthcare centers, and who had easily seen and palpable LH nodules were included in the study. At the beginning of the 6-month run-in period (T-6), all patients were trained to perform structured self-monitoring of blood glucose and to monitor symptomatic and severe hypos (SyHs and SeHs, respectively). After that (at T0), the patients were randomly and equally divided into an intervention group who received appropriate IT education (IG) and a control group (CG), and were followed up for six months (until T+6). Healthcare cost calculations (including resource utilization, loss of productivity, and more) were carried out based on the average NHS reimbursement price list.

Baseline characteristics were the same for both groups. During follow-up, the intra-LH injection rate for the CG progressively decreased to 59.9% ($p < 0.001$), a much smaller decrease than seen for the IG (1.9%, $p < 0.001$). Only the IG presented significant decreases in HbA1c ($8.2 \pm 1.2\%$ vs. $6.2 \pm 0.9\%$; $p < 0.01$), GV (247 ± 61 mg/dl vs. 142 ± 31 mg/dl; $p < 0.01$), insulin requirement (-20.7% , $p < 0.001$), and SeH and SyH prevalence (which dropped dramatically from 16.4 to 0.6% and from 83.7 to 7.6%, respectively; $p < 0.001$). In the IG group only, costs-including those due to the reduced insulin requirement-decreased significantly, especially those relating to SeHs and SyHs, which dropped to €25.8 and €602.5, respectively ($p < 0.001$).

Within a 6-month observation period, intensive structured education yielded consistently improved metabolic results and led to sharp decreases in the hypo rate and the insulin requirement. These improvements resulted in a parallel drop in overall healthcare costs, representing a tremendous economic advantage for the NHS. These positive results should encourage institutions to resolve the apparently intractable problem of LH by financially incentivizing healthcare teams to provide patients with intensive structured education on proper injection technique.

Cittadini A, Salzano A, Iacoviello M, Triggiani V, Rengo G, Cacciatore F, Maiello C, Limongelli G, Masarone D, Perticone F, Cimellaro A, Perrone Filardi P, Paolillo S, Mancini A, **Volterrani M**, Vriz

O, Castello R, Passantino A, CampoM, Modesti PA, De Giorgi A, Monte IP, Puzzo A, Ballotta A, D'Assante R, Arcopinto M, Gargiulo P, Sciacqua A, Bruzzese D, Colao A, Napoli R, Suzuki T, Eagle KA, Ventura HO, Marra AM, Bossone E.

Multiple hormonal and metabolic deficiency syndrome predicts outcome in heart failure: the T.O.S.CA. Registry.

Eur J Prev Cardiol. 2021 Dec 29;28(15):1691-1700.

Recent evidence supports the occurrence of multiple hormonal and metabolic deficiency syndrome (MHDS) in chronic heart failure (CHF). However, no large observational study has unequivocally demonstrated its impact on CHF progression and outcome. The T.O.S.CA. (Trattamento Ormonale nello Scompenso Cardiaco; Hormone Treatment in Heart Failure) Registry has been specifically designed to test the hypothesis that MHDS affects morbidity and mortality in CHF patients.

The T.O.S.CA. Registry is a prospective, multicentre, observational study involving 19 Italian centres. Thyroid hormones, insulin-like growth factor-1, total testosterone, dehydropianoandrosterone sulfate, insulin resistance, and the presence of diabetes were evaluated. A MHDS was defined as the presence of ≥ 2 hormone deficiencies (HDs). Primary endpoint was a composite of all-cause mortality and cardiovascular hospitalizations. Four hundred and eighty heart failure patients with ejection fraction $\leq 45\%$ were enrolled. MHDS or diabetes was diagnosed in 372 patients (77.5%). A total of 271 events (97 deaths and 174 cardiovascular hospitalizations) were recorded, 41% in NO-MHDS and 62% in MHDS ($P < 0.001$). Median follow-up was of 36 months. MHDS was independently associated with the occurrence of the primary endpoint [hazard ratio 95% (confidence interval), 1.93 (1.37-2.73), $P < 0.001$] and identified a group of patients with a higher mortality [2.2 (1.28-3.83), $P = 0.01$], with a graded relation between HDs and cumulative events ($P < 0.01$).

MHDS is common in CHF and independently associated with increased all-cause mortality and cardiovascular hospitalization, representing a promising therapeutic target.

Moriconi E, Camajani E, Fabbri A, Lenzi A, Caprio M.

Very-low-calorie ketogenic diet as a safe and valuable tool for long-term glycemic management in patients with obesity and type 2 diabetes.

Nutrients. 2021 Feb 26;13(3):758.

Obesity-related type 2 diabetes represents one of the most difficult challenges for the healthcare system. This retrospective study aims to determine the efficacy, safety and durability of a very-low-calorie ketogenic diet (VLCKD), compared to a standard low-calorie diet (LCD) on weight-loss, glycemic management, eating behavior and quality of life in patients with type 2 diabetes (T2DM) and obesity. Thirty patients with obesity and T2DM, aged between 35 and 75 years, who met the inclusion criteria and accepted to adhere to a VLCKD or a LCD nutritional program, were consecutively selected from our electronic database. Fifteen patients followed a structured VLCKD protocol, fifteen followed a classical LCD. At the beginning of the nutritional protocol, all patients were asked to stop any antidiabetic medications, with the exception of metformin. Data were collected at baseline and after 3 (T1) and 12 (T2) months. At T1 and T2, BMI was significantly reduced in the VLCKD group ($p < 0.001$), whereas it remained substantially unchanged in the LCD group. HbA1c was significantly reduced in the VLCKD group ($p = 0.002$), whereas a slight, although not significant, decrease was observed in the LCD group. Quality of life and eating behavior scores were improved in the VLCKD group, whereas no significant changes were reported in the LCD group, both at T1 and T2. At the end of the study, in the VLCKD group 26.6% of patients had stopped all antidiabetic medications, and 73.3% were taking only metformin, whereas 46.6% of LCD patients had to increase antidiabetic medications. The study confirms a valuable therapeutic effect of VLCKD in the long-term management of obesity and T2DM and its potential contribution to remission of the disease.

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. 2021 Mar 15;7(2):83-85.

Alhakak AS, Teerlink JR, Lindenfeld J, Böhm M, Rosano GMC, Biering-Sørensen T.

The significance of left ventricular ejection time in heart failure with reduced ejection fraction.

Eur J Heart Fail. 2021 Apr;23(4):541-551.

Left ventricular ejection time (LVET) is defined as the time interval from aortic valve opening to aortic valve closure, and is the phase of systole during which the left ventricle ejects blood into the aorta. LVET has been used for several decades to assess left ventricular function and contractility. However, there is a recent interest in LVET as a measure of therapeutic action for novel drugs in patients with heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF), since LVET is shortened in these patients. This review provides an overview of the available information on LVET including methods of measuring LVET, mechanistic understanding of LVET, association of LVET with outcomes, mechanisms behind shortened LVET in HFrEF and the potential implications of drugs that affect and normalize LVET.

Gentile S, Guarino G, Della Corte T, Marino G, Satta E, Romano C, Alfrone C, Lmberti C, Strollo F; AMD-OSDI Study Group.

Bruising: a neglected, though patient-relevant complication of insulin injections coming to light from a real-life nationwide survey.

Diabetes Ther. 2021 Apr;12(4):1143-1157.

Despite the availability of sophisticated devices and suitable recommendations on how to best perform insulin injections, lipohypertrophy (LH) and bruising (BR) frequently occur as a consequence of improper injection technique.

The purpose of this nationwide survey was to check literature-reported LH risk factors or consequences for any association with BR. **METHOD:** This was a cross-sectional, observational, multicenter study based on the identification of skin lesions at all patient-reported insulin injection sites in 790 subjects with diabetes. General and injection habit-related elements were investigated as possible BR risk factors.

While confirming the close relationship existing between LH and a full series of factors including missed injection site rotation, needle reuse, long-standing insulin treatment, frequent hypoglycemic events (hypos), and great glycemic variability (GV), the observed data could find no such association with BR, which anyhow came with high HbA1c levels, missed injection site rotation, and long-standing insulin treatment.

BR most likely depends on the patient's habit of pressing the injection pen hard onto the skin. Despite being worrisome and affecting quality of life, BR seems to represent a preliminary stage of LH but does not affect the rate of hypos and GV.

Sliwa K, van der Meer P, Petrie MC, Frogoudaki A, Johnson MR, Hilfiker-Kleiner D, Hamdan R, Jackson AM, Ibrahim B, Mbakwem A, Tschöpe C, Regitz-Zagrosek V, Omerovic E, Roos-Hesselink J, Gatzoulis M, Tutarel O, Price S, Heymans S, Coats AJS, Müller C, Chioncel O, Thum T, de Boer RA, Jankowska E, Ponikowski P, Lyon AR, Rosano G, Seferovic PM, Bauersachs J. **Risk stratification and management of women with cardiomyopathy/heart failure planning pregnancy or presenting during/after pregnancy: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology Study Group on peripartum cardiomyopathy.**

Eur J Heart Fail. 2021 Feb 20. Epub ahead of print.

This position paper focusses on the pathophysiology, diagnosis and management of women diagnosed with a cardiomyopathy, or at risk of heart failure (HF), who are planning to conceive or present with (de novo or previously unknown) HF during or after pregnancy. This includes the heterogeneous group of heart muscle diseases such as hypertrophic, dilated, arrhythmogenic right ventricular and non-classified cardiomyopathies, left ventricular non-compaction, peripartum cardiomyopathy, Takotsubo syndrome, adult congenital heart disease with HF, and patients with right HF. Also, patients with a history of chemo-/radiotherapy for cancer or haematological malignancies need specific pre-, during and post-pregnancy assessment and counselling. We summarize the current knowledge about pathophysiological mechanisms, including gene mutations, clinical presentation, diagnosis, and medical and device management, as well as risk stratification. Women with a known diagnosis of a cardiomyopathy will often require continuation of drug therapy, which has the potential to exert negative effects on the foetus. This position paper assists in balancing benefits and detrimental effects.

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, Cosedis Nielsen J, 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.

Europace. 2021 Aug 6;23(8):1324-1342.

Cardiac resynchronization therapy (CRT) is one of the most effective therapies for heart failure with reduced ejection fraction and leads to improved quality of life, reductions in heartfailure hospitalization rates and reduces all-cause mortality. Nevertheless, up to two-thirds of eligible patients are not referred for CRT. Furthermore, post implantation follow-up is often fragmented and suboptimal, hampering the potential maximal treatment effect. This joint position statement from three ESC Associations, HFA, EHRA and EACVI focuses on optimized implementation of CRT. We offer theoretical and practical strategies to achieve more comprehensive CRT referral and post-procedural care by focusing on four actionable domains; (I) overcoming CRT under-utilization, (II) better understanding of pre-implant characteristics, (III) abandoning the term 'non-response' and replacing this by the concept of disease modification, and (IV) implementing a dedicated post-implant CRT care pathway. ù

Maas AHEM, Rosano G, Cifkova R, Chieffo A, van Dijken D, Hamoda H, Kunadian V, Laan E, Lambrinou I, Maclaran K, Panay N, Stevenson JC, van Trotsenburg M, Collins P.
Cardiovascular health after menopause transition, pregnancy disorders, and other gynaecological conditions: a consensus document from European cardiologists, gynaecologists, and endocrinologists.

Eur Heart J. 2021 Mar 7;42(10):967-984.

Women undergo important changes in sex hormones throughout their lifetime that can impact cardiovascular disease risk. Whereas the traditional cardiovascular risk factors dominate in older age, there are several female-specific risk factors and inflammatory risk variables that influence a woman's risk at younger and middle age. Hypertensive pregnancy disorders and gestational diabetes are associated with a higher risk in younger women. Menopause transition has an additional adverse effect to ageing that may demand specific attention to ensure optimal cardiovascular risk profile and quality of life. In this position paper, we provide an update of gynaecological and obstetric conditions that interact with cardiovascular risk in women. Practice points for clinical use are given according to the latest standards from various related disciplines.

Lainscak M, Omersa D, Rosano G, Farkas J, Böhm M.

Pharmacotherapy adherence in patients with heart failure: easier said than done.

Int J Cardiol. 2021 Mar 27:S0167-5273(21)00555-6. Epub ahead of print.

Paoli A, Cenci L, Pompei P, Sahin N, Bianco A, Neri M, **Caprio M**, Moro T. Effects of Two Months of Very Low Carbohydrate Ketogenic Diet on Body Composition, Muscle Strength, Muscle Area, and Blood Parameters in Competitive Natural Body Builders. *Nutrients*. 2021 Jan 26;13(2):374. doi:

Rosano G, Iacoviello M, Filardi PP.

La “serendipity” degli inibitori del co- trasportatore sodio-glucosio di tipo 2: un nuovo paradigma nello scompenso cardiaco con frazione di eiezione ridotta [Serendipity of sodium-glucose co- transporter 2 inhibitors: a new paradigm in the management of heart failure withreduced ejection fraction].

G Ital Cardiol (Rome). 2021 Apr;22(4):277-283.

Type 2 sodium-glucose co-transporter inhibitors (SGLT2i) are a new drug class with extremely relevant benefits in the prevention and treatment of heart failure (HF). In type 2 diabetic patients with both high cardiovascular risk and known cardiovascular disease, SGLT2i proved effective in reducing the risk of HF hospitalizations as well as the progression of renal disease. New evidence in patients with chronic HF and reduced ejection fraction (HFrEF) has also demonstrated their prognostic beneficial effects both in patients with and without type 2 diabetes mellitus. Based on these data, the use of this class of drugs in daily clinical practice is of primary importance to prevent HF hospitalization in diabetic patients and to improve the prognosis of HFrEF regardless of the presence of diabetes. In these patients, SGLT2i act synergistically with drugs capable of modulating the neurohormonal systems, thus allowing a further prognostic benefit.

De Luca L, Rosano GMC, Spoletini I.

Post-percutaneous coronary intervention angina: From physiopathological mechanisms to individualized treatment.

Cardiol J. 2021 Apr 12. Epub ahead of print.

Chronic ischemic heart disease (IHD) is a multifactorial disease with different underlying pathogenetic mechanisms. Percutaneous coronary intervention (PCI) is widely used in patients with IHD in order to reduce angina recurrence. However, after complete or incomplete revascularization procedures, patients may still present anginal symptoms, with a detrimental impact on quality of life and prognosis. This review summarizes the pathogenic mechanisms and the main challenges encountered in the diagnosis and management of post-PCI angina.

Volterrani M, Perrone V, Degli Esposti L.

Reply letter regarding the article 'Effects of hyperkalaemia and non-adherence to renin-angiotensin-aldosterone system inhibitor therapy in patients with heart failure in Italy: a propensity- matched study'.

Eur J Heart Fail. 2021 Feb 8. Epub aheadof print.

Vitale C, D'Abate F, Froio A.

Needs of standardisation in reporting a venous lower limb ultrasound exam for the assessment of varicose veins.

Phlebology. 2021 Sep;36(8):665-667.

Duplex ultrasound is an important tool in the assessment and management of patients with varicose veins. Over the past two decades several minimally-invasive therapeutic options have become available for the treatment of these patients. Consequently, the ultrasonographic assessment and the parameters to consider have changed accordingly. Ultrasound parameters, such as the diameter of superficial incompetent veins or their depth from the skin surface amongst others, have become of paramount importance for planning a tailored either operative or non-operative treatment. However, in daily

practice there is a wide variety of ultrasound parameters described in the report. This variety can be explained by several factors, such as the background of the healthcare professional performing the exam or the available treatments as per the local national healthcare service guidelines or insurance reimbursement plans. The standardisation of the reporting of the ultrasound findings in patients with varicose veins will improve communication between healthcare professionals and the management of these patients.

Pelliccia F, Limongelli G, Rosano GMC, Vitale C, Bossone E, Calabrò P, Gaudio C.

Nuclear factor-kappa B predicts long-term clinical outcome in patients with hypertrophic cardiomyopathy: 10-year follow-up study.

Eur J Prev Cardiol. 2021 Mar 24:zwab047. Epub ahead of print.

Pelliccia F, Rosano GMC, Mehran R.

Corrigendum to "Gender-related differences after acute myocardial infarction: A major global health challenge" [International Journal of Cardiology Volume 311 (2020), 18-19 / DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2020.04.023>].

Int J Cardiol. 2021 Mar 20:S0167-5273(21)00481-2.

Becher PM, Schrage B, Ferrannini G, Benson L, Butler J, Carrero JJ, Cosentino F, Dahlström U, Mellbin L, Rosano GMC, Sinagra G, Stolfo D, Lund LH, Savarese G.

Use of sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors in patients with heart failure and type 2 diabetes mellitus: data from the Swedish Heart Failure Registry.

Eur J Heart Fail. 2021 Jun;23(6):1012-1022.

Use of sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors (SGLT2i) in real-world heart failure (HF) is poorly characterised. In contemporary patients with HF and type 2 diabetes mellitus (T2DM) we assessed over time SGLT2i use, clinical characteristics and outcomes associated with SGLT2i use.

Type 2 diabetes patients enrolled in the Swedish HF Registry between 2016-2018 were considered. We performed multivariable logistic regression models to assess the independent predictors of SGLT2i use and Cox regression models in a 1:3 propensity score-matched cohort and relevant subgroups to investigate the association between SGLT2i use and outcomes. Of 6805 eligible HF patients with T2DM, 376 (5.5%) received SGLT2i, whose use increased over time with 12% of patients on treatment at the end of 2018. Independent predictors of SGLT2i use were younger age, HF specialty care, ischaemic heart disease, preserved kidney function, and absence of anaemia. Over a median follow-up of 256 days, SGLT2i use was associated with a 30% lower risk of cardiovascular (CV) death/first HF hospitalisation (hazard ratio 0.70, 95% confidence interval 0.52-0.95), which was consistent regardless of ejection fraction, background metformin treatment and kidney function. SGLT2i use was also associated with a lower risk of all-cause and CV death, HF and CV hospitalisation, and CV death/myocardial infarction/stroke.

In a contemporary HF cohort with T2DM, SGLT2i use increased over time, was more common with specialist care, younger age, ischaemic heart disease, and preserved renal function, and was associated with lower mortality and morbidity.

Becher PM, Schrage B, Ferrannini G, Benson L, Butler J, Carrero JJ, Cosentino F, Dahlström U, Mellbin L, Rosano GMC, Sinagra G, Stolfo D, Lund LH, Savarese G.

Use of sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors in patients with heart failure and type 2 diabetes mellitus: data from the Swedish Heart Failure Registry.

Eur J Heart Fail. 2021 Jun;23(6):1012-1022.

Use of sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors (SGLT2i) in real-world heart failure (HF) is poorly characterised. In contemporary patients with HF and type 2 diabetes mellitus (T2DM) we assessed over time SGLT2i use, clinical characteristics and outcomes associated with SGLT2i use.

Type 2 diabetes patients enrolled in the Swedish HF Registry between 2016-2018 were considered. We performed multivariable logistic regression models to assess the independent predictors of SGLT2i use and Cox regression models in a 1:3 propensity score-matched cohort and relevant subgroups to investigate the association between SGLT2i use and outcomes. Of 6805 eligible HF patients with T2DM, 376 (5.5%) received SGLT2i, whose use increased over time with 12% of patients on treatment at the end of 2018. Independent predictors of SGLT2i use were younger age, HF specialty care, ischaemic heart disease, preserved kidney function, and absence of anaemia. Over a median follow-up of 256 days, SGLT2i use was associated with a 30% lower risk of cardiovascular (CV) death/first HF hospitalisation (hazard ratio 0.70, 95% confidence interval 0.52-0.95), which was consistent regardless of ejection fraction, background metformin treatment and kidney function. SGLT2i use was also associated with a lower risk of all-cause and CV death, HF and CV hospitalisation, and CV death/myocardial infarction/stroke.

In a contemporary HF cohort with T2DM, SGLT2i use increased over time, was more common with specialist care, younger age, ischaemic heart disease, and preserved renal function, and was associated with lower mortality and morbidity.

Richards T, Breymann C, Brookes MJ, Lindgren S, Macdougall IC, McMahon LP, Munro MG, Nemeth E, Rosano GMC, Schiefke I, Weiss G.

Questions and answers on iron deficiency treatment selection and the use of intravenous iron in routine clinical practice.

Ann Med. 2021 Dec;53(1):274-285.

Iron deficiency is a common cause of morbidity and can arise as a consequence or complication from many diseases. The use of intravenous iron has increased significantly in the last decade, but concerns remain about indications and administration. Modern intravenous iron preparations can facilitate rapid iron repletion in one or two doses, both for absolute iron deficiency and, in the presence of inflammation, functional iron deficiency, where oral iron therapy is ineffective or has not worked. A multidisciplinary team of experts experienced in iron deficiency undertook a consensus review to support healthcare professionals with practical advice on managing iron deficiency in gastrointestinal, renal and cardiac disease, as well as; pregnancy, heavy menstrual bleeding, and surgery. We explain how intravenous iron may work where oral iron has not. We provide context on how and when intravenous iron should be administered, and informed opinion on potential benefits balanced with potential side-effects. We propose how intravenous iron side-effects can be anticipated in terms of what they may be and when they may occur. The aim of this consensus is to provide a practical basis for educating and preparing staff and patients on when and how iron infusions can be administered safely and efficiently. Key messages Iron deficiency treatment selection is driven by several factors, including the presence of inflammation, the time available for iron replenishment, and the anticipated risk of side-effects or intolerance. Intravenous iron preparations are indicated for the treatment of iron deficiency when oral preparations are ineffective or cannot be used, and therefore have applicability in a wide range of clinical contexts, including chronic inflammatory conditions, perioperative settings, and disorders associated with chronic blood loss. Adverse events occurring with intravenous iron can be anticipated according to when they typically occur, which provides a basis for educating and preparing staff and patients on how iron infusions can be administered safely and efficiently.

Verrelli CM., Tomei P, Caminiti G, Iellamo F, Volterrani M.

Nonlinear heart rate control in treadmill/cycle-ergometer exercises under the instability constraint.

Automatica, Volume 127, May 2021, Article number 109492

The heart rate regulation problem is addressed for the well-known second order nonlinear model of the human heart rate response during treadmill/cycle-ergometer exercises. The mainly restrictive stability & global attractivity constraint in the literature, being constituted by an inequality involving four constant parameters of such a nonlinear model, is definitely removed. Nonlinear analytical arguments and design

steps are innovatively presented to achieve heart rate regulation when model parameters satisfy the so-called 'instability constraint', with just stability & local attractivity properties being involved. Experimental results are included to illustrate all the theoretical derivations.

Ambrosio G, Leiro MGC, Lund LH, Coiro S, Cardona A, Filippatos G, Ferrari R, Piepoli MF, Coats AJS, Anker SD, Laroche C, Almenar-Bonet L, Poder P, Valero DB, Frisinghelli A, Maggioni AP.

Serum uric acid and outcomes in patients with chronic heart failure through the whole spectrum of ejection fraction phenotypes: analysis of the ESC-EORP. Heart Failure Long-Term (HF LT) Registry.

Eur J Intern Med. 2021 Jul; 89:65-75.

Retrospective analyses of clinical trials indicate that elevated serum uric acid (sUA) predicts poor outcome in heart failure (HF). Uric acid can contribute to inflammation and microvascular dysfunction, which may differently affect different left ventricular ejection fraction (LVEF) phenotypes. However, role of sUA across LVEF phenotypes is unknown.

We investigated sUA association with outcome in a prospective cohort of HF patients stratified according to LVEF.

Through the Heart Failure Long-Term Registry of the European Society of Cardiology (ESC-EORP-HF-LT), 4,438 outpatients were identified and classified into: reduced (<40% HFrEF), mid-range (40-49% HFmrEF), and preserved (\geq 50% HFpEF) LVEF. Endpoints were the composite of cardiovascular death/HF hospitalization, and individual components.

Median sUA was 6.72 (IQ:5.48-8.20) mg/dl in HFrEF, 6.41 (5.02-7.77) in HFmrEF, and 6.30 (5.20-7.70) in HFpEF. At a median 372-day follow-up, the composite endpoint occurred in 648 (13.1%) patients, with 176 (3.6%) deaths and 538 (10.9%) HF hospitalizations. Compared with lowest sUA quartile (Q), Q-III and Q-IV were significantly associated with the composite endpoint (adjusted HR 1.68: 95% CI 1.11-2.54; 2.46: 95% CI 1.66-3.64, respectively). By univariable analyses, HFrEF and HFmrEF patients in Q-III and Q-IV, and HFpEF patients in Q-IV, showed increased risk for the composite endpoint ($P < 0.05$ for all); after model-adjustment, significant association of sUA with outcome persisted among HFrEF in Q-IV, and HFpEF in Q-III-IV.

In a large, contemporary-treated cohort of HF outpatients, sUA is an independent prognosticator of adverse outcome, which can be appreciated in HFrEF and HFpEF patients.

Iellamo F, Caminiti G, Montano M, Manzi V, Franchini A, Mancuso A, Volterrani M.

Prolonged post-exercise hypotension: effects of different exercise modalities and training statuses in elderly patients with hypertension.

Int J Environ Res Public Health. 2021 Mar 20;18(6):3229.

In this study, we aimed at comparing the effects of three different exercise modalities on post-exercise hypotension (PEH) in elderly hypertensive patients and at investigating whether PEH responses to the same exercises are affected by their training status.

Thirty-six male sedentary hypertensive patients over 60 years old, were included. They were divided into three groups each one corresponding to a different exercise modality, i.e., aerobic continuous exercise (ACE), high-intensive interval exercise (HIIE), and combined (aerobic and resistance) exercise (CE). PEH was assessed in each group by ambulatory blood pressure monitoring (ABPM) in two different conditions as follows: (1) sedentary status and (2) trained status, at the end of a 12 week of ACE training program. A cardiopulmonary test was performed before and at the end of the training program.

In the sedentary status, 24-h and nocturnal systolic and diastolic blood pressure (BP) decreased in all groups as compared with top pre-exercise, with a greater but not significant reduction in the ACE and CE groups as compared with HIIE. ACE and HIIE groups presented a more sustained PEH than CE. In the trained status, 24-h and nighttime systolic and diastolic BP decreased significantly only after HIIE, but were unchanged as compared with pre-exercise in the ACE and CE groups.

ACE and CE produced greater PEH than HIIE in sedentary elderly hypertensive patients. However, after training, HIIE produced the greater and more sustained PEH. The training status appears to exert significant effects on PEH produced by different exercise modalities.

Lombardo M, Franchi A, Biolcati Rinaldi R, Rizzo G, D'Adamo M, Guglielmi V, Bellia A, Padua E, Caprio M, Sbraccia P.

Long-Term iron and vitamin B12 deficiency are present after bariatric surgery, despite the widespread use of supplements.

Int J Environ Res Public Health. 2021 Apr 25;18(9):4541.

There are few long-term nutritional studies in subjects undergoing bariatric surgery that have assessed weight regain and nutritional deficiencies. In this study, we report data 8 years after surgery on weight loss, use of dietary supplements and deficit of micronutrients in a cohort of patients from five centres in central and northern Italy. The study group consisted of 52 subjects (age: 38.1 ± 10.6 y, 42 females): 16 patients had Roux-en-Y gastric bypass (RYGB), 25 patients had sleeve gastrectomy (SG) and 11 subjects had adjustable gastric banding (AGB). All three bariatric procedures led to sustained weight loss: the average percentage excess weight loss, defined as weight loss divided by excess weight based on ideal body weight, was $60.6\% \pm 32.3$. Despite good adherence to prescribed supplements, 80.7% of subjects (72.7%, AGB; 76.7%, SG; 93.8%, RYGB) reported at least one nutritional deficiency: iron (F 64.3% vs. M 30%), vitamin B12 (F 16.6% vs. M 10%), calcium (F 33.3% vs. M 0%) and vitamin D (F 38.1% vs. M 60%). Long-term nutritional deficiencies were greater than the general population among men for iron and among women for vitamin B12.

Lombardo M, Aulisa G, Marcon D, Rizzo G, Tarsisano MG, Di Renzo L, Federici M, Caprio M, De Lorenzo A.

Association of urinary and plasma levels of Trimethylamine N-Oxide (TMAO) with foods.

Nutrients. 2021 Apr 23;13(5):1426.

Trimethylamine N-oxide (TMAO) may play a key mediator role in the relationship between the diet, gut microbiota and cardiovascular diseases, particularly in people with kidney failure. The aim of this review is to evaluate which foods have a greater influence on blood or urinary trimethylamine N-oxide (TMAO) levels.

391 language articles were screened, and 27 were analysed and summarized for this review, using the keywords "TMAO" AND "egg" OR "meat" OR "fish" OR "dairy" OR "vegetables" OR "fruit" OR "food" in December 2020.

A strong correlation between TMAO and fish consumption, mainly saltwater fish and shellfish, but not freshwater fish, has been demonstrated. Associations of the consumption of eggs, dairy and meat with TMAO are less clear and may depend on other factors such as microbiota or cooking methods. Plant-based foods do not seem to influence TMAO but have been less investigated.

Consumption of saltwater fish, dark meat fish and shellfish seems to be associated with an increase in urine or plasma TMAO values. Further studies are needed to understand the relationship between increased risk of cardiovascular disease and plasma levels of TMAO due to fish consumption. Interventions coupled with long-term dietary patterns targeting the gut microbiota seem promising.

Caminiti G, Iellamo F, Mancuso A, Cerrito A, Montano M, Manzi V, Volterrani M.

Effects of 12 weeks of aerobic versus combined aerobic plus resistance exercise training on short-term blood pressure variability in patients with hypertension.

J Appl Physiol (1985). 2021 Apr 1;130(4):1085-1092.

Short-term blood pressure (BP) variability (BPV), measured by 24-h ambulatory BP monitoring (ABPM), has been independently related to a higher risk of cardiovascular events and target organ in hypertensive patients. The aim of this study was to compare the effects of two different exercise

modalities on BPV in hypertensive patients enrolled in a cardiac rehabilitation program. This study is a randomized trial, with two intervention arms: 1) aerobic training (AT) and 2) combined aerobic and resistance training (CT). We studied 55 male patients with hypertension. They were randomly assigned either to AT or CT group. The training program lasted 12 wk for each group. Short-term BP variability was evaluated by means of average real variability (ARV), at baseline and after 12 wk, by ABPM. Systolic and diastolic 24-h BP values decreased significantly ($P < 0.01$) in both groups, without between-groups differences ($P = 0.11$). The 24-h systolic BP variability decreased in both groups (AT: from 8.4 ± 1.2 to 7.6 ± 0.8 ; CT: from 8.8 ± 1.5 to 7.1 ± 1.1), with a greater decrease in CT ($P = 0.02$). Night-time systolic BPV decreased in CT (from 9.4 ± 1.3 to 8.3 ± 1.2 , $P = 0.03$) and remained unchanged in AT (from 9.5 ± 1.2 to 9.4 ± 1.4). Day-time BPV decreased in both groups without between-groups differences ($P = 0.07$). CT was more effective than AT in reducing short-term BPV in hypertensive patients, and both exercise modalities reduced BP to a same extent. CT appears to be a more appropriate exercise modality if the objective is to reduce BPV in addition to BP levels. Combined exercise training (CT) including aerobic plus resistance exercises could be more effective in comparison with aerobic exercise (AT) alone in reducing blood pressure variability (BPV) in hypertensive patients. We report that CT was indeed more effective than AT in reducing short-term BPV, and both exercise modalities reduced BP levels to the same extent. CT appears to be a more appropriate exercise modality if the objective is to reduce BPV in addition to BP levels.

Rosano GMC, Moura B, Metra M, Böhm M, Bauersachs J, Ben Gal T, Adamopoulos S, Abdelhamid M, Bistola V, Čelutkienė J, Chioncel O, Farmakis D, Ferrari R, Filippatos G, Hill L, Jankowska EA, Jaarsma T, Jhund P, Lainscak M, Lopatin Y, Lund LH, Milicic D, Mullens W, Pinto F, Ponikowski P, Savarese G, Thum T, Volterrani M, Anker SD, Seferovic PM, Coats AJ. **Patient profiling in heart failure for tailoring medical therapy. A consensus document of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.** Eur J Heart Fail. 2021 Jun;23(6):872-881.

Despite guideline recommendations and available evidence, implementation of treatment in heart failure (HF) is poor. The majority of patients are not prescribed drugs at target doses that have been proven to positively impact morbidity and mortality. Among others, tolerability issues related to low blood pressure, heart rate, impaired renal function or hyperkalaemia are responsible. Chronic kidney disease plays an important role as it affects up to 50% of patients with HF. Also, dynamic changes in estimated glomerular filtration rate may occur during the course of HF, resulting in inappropriate dose reduction or even discontinuation of decongestive or neurohormonal modulating therapy in clinical practice. As patients with HF are rarely naïve to pharmacologic therapies, the challenge is to adequately prioritize or select the most appropriate up-titration schedule according to patient profile. In this consensus document, we identified nine patient profiles that may be relevant for treatment implementation in HF patients with a reduced ejection fraction. These profiles take into account heart rate (<60 bpm or >70 bpm), the presence of atrial fibrillation, symptomatic low blood pressure, estimated glomerular filtration rate (<30 or >30 mL/min/1.73 m²) or hyperkalaemia. The pre-discharge patient, frequently still congestive, is also addressed. A personalized approach, adjusting guideline-directed medical therapy to patient profile, may allow to achieve a better and more comprehensive therapy for each individual patient than the more traditional, forced titration of each drug class before initiating treatment with the next.

Rosano GMC, Vitale C, Maltese G. **Interdisciplinary assessment and diagnostic algorithm: the role of the cardiologist.** Diabetes Res Clin Pract. 2021 May 4;176:108851. Epub ahead of print. PMID: 33957142.

Patients with diabetes have an increased risk of developing heart failure and those with heart failure are at higher risk of developing diabetes. In patients with diabetes antidiabetic medications and the metabolic alterations of diabetes increase the risk of developing heart failure. In diabetic patients with heart failure and in those with an increased likelihood of developing the disease a stepwise approach

based on the use of natriuretic peptides and echocardiography to rule out the presence of heart failure should be used. Once the diagnosis of heart failure is established it will be important to define the phenotype according to the left ventricular function and, where appropriate, use additional tests to identify possible additional underlying causes of heart failure like coronary artery disease. A multidisciplinary heart failure management programs is recommended in all patients with diabetes mellitus and heart failure to enable appropriate investigations, accurate diagnosis, and appropriate agreed evidence-based therapy and care plan. The implementation of a multidisciplinary heart failure management program requires a multidisciplinary team that will have to follow the patients throughout the whole heart failure trajectory and that should consider a holistic approach to the diabetic patient with heart failure rather than focussing merely on either heart failure or diabetes.

Anker SD, Starling RC, Khan MS, Friede T, Filippatos G, Lindenfeld J, Stephan von Bardeleben R, Coats AJS, Butler J.

Percutaneous mitral valve annuloplasty in patients with secondary mitral regurgitation and severe left ventricular enlargement.

JACC Heart Fail. 2021 Jun;9(6):453-462.

This study sought to determine the effect of percutaneous mitral valve annuloplasty with the Carillon device versus guideline-directed medical therapy (GDMT) alone in patients with secondary mitral regurgitation (MR) and severe left ventricular (LV) enlargement.

The clinical impact of the Carillon device in patients with severe LV dilation is not well established.

This is a pooled analysis involving 3 prospective trials (TITAN [Transcatheter Implantation of Carillon Mitral Annuloplasty Device], TITAN II, and REDUCE FMR [CARILLON Mitral Contour System for Reducing Functional Mitral Regurgitation] trials) in which patients with functional MR and severe LV enlargement (LV end-diastolic diameter >65 mm) were treated with GDMT and the Carillon device versus GDMT alone. Key outcomes of this analysis were changes over 1 year of follow-up in mitral valve and LV echocardiographic parameters, functional outcome, quality of life, mortality, and heart failure hospitalization (HFH).

A total of 95 patients (67 in the Carillon group, 28 in the GDMT group) with severe LV enlargement were included. In the Carillon group, all mitral valve and LV morphology parameters were significantly improved at 1 year. Regurgitant volume decreased by 12 ml ($p < 0.001$), MR grade decreased by 0.6 U ($p < 0.001$), LV end-diastolic volume decreased by 25 cm³ ($p = 0.005$), and LV end-systolic volume decreased by 21 cm³ ($p = 0.01$). Significant functional improvement differences were also noted between the Carillon group and the GDMT group including an improvement of Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire score (15 ± 4 vs. 6 ± 6 ; $p = 0.03$). The incidence of HFH was 29.9% versus 50.0% and the cumulative rate of HFH was 0.43 versus 0.75 ($p < 0.001$).

In patients with functional MR and severe LV enlargement, the Carillon device improved mitral valve function, LV morphology, and functional outcome compared with patients receiving GDMT only. Preoperative LV dimension should not be a limiting factor when evaluating patient eligibility or anticipated response to therapy with the Carillon device.

Uchmanowicz I, Vitale C, Hill L, Jaarsma T.

Can we prevent 'frailtyism'?

Eur J Cardiovasc Nurs. 2021 May 31:zvab031. Epub ahead of print.

Molinari F, Feraco A, Mirabilii S, Saladini S, Sansone L, Vernucci E, Tomaselli G, Marzolla V, Rotili D, Russo MA, Ricciardi MR, Tafuri A, Mai A, Caprio M, Tafani M, Armani A.

SIRT5 inhibition induces brown fat-like phenotype in 3T3-L1 preadipocytes.

Cells. 2021 May 7;10(5):1126.

Brown adipose tissue (BAT) activity plays a key role in regulating systemic energy. The activation of BAT results in increased energy expenditure, making this tissue an attractive pharmacological target for therapies against obesity and type 2 diabetes. Sirtuin 5 (SIRT5) affects BAT function by regulating

adipogenic transcription factor expression and mitochondrial respiration. We analyzed the expression of SIRT5 in the different adipose depots of mice. We treated 3T3-L1 preadipocytes and mouse primary preadipocyte cultures with the SIRT5 inhibitor MC3482 and investigated the effects of this compound on adipose differentiation and function. The administration of MC3482 during the early stages of differentiation promoted the expression of brown adipocyte and mitochondrial biogenesis markers. Upon treatment with MC3482, 3T3-L1 adipocytes showed an increased activation of the AMP-activated protein kinase (AMPK), which is known to stimulate brown adipocyte differentiation. This effect was paralleled by an increase in autophagic/mitophagic flux and a reduction in lipid droplet size, mediated by a higher lipolytic rate. Of note, MC3482 increased the expression and the activity of adipose triglyceride lipase, without modulating hormone-sensitive lipase. Our findings reveal that SIRT5 inhibition stimulates brown adipogenesis in vitro, supporting this approach as a strategy to stimulate BAT and counteract obesity.

Seferović PM, Tsutsui H, McNamara DM, Ristić AD, Basso C, Bozkurt B, Cooper LT Jr, Filippatos G, Ide T, Inomata T, Klingel K, Linhart A, Lyon AR, Mehra MR, Polovina M, Milinković I, Nakamura K, Anker SD, Veljić I, Ohtani T, Okumura T, Thum T, Tschöpe C, **Rosano G**, Coats AJS, Starling RC.
Heart Failure Association of the ESC, Heart Failure Society of America and Japanese Heart Failure Society Position statement on endomyocardial biopsy.
Eur J Heart Fail. 2021 May 19.

Endomyocardial biopsy (EMB) is an invasive procedure, globally most often used for the monitoring of heart transplant (HTx) rejection. In addition, EMB can have an important complementary role to the clinical assessment in establishing the diagnosis of diverse cardiac disorders, including myocarditis, cardiomyopathies, drug-related cardiotoxicity, amyloidosis, other infiltrative and storage disorders, and cardiac tumours. Improvements in EMB equipment and the development of new techniques for the analysis of EMB samples have significantly improved diagnostic precision of EMB. The present document is the result of the Trilateral Cooperation Project between the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, the Heart Failure Society of America, and the Japanese Heart Failure Society. It represents an expert consensus aiming to provide a comprehensive, up-to-date perspective on EMB, with a focus on the following main issues: (i) an overview of the practical approach to EMB, (ii) an update on indications for EMB, (iii) a revised plan for HTx rejection surveillance, (iv) the impact of multimodality imaging on EMB, and (v) the current clinical practice in the worldwide use of EMB.

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 LH, 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. Europace.
2021 May 25:euaa411. Epub ahead of print.

Cardiac resynchronization therapy (CRT) is one of the most effective therapies for heart failure with reduced ejection fraction and leads to improved quality of life, reductions in heart failure hospitalization rates and all-cause mortality. Nevertheless, up to two-thirds of eligible patients are not referred for CRT. Furthermore, post-implantation follow-up is often fragmented and suboptimal, hampering the potential maximal treatment effect. This joint position statement from three European Society of Cardiology Associations, Heart Failure Association (HFA), European Heart Rhythm Association (EHRA) and European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI), focuses on optimized implementation of CRT. We offer theoretical and practical strategies to achieve more comprehensive CRT referral and post-procedural care by focusing on four actionable domains: (i) overcoming CRT under-utilization, (ii) better understanding of pre-implant characteristics, (iii) abandoning the term 'non-response' and replacing this

by the concept of disease modification, and (iv) implementing a dedicated post-implant CRT care pathway.

Ameri P, Bertero E, Maack C, Teerlink JR, Rosano G, Metra M.

Medical treatment of heart failure with reduced ejection fraction: the dawn of a new era of personalized treatment?

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2021 Nov 3;7(6):539-546.

Recent trials have shown the efficacy of new drugs for the medical therapy of heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF). Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors (SGLT2is) reduced hospitalizations for heart failure (HF), HF events, and cardiovascular death in patients with HFrEF or hospitalized for HF. Iron repletion with ferric carboxymaltose (FCM) improved symptoms, functional capacity, and quality of life in chronic HFrEF patients, and decreased the risk of subsequent HF hospitalizations in subjects with acutely decompensated HF. New-generation potassium binders may allow initiation and up-titration of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors (RASis). Lastly, the guanylate cyclase stimulator vericiguat and the myosin activator omecamtiv mecarbil reduced the primary endpoint in two major controlled trials. These results open novel pathways for the treatment of HFrEF. This review discusses new opportunities of an individualized approach to HFrEF pharmacotherapy, where new compounds expand a spectrum of drugs that target primarily neuroendocrine activation. SGLT2i can be safely applied once daily at a fixed dose to the vast majority of patients with HFrEF, including those with moderate renal dysfunction and/or systolic blood pressure as low as 95-100 mmHg. Additional medications are suitable for more specific phenotypes, with ivabradine providing benefit in patients with sinus rhythm and heart rates ≥ 70 b.p.m., FCM in the presence of iron deficiency, and potassium-lowering agents to implement RASi when hyperkalaemia occurs. Vericiguat and omecamtiv mecarbil also have potential for tailored approaches towards the haemodynamic status. Thus, a new era is starting for a more personalized medical treatment of HFrEF.

Albrecht A, Porthun J, Eucker J, Coats AJS, von Haehling S, Pezzutto A, Karakas M, Riess H, Keller U, Landmesser U, Haverkamp W, Anker SD, Anker MS.

Spontaneous non-sustained ventricular tachycardia and premature ventricular contractions and their prognostic relevance in patients with cancer in routine care.

Cancers (Basel). 2021 May 12;13(10):2303.

It is largely unknown whether cancer patients seen in routine care show ventricular arrhythmias in 24 h electrocardiograms (ECGs), and whether when they are detected they carry prognostic relevance. We included 261 consecutive cancer patients that were referred to the department of cardiology for 24 h ECG examination and 35 healthy controls of similar age and sex in the analysis. To reduce selection bias, cancer patients with known left ventricular ejection fraction $< 45\%$ were not included in the analysis. Non-sustained ventricular tachycardia (NSVT) episodes of either ≥ 3 and ≥ 4 beats duration were more frequent in cancer patients than controls (17% vs. 0%, $p = 0.0008$; 10% vs. 0%, $p = 0.016$). Premature ventricular contractions (PVCs)/24 h were not more frequent in cancer patients compared to controls (median (IQR), 26 (2-360) vs. 9 (1-43), $p = 0.06$; ≥ 20 PVCs 53% vs. 37%, $p = 0.07$). During follow-up, (up to 7.2 years, median 15 months) of the cancer patients, 158 (61%) died (1-/3-/5-year mortality rates: 45% [95%CI 39-51%], 66% [95%CI 59-73%], 73% [95%CI 64-82%]). Both non-sustained ventricular tachycardia of ≥ 4 beats and ≥ 20 PVCs/24 h independently predicted mortality in univariate and multivariate survival analyses, adjusted for all other univariate predictors of mortality as well as relevant clinical factors, including cancer stage and type, performance status (ECOG), prior potentially cardiotoxic anti-cancer drug therapy, coronary artery disease, potassium concentration, and haemoglobin (multivariate adjusted hazard ratios: NSVT ≥ 4 beats [HR 1.76, $p = 0.022$], ≥ 20 PVCs/24 h [HR 1.63, $p < 0.0064$]). NSVT ≥ 4 beats and ≥ 20 PVCs/day seen in routine 24 h ECGs of patients with cancer carry prognostic relevance.

Savarese G, Bodegard J, Norhammar A, Sartipy P, Thuresson M, Cowie MR, Fonarow GC, Vaduganathan M, Coats AJS.

Heart failure drug titration, discontinuation, mortality and heart failure hospitalization risk: a multinational observational study (US, UK and Sweden).

Eur J Heart Fail. 2021 Jun 15. Epub ahead of print

Use and dosing of guideline-directed medical therapy (GDMT) in patients with heart failure (HF) have been shown to be suboptimal. Among new users of GDMT in HF, we followed the real-life patterns of dose titration and discontinuation of angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEi), angiotensin receptor blockers (ARB), beta-blockers, mineralocorticoid receptor antagonists (MRA) and angiotensin receptor-neprilysin inhibitors (ARNI).

New users were identified in health care databases in Sweden, UK and US between 2016-2019. Inclusion criterion was a recent HF hospitalization (HHF) triggering the initiation of GDMT. Patients were grouped by GDMT, i.e. ACEi, ARB, beta-blocker, MRA and ARNI, and stratified by initial dose. Follow-up was 12 months, until death or study end. Outcomes were dose titration within each drug class, discontinuation and first HHF or death. Dose/discontinuation follow-up was assessed daily based on the coverage length of a filled prescription and reported on day 365. New users of ACEi (n = 8426), ARB (n = 2303), beta-blockers (n = 10 476), MRA (n = 17 421), and ARNI (n = 29 546) were identified. Over 12 months, target dose achievement was 15%, 10%, 12%, 30%, and discontinuation was 55%, 33%, 24% and 27% for ACEi, ARB, beta-blockers and ARNI, respectively. MRA was rarely titrated and discontinuation rates were high (40%). Event rates for HHF or death ranged from 40.0-86.9 per 100 patient-years across the treatment groups.

Despite high risk of clinical events following HHF, new initiation of GDMT was followed by consistent patterns of low up-titration and early GDMT discontinuation in three countries with different health care and economies. Our data highlight the urgent need for moving away from long sequential approach when initiating HF treatment and for improving just-in-time decision support for patients and health care providers.

Perrone MA, Volterrani M, Manzi V, Barchiesi F, Iellamo F.

Heart rate variability modifications in response to different types of exercise training in athletes.

J Sports Med Phys Fitness. 2021 Oct;61(10):1411-1415.

Spectral analysis of heart rate variability (HRV) is a long-standing technique to indirectly assess neural cardiac regulation. This article specifically addressed how spectral analysis of HRV could help to understand neural cardiovascular adaptations to long-term exercise training; and inform us on training status in athletes. We reviewed literature searching for articles investigating resting cardiovascular adaptations to long-term exercise training through spectral analysis of HRV in athletes, from amateur to world class categories, practicing different sport disciplines, and focusing, in particular, on a series of work performed over time in our laboratory, which may highlight how different types of exercise training differently affect neural cardiac regulation. Spectral analysis of HRV has been shown its capability of detecting different adaptational changes in cardiac autonomic nervous system (ANS) regulation attending physical training in athletes of different sport disciplines. Studies showed that spectral analysis of HRV provide results that are sport-dependent and differ at individual level. ANS adaptations to exercise training are presented and discussed. Reported studies indicate that spectral analysis of HRV is an effective tool to monitor and optimize the training process and to predict athletic achievements in competitions. Cardiac ANS adaptations are strongly dependant on the type of training being performed. The individual nature of cardiac ANS adaptations should be considered to properly interpret the observed findings.

Annino G, Manzi V, Buselli P, Ruscello B, Franceschetti F, Romagnoli C, Cotelli F, Casasco M, Padua E, Iellamo F.

Acute effects of whole-body vibrations on the fatigue induced by multiple repeated sprint ability test in soccer players.

J Sports Med Phys Fitness. 2021 Jun 22. Online ahead of print.

We tested the hypothesis that Whole Body Vibration (WBV) positively affects the fatigue process ensuing from repeated bouts of maximal efforts, as induced by repeated sprints ability (RSA). Eleven male soccer players performed three sets of six repeated shuttle sprints (40 metres).

Eleven male soccer players (age $23,6 \pm 4,5$ years) were cross-randomized to perform WBV before RSA and during the recovery between sets (WBV-with) or to warm-up and passive recovery between sets (WBV-without). The effects of WBV were quantified by sprint time (ST) and blood lactate concentration (LA), collected up to 15th min after completion of tests.

ST during RSA showed a better maintenance of performance in the WBV-with compared to WBV-without condition in all three sets, reaching a statistical significance between-groups during the 2nd and 3rd set ($P < 0.05$). No significant differences in ST over the sets were detected in WBV-with, whereas a significant decrease was observed in the WBV-without condition ($P < 0.001$). LA recovered significantly faster from the 9th to 15th minute of recovery in WBV-with as compared to WBV-without ($P < 0.05$).

These findings would indicate that WBV performed during recovery between RSA sets is capable of delaying the onset of muscle fatigue resulting in a better maintenance of sprint performance.

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

Subgroup analyses in randomized clinical trials: value and limitations review #3 on important aspects of randomized clinical trials in cardiovascular pharmacotherapy.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2021 Jun 28:pva048. Online ahead of print.

Herrington WG, Savarese G, Haynes R, Marx N, Mellbin L, Lund LH, Dendale P, Seferovic P, Rosano G, Staplin N, Baigent C, Cosentino F.

Cardiac, renal, and metabolic effects of sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors: a position paper from the European Society of Cardiology ad-hoc task force on sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors.

Eur J Heart Fail. 2021 Aug;23(8):1260-1275.

In 2015, the first large-scale placebo-controlled trial designed to assess cardiovascular safety of glucose-lowering with sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibition in type 2 diabetes mellitus raised hypotheses that the class could favourably modify not only risk of atherosclerotic cardiovascular disease, but also hospitalization for heart failure, and the development or worsening of nephropathy. By the start of 2021, results from 10 large SGLT2 inhibitor placebo-controlled clinical outcome trials randomizing ~71 000 individuals have confirmed that SGLT2 inhibitors can provide clinical benefits for each of these types of outcome in a range of different populations. The cardiovascular and renal benefits of SGLT2 inhibitors appear to be larger than their comparatively modest effect on glycaemic control or glycosuria alone would predict, with three trials recently reporting that clinical benefits extend to individuals without diabetes mellitus who are at risk due to established heart failure, or albuminuric chronic kidney disease. This European Society of Cardiology position paper summarizes reported results from these 10 large clinical outcome trials considering separately each of the different types of cardiorenal benefit, summarizes key molecular and pathophysiological mechanisms, and provides a synopsis of metabolic effects and safety. We also describe ongoing placebo-controlled trials among individuals with heart failure with preserved ejection fraction and among individuals with chronic kidney disease.

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. 2021 Feb;23(2):321-323.

Coats AJS.

Exergaming for heart failure: an idea so good it just ought to work.

Eur J Heart Fail. 2021 Jan;23(1):125-126.

Anker SD, Atherton J, Böhm M, Butler J, Drazner MH, Michael Felker G, Filippatos G, Fiuzat M, Fonarow GC, Gomez-Mesa JE, Heidenreich P, Imamura T, Jankowska EA, Januzzi J, Khazanie P, Kinugawa K, Lam CSP, Matsue Y, Metra M, Ohtani T, Francesco Piepoli M, Ponikowski P, Rosano GMC, Sakata Y, Seferović P, Starling RC, Teerlink JR, Vardeny O, Yamamoto K, Yancy C, Zhang J, Zieroth S.

Universal definition and classification of heart failure: a report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition of Heart Failure: Endorsed by the Canadian Heart Failure Society, Heart Failure Association of India, Cardiac Society of Australia and New Zealand, and Chinese Heart Failure Association.

Eur J Heart Fail. 2021 Mar;23(3):352-380.

In this document, we propose a universal definition of heart failure (HF) as a clinical syndrome with symptoms and/or signs caused by a structural and/or functional cardiac abnormality and corroborated by elevated natriuretic peptide levels and/or objective evidence of pulmonary or systemic congestion. We also propose revised stages of HF as: At risk for HF (Stage A), Pre-HF (Stage B), Symptomatic HF (Stage C) and Advanced HF (Stage D). Finally, we propose a new and revised classification of HF according to left ventricular ejection fraction (LVEF). This includes HF with reduced ejection fraction (HFrEF): symptomatic HF with LVEF $\leq 40\%$; HF with mildly reduced ejection fraction (HFmrEF): symptomatic HF with LVEF 41-49%; HF with preserved ejection fraction (HFpEF): symptomatic HF with LVEF $\geq 50\%$; and HF with improved ejection fraction (HFimpEF): symptomatic HF with a baseline LVEF $\leq 40\%$, a ≥ 10 point increase from baseline LVEF, and a second measurement of LVEF $> 40\%$.

Strollo F, Vernikos J.

Ageing-like metabolic and adrenal changes in microgravity: state of the art in preparation for Mars.

Neurosci Biobehav Rev. 2021 Jul;126:236-242.

Endocrine and metabolic changes that typically accompany aging on Earth have been consistently observed in space. Support for the role of gravity in aging has mostly come from ground simulation studies in head down bed rest. However, uncertainties remain and have to be resolved in planning for the ambitious enterprise of sending humans to Mars and back. Stress-related corticosteroid changes and metabolic adaptation to microgravity and their relationship with aging are the object of the present review mostly, albeit of course non exclusively, coming from the personal experience of the authors. The picture coming out of it is that of some, not easily proven, stress-induced cortisol increase accompanied by insulin resistance, both of which represent typical aging-like phenomena mediated by chronic low-grade inflammation. This suggests the need for humans to consider the long journey to safely land, live and work on Mars by taking advantage of integrative medicine solutions including synthetic torpor and/or continuous self-monitoring of eating, sleeping, moving to enable remotely supervised self-treatment.

Ferrari R, Pavasini R, Censi S, Squeri A, Rosano G.

The New ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes: the good and the not so good.

Curr Probl Cardiol. 2021 Mar;46(3):100554.

During the annual meeting in Paris, the European Society of Cardiology released the new guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes that will replace the 2013 guidelines on stable coronary artery disease. We intend to provide a brief commentary on what, in our opinion, is good and what is not as good. Our careful analysis shows that the 2019 guidelines contain a number of positive innovations, including a new definition, a central role of non-invasive testing for myocardial ischaemia, the most contemporary prevalence of the disease, the fact that medical therapy remains paramount despite the important advances in revascularisation and many other good issues as well as some limitations. The section on medical therapy of chronic coronary syndromes patients shows some inconsistency between text and the suggested scheme as well as contradictions with recommendations of regulatory agencies. It is not immediate to appreciate what is good and what is not so good in guidelines, which are often read in a hurry. We have provided a short commentary for the readers who usually concentrate more on the figures and flowcharts rather than on the text.

Nuzzi V, Merlo M, Specchia C, 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, Oriecua C, Peveri G, Pozzi A, Provenzale G, Sarullo F, Tomasoni D, Ameri P, Gnechi M, Leonardi S, Agostoni P, Carugo S, Danzi GB, Guazzi M, La Rovere MT, Mortara A, Piepoli M, Porto I, Volterrani M, Senni M, Metra M, Sinagra G.

The prognostic value of serial troponin measurements in patients admitted for COVID-19.

ESC Heart Fail. 2021 Oct;8(5):3504-3511.

Myocardial injury (MI) in coronavirus disease-19 (COVID-19) is quite prevalent at admission and affects prognosis. Little is known about troponin trajectories and their prognostic role. We aimed to describe the early in-hospital evolution of MI and its prognostic impact.

We performed an analysis from an Italian multicentre study enrolling COVID-19 patients, hospitalized from 1 March to 9 April 2020. MI was defined as increased troponin level. The first troponin was tested within 24 h from admission, the second one between 24 and 48 h. Elevated troponin was defined as values above the 99th percentile of normal values. Patients were divided in four groups: normal, normal then elevated, elevated then normal, and elevated. The outcome was in-hospital death. The study population included 197 patients; 41% had normal troponin at both evaluations, 44% had elevated troponin at both assessments, 8% had normal then elevated troponin, and 7% had elevated then normal troponin. During hospitalization, 49 (25%) patients died. Patients with incident MI, with persistent MI, and with MI only at admission had a higher risk of death compared with those with normal troponin at both evaluations ($P < 0.001$). At multivariable analysis, patients with normal troponin at admission and MI injury on Day 2 had the highest mortality risk (hazard ratio 3.78, 95% confidence interval 1.10-13.09, $P = 0.035$).

In patients admitted for COVID-19, re-test MI on Day 2 provides a prognostic value. A non-negligible proportion of patients with incident MI on Day 2 is identified at high risk of death only by the second measurement.

Bayes-Genis A, Januzzi JL, Richards AM, Arfsten H, de Boer RA, Emdin M, González A, Jaarsma T, Jhund PS, Mueller C, Núñez J, Rossignol P, Milinkovic I, Rosano GMC, Coats A, Seferovic P. **The 'Peptide for Life' Initiative: a call for action to provide equal access to the use of natriuretic peptides in the diagnosis of acute heart failure across Europe.**

Eur J Heart Fail. 2021 Sep;23(9):1432-1436.

Elliott P, Cowie MR, Franke J, Ziegler A, Antoniadou C, Bax J, Bucciarelli-Ducci C, Flachskampf FA, Hamm C, Jensen MT, Katus H, Maisel A, McDonagh T, Mittmann C, Muntendam P, Nagel E, Rosano G, Twerenbold R, Zannad F.

Development, validation, and implementation of biomarker testing in cardiovascular medicine state-of-the-art: proceedings of the European Society of Cardiology- Cardiovascular Round Table.

Cardiovasc Res. 2021 Apr 23;117(5):1248-1256.

Many biomarkers that could be used to assess ejection fraction, heart failure, or myocardial infarction fail to translate into clinical practice because they lack essential performance characteristics or fail to meet regulatory standards for approval. Despite their potential, new technologies have added to the complexities of successful translation into clinical practice. Biomarker discovery and implementation require a standardized approach that includes: identification of a clinical need; identification of a valid surrogate biomarker; stepwise assay refinement, demonstration of superiority over current standard-of-care; development and understanding of a clinical pathway; and demonstration of real-world performance. Successful biomarkers should improve efficacy or safety of treatment, while being practical at a realistic cost. Everyone involved in cardiovascular healthcare, including researchers, clinicians, and industry partners, are important stakeholders in facilitating the development and implementation of biomarkers. This article provides suggestions for a development pathway for new biomarkers, discusses regulatory issues and challenges, and suggestions for accelerating the pathway to improve patient outcomes. Real-life examples of successful biomarkers-high-sensitivity cardiac troponin, T2* cardiovascular magnetic resonance imaging, and echocardiography-are used to illustrate the value of a standardized development pathway in the translation of concepts into routine clinical practice.

Rosano GMC, Vitale C, Savarese G.

Sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors in heart failure.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. Volume 7, Issue 3, May 2021, Pages e9–e10

During the past 2 decades, significant advances in drug treatment have improved the prognosis of patients with heart failure with reduced ejection fraction.

More recently, the SGLT2i has demonstrated an un-expected significant and consistent effect in patients with HFrEF. The serendipity of these drugs started with the evidence of the effect of canagliflozin, dapagliflozin, and empagliflozin in reducing hospitalizations for heart failure in patients with diabetes mellitus (DM) where these drugs were tested to prove their safety. Meta-analyses of the cardiovascular outcome studies in diabetic patients consistently demonstrated that SGLT2 inhibitors, as a class, reduced the risk of hHF by 31–32% in patients with DM, and that event reductions were similar in comparable patient populations.¹ *Post hoc* analyses of the studies in DM provided more insights on the effect of SGLT2 inhibitors in HFrEF. An analysis of the CANVAS programme found that canagliflozin reduced the overall risk of HFrEF hospitalization or death (hazard ratio: 0.69; 95% confidence interval: 0.48–1.00]. A *post hoc* analysis of DECLARE-TIMI 58 suggested a 45% risk reduction for CV death and a 51% risk reduction in all-cause death in patients with a history of HFrEF receiving dapagliflozin.

Boosted by these results trials with SGLT2i were rolled out in patients with HFrEF. The DAPA-HF was the first of these studies to investigate the treatment of HF in patients with HFrEF with and without T2DM.² The study demonstrated a 26% reduction in the primary endpoint of cardiovascular death and hospitalizations for HFrEF, a 30% reduction in hospitalizations for HFrEF, and an 18% reduction in death from CV causes. This effect was similar in patients with and without DM. The EMPEROR-Reduced study with empagliflozin demonstrated a 25% reduction in the composite endpoint of hospitalizations for HFrEF and cardiovascular mortality.³ This effect was primarily driven by a 30% reduced rates of hospitalizations for HFrEF.

More recently, the results of the SOLOIST-WHF trial with the dual SGLT1/SGLT2 inhibitor sotagliflozin in diabetic patients with heart failure have been reported.⁴ The study was stopped early because of lack of funding and its primary endpoint had been revised by the steering committee to increase the power of the trial before the analysis of the results. Nevertheless, a robust 33% reduction in the revised primary

endpoint and a 32% reduction in the original primary endpoint of cardiovascular mortality and hospitalizations for HF were reported.

All the above studies also demonstrated a significant reduction in the rate of renal disease progression even in patients with severely reduced eGFR. Thereby suggesting that these drugs can be safely used even in patients with severely impaired renal function.

The results from the available studies with SGLT2i in HFrEF suggest a completely new approach to HF management. They strongly support the rationale for the use of SGLT2 inhibitors in patients with HFrEF, which must impact future clinical practice. These results establish a new standard of care in HFrEF consisting of SGLT2i be used from the beginning, together with neuro-hormonal inhibition to reduce mortality and morbidity and to slow the progression of the disease.

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

Implications of atrial fibrillation on the clinical course and outcomes of hospitalized COVID-19 patients: results of the Cardio-COVID-Italy multicentre study.

Europace. 2021 Oct 9;23(10):1603-1611.

To assess the clinical relevance of a history of atrial fibrillation (AF) in hospitalized patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19).

We enrolled 696 consecutive patients (mean age 67.4 ± 13.2 years, 69.7% males) admitted for COVID-19 in 13 Italian cardiology centres between 1 March and 9 April 2020. One hundred and six patients (15%) had a history of AF and the median hospitalization length was 14 days (interquartile range 9-24). Patients with a history of AF were older and with a higher burden of cardiovascular risk factors. Compared to patients without AF, they showed a higher rate of in-hospital death (38.7% vs. 20.8%; $P < 0.001$). History of AF was associated with an increased risk of death after adjustment for clinical confounders related to COVID-19 severity and cardiovascular comorbidities, including history of heart failure (HF) and increased plasma troponin [adjusted hazard ratio (HR): 1.73; 95% confidence interval (CI) 1.06-2.84; $P = 0.029$]. Patients with a history of AF also had more in-hospital clinical events including new-onset AF (36.8% vs. 7.9%; $P < 0.001$), acute HF (25.3% vs. 6.3%; $P < 0.001$), and multiorgan failure (13.9% vs. 5.8%; $P = 0.010$). The association between AF and worse outcome was not modified by previous or concomitant use of anticoagulants or steroid therapy (P for interaction >0.05 for both) and was not related to stroke or bleeding events. Among hospitalized patients with COVID-19, a history of AF contributes to worse clinical course with a higher mortality and in-hospital events including new-onset AF, acute HF, and multiorgan failure. The mortality risk remains significant after adjustment for variables associated with COVID-19 severity and comorbidities.

Lombardo M, Bellia C, Aulisa G, Pratesi A, Perrone MA, Padua E, Bellia, A.

The different daily distribution of proteins doesnotinfluence the variations in body composition in a sample of subjects undergoing a low-calorie mediterranean-type diet.

Minerva gastroenterology, 67(2), 183-189.

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 randomized homogeneous sample of two groups with equal daily caloric reduction but different protein distributions between meals.

Forty-seven men and women (mean age: 32 ± 10 years; Body Mass Index: 28.4 ± 2.4 kg/m²) 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/kg/day) and were randomized 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.

McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, Burri H, Butler J, Čelutkienė J, Chioncel O, Cleland JGF, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Farmakis D, Gilard M, Heymans S, Hoes AW, Jaarsma T, Jankowska EA, Lainscak M, Lam CSP, Lyon AR, McMurray JJV, Mebazaa A, Mindham R, Muneretto C, Francesco Piepoli M, Price S, **Rosano GMC**, Ruschitzka F, Kathrine Skibelund A; ESC Scientific Document Group.

2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure.

Eur Heart J. 2021 Sep 21;42(36):3599-3726.

Manolis Aj, Boden We, Collins P, Dechend R, Kallistratos Ms, Lopez Sendon J, Poulimenos L E, Ambrosio G, Rosano G.

State of the art approach to managing angina and ischemia: tailoring treatment to the evidence.

Eur J Intern Med. 2021 Oct;92:40-47.

Stable angina represents a chronic and often debilitating condition that affects daily activities and quality of life in patients with chronic coronary syndromes (CCS). Current European Society of Cardiology guidelines recommend a four-step approach for the medical treatment of patients taking into consideration hemodynamic variables (heart rate and blood pressure) and the presence or absence of left ventricular dysfunction. However, CCS patients often have several comorbidities and risk factors. Thus, a tailored approach that takes into consideration patient risk factors and comorbidities may have additional benefits beyond angina relief. This is a state of the art review of stable angina treatment based on the currently available evidence.

Seferovic P, Ruschitzka F, Metra M, Anker S, Filippatos G, Altenberger J, Adamopoulos S, Barak Y, Chioncel O, de Jonge N, Elliston J, Frigerio M, Goncalvesova E, Gotsman I, Grupper A, Hamdan R, Hammer Y, Hasin T, Hill L, Itzhaki Ben Zadok O, Abuhazira M, Lavee J, Mullens W, Nalbantgil S, Piepoli MF, Ponikowski P, Potena L, Ristic A, Ruhparwar A, Shaul A, Tops LF, Tsui S, Winnik S, Jaarsma T, Gustafsson F.

Guidance on the management of left ventricular assist device (LVAD) supported patients for the non-LVAD specialist healthcare provider: executive summary.

Eur J Heart Fail. 2021 Oct;23(10):1597-1609.

The accepted use of left ventricular assist device (LVAD) technology as a good alternative for the treatment of patients with advanced heart failure together with the improved survival of patients on the device and the scarcity of donor hearts has significantly increased the population of LVAD supported patients. Device-related, and patient-device interaction complications impose a significant burden on the medical system exceeding the capacity of LVAD implanting centres. The probability of an LVAD supported patient presenting with medical emergency to a local ambulance team, emergency department medical team and internal or surgical wards in a non-LVAD implanting centre is increasing. The purpose of this paper is to supply the immediate tools needed by the non-LVAD specialized physician - ambulance clinicians, emergency ward physicians, general cardiologists, and internists - to

comply with the medical needs of this fast-growing population of LVAD supported patients. The different issues discussed will follow the patient's pathway from the ambulance to the emergency department, and from the emergency department to the internal or surgical wards and eventually back to the general practitioner.

Marzullo P, Bettini S, Menafra D, Aprano S, Muscogiuri G, Barrea L, Savastano S, Colao A, Obesity Programs of nutrition, Education, Research and Assessment (OPERA) group.

Spot-light on microbiota in obesity and cancer.

Int J Obes (Lond). 2021 Aug 6. Epub ahead of print.

Over the last few years, the complexity and diversity of gut microbiota within and across individuals has been detailed in relation to human health. Further, understanding of the bidirectional association between gut microbiota and metabolic disorders has highlighted a complimentary, yet crucial role for microbiota in the onset and progression of obesity-related cancers. While strategies for cancer prevention and cure are known to work efficiently when supported by healthy diet and lifestyle choices and physical activity, emerging evidence suggests that the complex interplay relating microbiota both to neoplastic and metabolic diseases could aid strategies for cancer treatment and outcomes. This review will explore the experimental and clinical grounds supporting the functional role of gut microbiota in the pathophysiology and progression of cancers in relation to obesity and its metabolic correlates. Therapeutic approaches aiding microbiota restoration in connection with cancer treatments will be discussed.

Rosano GMC, Jankowska EA, Anker SD, Lund LH, Savarese G.

Phenotyping heart failure patients for iron deficiency and use of intravenous iron therapy: data from the Swedish Heart Failure Registry.

Eur J Heart Fail. 2021 Sep 3. doi: 10.1002/ejhf.2338. Epub ahead of print.

Iron deficiency (ID) is associated with poor prognosis regardless of anaemia. Intravenous iron improves quality of life and outcomes in patients with ID and heart failure (HF) with reduced ejection fraction (HFrEF). In the Swedish HF registry, we assessed (i) frequency and predictors of ID testing; (ii) prevalence and outcomes of ID with/without anaemia; (iii) use of ferric carboxymaltose (FCM) and its predictors in patients with ID.

We used multivariable logistic regressions to assess patient characteristics independently associated with ID testing/FCM use, and Cox regressions to assess risk of outcomes associated with ID. Of 21 496 patients with HF and any ejection fraction enrolled in 2017-2018, ID testing was performed in 27%. Of these, 49% had ID and more specifically 36% had ID-/anaemia-, 15% ID-/anaemia+, 29% ID+/anaemia-, and 20% ID+/anaemia+ (48%, 39%, 13%, 30% and 18% in HFrEF, respectively). Risk of recurrent all-cause hospitalizations was higher in patients with ID regardless of anaemia. Of 1959 patients with ID, 19% received FCM (24% in HFrEF). Important independent predictors of ID testing and FCM use were anaemia, higher New York Heart Association class, having HFrEF, and referral to HF specialty care.

In this nationwide HF registry, ID testing occurred in only about a quarter of the patients. Among tested patients, ID was present in one half, but only one in five patients received FCM indicating low adherence to current guidelines on screening and treatment.

Ben Avraham B, Crespo-Leiro MG, Filippatos G, Gotsman I, Seferovic P, Hasin T, Potena L, Milicic D, Coats AJS, Rosano G, Ruschitzka F, Metra M, Anker S, Altenberger J, Adamopoulos S, Barac YD, Chioncel O, De Jonge N, Elliston J, Frigeiro M, Goncalvesova E, Grupper A, Hamdan R, Hammer Y, Hill L, Itzhaki Ben Zadok O, Abuhazira M, Lavee J, Mullens W, Nalbantgil S, Piepoli MF, Ponikowski P, Ristic A, Ruhparwar A, Shaul A, Tops LF, Tsui S, Winnik S, Jaarsma T, Gustafsson F, Ben Gal T.

HFA of the ESC Position paper on the management of LVAD supported patients for the non LVAD specialist healthcare provider Part 1: Introduction and at the non-hospital settings in the community.

ESC Heart Fail. 2021 Dec;8(6):4394-4408.

The accepted use of left ventricular assist device (LVAD) technology as a good alternative for the treatment of patients with advanced heart failure together with the improved survival of the LVAD-supported patients on the device and the scarcity of donor hearts has significantly increased the population of LVAD-supported patients. The expected and non-expected device-related and patient-device interaction complications impose a significant burden on the medical system exceeding the capacity of the LVAD implanting centres. The ageing of the LVAD-supported patients, mainly those supported with the 'destination therapy' indication, increases the risk for those patients to experience comorbidities common in the older population. The probability of an LVAD-supported patient presenting with medical emergency to a local emergency department, internal, or surgical ward of a non-LVAD implanting centre is increasing. The purpose of this trilogy is to supply the immediate tools needed by the non-LVAD specialized physician: ambulance clinicians, emergency ward physicians, general cardiologists, internists, anaesthesiologists, and surgeons, to comply with the medical needs of this fast-growing population of LVAD-supported patients. The different issues discussed will follow the patient's pathway from the ambulance to the emergency department and from the emergency department to the internal or surgical wards and eventually to the discharge home from the hospital back to the general practitioner. In this first part of the trilogy on the management of LVAD-supported patients for the non-LVAD specialist healthcare provider, after the introduction on the assist devices technology in general, definitions and structured approach to the assessment of the LVAD-supported patient in the ambulance and emergency department is presented including cardiopulmonary resuscitation for LVAD-supported patients.

Milicic D, Ben Avraham B, Chioncel O, Barac YD, Goncalvesova E, Grupper A, Altenberger J, Frigeiro M, Ristic A, De Jonge N, Tsui S, Lavee J, Rosano G, Crespo-Leiro MG, Coats AJS, Seferovic P, Ruschitzka F, Metra M, Anker S, Filippatos G, Adamopoulos S, Abuhazira M, Elliston J, Gotsman I, Hamdan R,

Hammer Y, Hasin T, Hill L, Itzhaki Ben Zadok O, Mullens W, Nalbantgil S, Piepoli MF, Ponikowski P, Potena L, Ruhparwar A, Shaul A, Tops LF, Winnik S, Jaarsma T, Gustafsson F, Ben Gal T.

Heart Failure Association of the European Society of Cardiology position paper on the management of left ventricular assist device- supported patients for the non-left ventricular assist device specialist healthcare provider: Part 2: at the emergency department.

ESC Heart Fail. 2021 Dec;8(6):4409-4424.

The improvement in left ventricular assist device (LVAD) technology and scarcity of donor hearts have increased dramatically the population of the LVAD-supported patients and the probability of those patients to present to the emergency department with expected and non-expected device-related and patient-device interaction complications. The ageing of the LVAD-supported patients, mainly those supported with the 'destination therapy' indication, increases the risk for those patients to suffer from other co-morbidities common in the older population. In this second part of the trilogy on the management of LVAD-supported patients for the non-LVAD specialist healthcare provider, definitions and structured approach to the LVAD-supported patient presenting to the emergency department with bleeding, neurological event, pump thrombosis, chest pain, syncope, and other events are presented. The very challenging issue of declaring death in an LVAD-supported patient, as the circulation is artificially preserved by the device despite no other signs of life, is also discussed in detail.

Sokolski M, Trenson S, Sokolska JM, D'Amario D, Meyer P, Poku NK, Biering-Sørensen T, Højbjerg Lassen MC, Skaarup KG, Barge-Caballero E, Pouleur AC, Stolfo D, Sinagra G, Ablasser K,

Muster V, Rainer PP, Wallner M, Chiodini A, Heiniger PS, Mikulicic F, Schwaiger J, Winnik S, Cakmak HA, Gaudenzi M, Mapelli M, Mattavelli I, Paul M, Cabac-Pogorevici I, Bouleti C, Lilliu M, Minoia C, Dauw J, Costa J, Celik A, Mewton N, Montenegro CEL, Matsue Y, Loncar G, Marchel M, Bechlioulis A, Michalis L, Dörr M, Prihadi E, Schoenrath F, Messrogli DR, Mullens W, Lund LH, Rosano GMC, Ponikowski P, Ruschitzka F, Flammer AJ.

Heart failure in COVID-19: the multicentre, multinational PCHF-COVICAV registry.

ESC Heart Fail. 2021 Dec;8(6):4955-4967.

We assessed the outcome of hospitalized coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients with heart failure (HF) compared with patients with other cardiovascular disease and/or risk factors (arterial hypertension, diabetes, or dyslipidaemia). We further wanted to determine the incidence of HF events and its consequences in these patient populations.

International retrospective Postgraduate Course in Heart Failure registry for patients hospitalized with COVID-19 and CardioVascular disease and/or risk factors (arterial hypertension, diabetes, or dyslipidaemia) was performed in 28 centres from 15 countries (PCHF-COVICAV). The primary endpoint was in-hospital mortality. Of 1974 patients hospitalized with COVID-19, 1282 had cardiovascular disease and/or risk factors (median age: 72 [interquartile range: 62-81] years, 58% male), with HF being present in 256 [20%] patients. Overall in-hospital mortality was 25% (n = 323/1282 deaths). In-hospital mortality was higher in patients with a history of HF (36%, n = 92) compared with non-HF patients (23%, n = 231, odds ratio [OR] 1.93 [95% confidence interval: 1.44-2.59], P < 0.001). After adjusting, HF remained associated with in-hospital mortality (OR 1.45 [95% confidence interval: 1.01-2.06], P = 0.041). Importantly, 186 of 1282 [15%] patients had an acute HF event during hospitalization (76 [40%] with de novo HF), which was associated with higher in-hospital mortality (89 [48%] vs. 220 [23%]) than in patients without HF event (OR 3.10 [2.24-4.29], P < 0.001).

Hospitalized COVID-19 patients with HF are at increased risk for in-hospital death. In-hospital worsening of HF or acute HF de novo are common and associated with a further increase in in-hospital mortality.

Savarese G, Lund LH, Rosano GMC, Coats AJ.

New trial evidence and guidelines on heart failure-news from the European Society of Cardiology Congress 2021.

Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 2021 Nov 3;7(6):e89-e90.

Oppedisano F, Mollace R, Tavernese A, Gliozzi M, Musolino V, Macrì R, Carresi C, Maiuolo J, Serra M, Cardamone A, Volterrani M, Mollace V.

PUFA supplementation and heart failure: effects on fibrosis and cardiac remodeling.

Nutrients. 2021 Aug 26;13(9):2965.

Heart failure (HF) characterized by cardiac remodeling is a condition in which inflammation and fibrosis play a key role. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) seems to produce good results. In fact, eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) have anti-inflammatory and antioxidant properties and different cardioprotective mechanisms. In particular, following their interaction with the nuclear factor erythropoietin 2 related factor 2 (NRF2), the free fatty acid receptor 4 (Ffar4) receptor, or the G-protein coupled receptor 120 (GPR120) fibroblast receptors, they inhibit cardiac fibrosis and protect the heart from HF onset. Furthermore, n-3 PUFAs increase the left ventricular ejection fraction (LVEF), reduce global longitudinal deformation, E/e ratio (early ventricular filling and early mitral annulus velocity), soluble interleukin-1 receptor-like 1 (sST2) and high-sensitive C Reactive protein (hsCRP) levels, and increase flow-mediated dilation. Moreover, lower levels of brain natriuretic peptide (BNP) and serum norepinephrine (sNE) are reported and have a positive effect on cardiac hemodynamics. In addition, they reduce cardiac remodeling and inflammation by protecting patients from HF onset after myocardial infarction (MI). The positive effects of PUFA supplementation are associated with treatment duration and a daily dosage of 1-2 g. Therefore, both the European Society of Cardiology (ESC) and the American College of Cardiology/American Heart

Association (ACC/AHA) define dietary supplementation with n-3 PUFAs as an effective therapy for reducing the risk of hospitalization and death in HF patients. In this review, we seek to highlight the most recent studies related to the effect of PUFA supplementation in HF. For that purpose, a PubMed literature survey was conducted with a focus on various in vitro and in vivo studies and clinical trials from 2015 to 2021.

Gustafsson F, Ben Avraham B, Chioncel O, Hasin T, Grupper A, Shaul A, Nalbantgil S, Hammer Y, Mullens W, Tops LF, Elliston J, Tsui S, Milicic D, Altenberger J, Abuhazira M, Winnik S, Lavee J, Piepoli MF, Hill L, Hamdan R, Ruhparwar A, Anker S, Crespo-Leiro MG, Coats AJS, Filippatos G, Metra M, Rosano G, Seferovic P, Ruschitzka F, Adamopoulos S, Barac Y, De Jonge N, Frigerio M, Goncalvesova E, Gotsman I, Itzhaki Ben Zadok O, Ponikowski P, otena L, Ristic A, Jaarsma T, Ben Gal T.

HFA of the ESC position paper on the management of LVAD-supported patients for the non-LVAD specialist healthcare provider Part 3: at the hospital and discharge.

ESC Heart Fail. 2021 Dec;8(6):4425-4443

The growing population of left ventricular assist device (LVAD)-supported patients increases the probability of an LVAD-supported patient hospitalized in the internal or surgical wards with certain expected device related, and patient-device interaction complication as well as with any other comorbidities requiring hospitalization. In this third part of the trilogy on the management of LVAD-supported patients for the non-LVAD specialist healthcare provider, definitions and structured approach to the hospitalized LVAD-supported patient are presented including blood pressure assessment, medical therapy of the LVAD supported patient, and challenges related to anaesthesia and non-cardiac surgical interventions. Finally, important aspects to consider when discharging an LVAD patient home and palliative and end-of-life approaches are described.

Barrea L, Vetrani C, Caprio M, El Ghoch M, Frias-Toral E, Mehta RJ, Mendez V, Moriconi E, Paschou SA, Pazderska A, Savastano S, Colao A, Muscogiuri G.

Nutritional management of type 2 diabetes in subjects with obesity: an international guideline for clinical practice.

Crit Rev Food Sci Nutr. 2021 Sep 23:1-13. Online ahead of print.

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) and obesity represent a global public health problem. Current nutritional recommendations focused on weight loss and overall dietary quality. However, there is no consensus on the optimal macronutrient composition of the diet, particularly for the long-term management of T2DM in subjects with obesity. An international panel of experts reviewed and critically appraised the updated literature published on the topic. This review primarily examines the evidence for areas of consensus and uncertainty about nutritional therapy in patients with T2DM and obesity. The aim of this article is to provide nutritional advice to manage these patients in clinical practice.

Di Bartolo P, Eckel RH, Strollo F, Gentile S.

Hundred-year experience with insulin and lipohypertrophy: an unresolved issue.

Diabetes Research and Clinical Practice, 2021 Aug;178:108924.

In the article recently published in Diab Res Clin Pract (1), we described one of the most exciting paths in the history of medicine from the perspective of diabetologists and people with type 1 diabetes. Such a history lasted 100 years, from the discovery of insulin to the most technologically advanced technologies aimed at making treatment as close to physiology and user-friendly as possible. Indeed, we are luckier than others because, by living in Italy and the USA, respectively, we have access to miniaturized and computerized insulin delivery systems, but this is not the case worldwide. Due to that, while receiving

many favorable comments from colleagues and friends, we were encouraged to further expand on the issue and go deeper into insulin injection technique.

Arcari L, Ciolina F, Cacciotti L, Danti M, Camastra G, Manzo D, Musarò S, Pironi B, Marazzi G, Santini C, Ansalone G, Sbarbati S.

Semiquantitative chest CT severity score predicts failure of noninvasive positive-pressure ventilation in patients hospitalized for COVID-19 pneumonia.

J Cardiothorac Vasc Anesth. 2021 Sep 11:S1053-0770(21)00823-5. Epub ahead of print.

Noninvasive positive-pressure ventilation (NPPV) emerged as an efficient tool for treatment of COVID-19 pneumonia. The factors influencing NPPV failure still are elusive. The aim of the study was to investigate the relationships between semiquantitative chest computed tomography (CT) scoring and NPPV failure and mortality in patients with COVID-19. This is an observational study in a nonintensive care setting. A total of 112 patients consecutively were admitted for COVID-19 pneumonia. Usual care including various degrees of respiratory support. The semiquantitative CT score was calculated at hospital admission. Subgroups were identified according to the ventilation strategy used (oxygen delivered by Venturi mask n = 53; NPPV-responder n = 38; NPPV-failure n = 21). The study's primary endpoint was the use of NPPV. The secondary endpoints were NPPV failure and in-hospital death, respectively. CT score progressively increased among groups (six v nine v 14, p < 0.05 among all). CT score was an independent predictor of all study endpoints (primary endpoint: 1.25 [95% confidence interval {CI} 1.1-1.4], p = 0.001; NPPV failure: 1.41 [95% CI 1.18-1.69], p < 0.001; in-hospital mortality: 1.21 [95% CI 1.07-1.38], p = 0.003). According to receiver operator characteristics curve analysis, CT score was the most accurate variable for prediction of NPPV failure (area under the curve 0.862 with p < 0.001; p < 0.05 v other variables).

The authors reported the common and effective use of NPPV in patients with COVID-19 pneumonia. In the authors' population, a semiquantitative chest CT analysis at hospital admission accurately identified those patients responding poorly to NPPV.

Rosano GMC, Allen LA, Abdin A, Lindenfeld J, O'Meara E, Lam CSP, Lancellotti P, Savarese G, Gottlieb SS, Teerlink J, Wintrich J, Böhm M.

Drug layering in heart failure: phenotype-guided initiation.

JACC Heart Fail. 2021 Nov;9(11):775-783.

Medications with proven benefit in patients with heart failure with reduced ejection fraction are recommended, according to prospective large clinical trials, in the stable patient after careful up-titration in a strict sequential order. Although the relevance of careful clinical up-titration is unproven, there is evidence that after recompensation and shortly after hospital discharge, the rate of cardiovascular death and hospitalization is high. Clinical studies provided evidence that the onset of treatment effects is rapid, occurring within 28 days with most of these drugs used, and in some trials, early treatment after discharge or already started in the hospital has provided benefits. Therefore, early treatment without deferring it to the stable outpatient may be useful to reduce cardiac-related events further. This expert opinion proposes treatment layering according to individual patient phenotypes involving heart rate, blood pressure, impaired renal function, and electrolyte disturbances, as well as dedicated subgroups of patients with specific requirements for treatment initiation. This complements other approaches that suggest starting sequential treatment according to the size of treatment effects of drugs, specific cardiac diseases, and patient wishes. Patient phenotyping may guide personalized drug layering in heart failure with reduced ejection fraction that provides the best outcomes, whereas pragmatic clinical trials are warranted to scrutinize the effectiveness of these approaches.

Rosano G, Jankowska EA, Ray R, Metra M, Abdelhamid M, Adamopoulos S, Anker SD, Bayes-Genis A, Belenkov Y, Gal TB, Böhm M, Chioncel O, Cohen-Solal A, armakis D, Filippatos G, González A, Gustafsson F, Hill L, Jaarsma T, Jouhra F, Lainscak M, Lambrinou E, Lopatin Y, Lund

LH, Milicic D, Moura B, Mullens W, Piepoli MF, Ponikowski P, Rakisheva A, Ristic A, Savarese G, Seferovic P, Senni M, Thum T, Tocchetti CG, Van Linthout S, Volterrani M, Coats AJS.

COVID-19 vaccination in patients with heart failure: a position paper of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology.

Eur J Heart Fail. 2021 Nov;23(11):1806-1818.

Patients with heart failure (HF) who contract SARS-CoV-2 infection are at a higher risk of cardiovascular and non-cardiovascular morbidity and mortality. Regardless of therapeutic attempts in COVID-19, vaccination remains the most promising global approach at present for controlling this disease. There are several concerns and misconceptions regarding the clinical indications, optimal mode of delivery, safety and efficacy of COVID-19 vaccines for patients with HF. This document provides guidance to all healthcare professionals regarding the implementation of a COVID-19 vaccination scheme in patients with HF. COVID-19 vaccination is indicated in all patients with HF, including those who are immunocompromised (e.g. after heart transplantation receiving immunosuppressive therapy) and with frailty syndrome. It is preferable to vaccinate against COVID-19 patients with HF in an optimal clinical state, which would include clinical stability, adequate hydration and nutrition, optimized treatment of HF and other comorbidities (including iron deficiency), but corrective measures should not be allowed to delay vaccination. Patients with HF who have been vaccinated against COVID-19 need to continue precautionary measures, including the use of facemasks, hand hygiene and social distancing. Knowledge on strategies preventing SARS-CoV-2 infection (including the COVID-19 vaccination) should be included in the comprehensive educational programmes delivered to patients with HF.

Pelliccia F, Pasceri V, Marazzi G, Cacciotti L, Placanica A, Gragnano F, Niccoli G, Palmerini T, Tanzilli G, Speciale G, Granatelli A, Calabrò P, Crea F, Gaudio C. **Predictive ability of longitudinal changes in PRECISE-DAPT score in patients on dual antiplatelet therapy: The RE-SCORE multicentre prospective registry.**

Eur J Prev Cardiol. 2021 Oct 13;28(12):e36-e38.

McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, Burri H, Butler J, Čelutkienė J, Chioncel O, Cleland JGF, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Farmakis D, Gilard M, Heymans S, Hoes AW, Jaarsma T, Jankowska EA, Lainscak M, Lam CSP, Lyon AR, McMurray JJV, Mebazaa A, Mindham R, Muneretto C, Francesco Piepoli M, Price S, Rosano GMC, Ruschitzka F, Kathrine Skibelund A; ESC Scientific Document Group.

Corrigendum to: 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC.

Eur Heart J. 2021 Oct 14;ehab670. Erratum for: Eur Heart J. 2021 Sep 21;42(36):3599-3726. PMID: 34649282.

Metra M, Mullens W, **Rosano G**, Slawik J, Wintrich J, Böhm M.

'Time is prognosis' in heart failure: time-to-treatment initiation as a modifiable risk factor.

ESC Heart Fail. 2021 Oct 16. doi: 10.1002/ehf2.13646. Epub ahead of print.

In heart failure (HF), acute decompensation can occur quickly and unexpectedly because of worsening of chronic HF or to new-onset HF diagnosed for the first time ('de novo'). Patients presenting with acute HF (AHF) have a poor prognosis comparable with those with acute myocardial infarction, and any delay of treatment initiation is associated with worse outcomes. Recent HF guidelines and recommendations have highlighted the importance of a timely diagnosis and immediate treatment for patients presenting with AHF to decrease disease progression and improve prognosis. However, based on the available data, there is still uncertainty regarding the optimal 'time-to-treatment' effect in AHF. Furthermore, the

immediate post-worsening HF period plays an important role in clinical outcomes in HF patients after hospitalization and is known as the 'vulnerable phase' characterized by high risk of readmission and early death. Early and intensive treatment for HF patients in the 'vulnerable phase' might be associated with lower rates of early readmission and mortality. Additionally, in the chronic stable HF outpatient, treatments are often delayed or not initiated when symptoms are stable, ignoring the risk for adverse outcomes such as sudden death. Consequently, there is a dire need to better identify HF patients during hospitalization and after discharge and treating them adequately to improve their prognosis. HF is an urgent clinical scenario along all its stages and disease conditions. Therefore, time plays a significant role throughout the entire patient's journey. Therapy should be optimized as soon as possible, because this is beneficial regardless of severity or duration of HF. Time lapsed before treatment initiation is recognized as important modifiable risk factor in HF.

Hobbs FR, Hussain RI, Vitale C, Pinto YM, Bueno H, Lequeux B, Pauschinger M, Obermeier M, Ferber PC, Gustafsson F; PREFER investigators.

Prospective Evaluation of natriuretic peptide-based reFERRal of patients with chronic heart failure in primary care (PREFER): a real-world study.

Open Heart. 2021Oct;8(2):e001630.

The aim of the study is to assess current management practice of heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF) in multinational primary care (PC) and determine whether N-terminal-pro-B-type natriuretic peptide (NT-pro-BNP)-guided referral of HFrEF patients from PC to a cardiologist could improve care, defined as adherence to European Society of Cardiology (ESC) guideline-recommended pharmacotherapy.

PROspective Evaluation of natriuretic peptide-based reFERRal of patients with chronic HF in PC (PREFER) study enrolled HFrEF patients from PC considered clinically stable and those with NT-pro-BNP ≥ 600 pg/mL were referred to a cardiologist for optimisation of HF treatment. The primary outcome of adherence to ESC HF guidelines after referral to specialist was assessed at the second visit within 4 weeks of cardiologist's referral and no later than 6 months after the baseline visit. Based on futility interim analysis, the study was terminated early.

In total, 1415 HFrEF patients from 223 PCs from 18 countries in Europe were enrolled. Of these, 1324 (96.9%) were considered clinically stable and 920 (65.0%) had NT-pro-BNP ≥ 600 pg/mL (mean: 2631 pg/mL). In total, 861 (60.8%) patients fulfilled both criteria and were referred to a cardiologist. Before cardiologist consultation, 10.1% of patients were on ESC guideline-recommended HFrEF medications and 2.7% were on recommended dosages of HFrEF medication (defined as $\geq 50\%$ of ESC guideline-recommended dose). Postreferral, prescribed HFrEF drugs remained largely unchanged except for an increase in diuretics (+4.6%) and mineralocorticoid receptor antagonists (+7.9%). No significant increase in patients' adherence to guideline-defined drug combinations (11.2% post-referral vs 10.1% baseline) or drug combinations and dosages (3.3% postreferral vs 2.7% baseline) was observed after cardiologist consultation.

PREFER demonstrates substantial suboptimal treatment of HFrEF patients in the real world. Referral of patients with elevated NT-pro-BNP levels from PC to cardiologist did not result in meaningful treatment optimisation for treatments with known mortality and morbidity benefit.

Moriconi E, Camajani E, Fabbri A, Lenzi A, Caprio M. Reply to Berk et al.

Comment on "Moriconi et al. very-low-calorie ketogenic diet as a safe and valuable tool for Long-term glycemic management in patients with obesity and type 2 diabetes. <i>Nutrients</i> 2021, <i>13</i>, 758".

Nutrients. 2021 Oct 18;13(10):3639.

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, Per Kjeldsen K, 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. 2021 Sep 21;7(5):453-459.

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).

Goharani R, Vahedian-Azimi A, Pourhoseingholi MA, Amanpour F, Rosano GMC, Sahebkar A. Survival to intensive care unit discharge among in-hospital cardiac arrest patients by applying audiovisual feedback device.

ESC Heart Fail. 2021 Dec;8(6):4652-4660.

Survival rates after in-hospital cardiac arrest remain very low. Although there is evidence that the use of audiovisual feedback devices can improve compression components, there are no data on patient survival. Therefore, we conducted this study to analyse the survival rate of patients with in-hospital cardiac arrest after discharge from the intensive care unit.

This study was a secondary analysis of a prospective, randomized, controlled, parallel study of patients who received either standard manual chest compression or a real-time feedback device. Parametric and semi-parametric models were fitted to the data. Different survival time of length of stay was investigated by univariate and multiple analyses. Pearson's correlation between length of stay and hospital length of stay was obtained. A total of 900 patients with a mean survival time of 35 days were included. Intervention was associated with a higher length of stay. Relative time was significant in adjusted fitted log-normal regression for intervention group, female gender, and cardiopulmonary resuscitation in the night shift. A positive correlation between length of stay and hospital length of stay was found.

Implementation of feedback device improved survival and length of stay. Cardiopulmonary resuscitation performance during the night shift decreased the survival time, which could be due to the inexperienced staff available outside working hours.

Seferovic PM, Piepoli M, Polovina M, Milinkovic I, Rosano GMC, Coats AJS.

ESC/HFA Quality of Care Centres: the ultimate frontier in unifying heart failure management.

Eur Heart J. 2021 Dec 28;43(1):11-13.

Seferović PM, Polovina M, Adlbrecht C, Bělohávek J, Chioncel O, Goncalvesová E, Milinković I, Grupper A, Halmosi R, Kamzola G, Koskinas KC, Lopatin Y, Parkhomenko A, Pöder P, Ristić AD, Šakalyt G, Trbušić M, Tundubayeva M, Vrtovec B, Yotov YT, Miličić D, Ponikowski P, Metra M, Rosano G, Coats AJ.

Navigating between Scylla and Charybdis: challenges and strategies for implementing guideline-directed medical treatment in heart failure with reduced ejection fraction.

Eur J Heart Fail. 2021 Dec;23(12):1999-2007.

Guideline-directed medical therapy (GDMT) has the potential to reduce the risks of mortality and hospitalisation in patients with heart failure (HF) with reduced ejection fraction (HFrEF). However, real-world data indicate that many patients with HFrEF do not receive optimised GDMT, which involves several different medications, many of which require up-titration to target doses. There are many

challenges to implementing GDMT, the most important being patient-related factors (comorbidities, advanced age, frailty, cognitive impairment, poor adherence, low socioeconomic status), treatment-related factors (intolerance, side-effects) and healthcare-related factors that influence availability and accessibility of HF care. Accordingly, international disparities in resources for HF management and limited public reimbursement of GDMT, coupled with clinical inertia for treatment intensification combine to hinder efforts to provide GDMT. In this review paper, authors aim to provide solutions based on available evidence, practical experience, and expert consensus on how to utilise evolving strategies, novel medications, and patient profiling to allow the more comprehensive uptake of GDMT. Authors discuss professional education, motivation, and training, as well as patient empowerment for self-care as important tools to overcome clinical inertia and boost GDMT implementation. We provide evidence on how multidisciplinary care and institutional accreditation can be successfully used to increase prescription rates and adherence to GDMT. We consider the role of modern technologies in advancing professional and patient education and facilitating patient-provider communication. Finally, authors emphasise the role of novel drugs (especially sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors), and a tailored approach to drug management as evolving strategies for the more successful implementation of GDMT.

Martino A, Rebecchi M, Sette A, Cicogna F, Politano A, Sgueglia M, de Ruvo E, Volterrani M, Calo' L.

Ivabradine versus bisoprolol in the treatment of inappropriate sinus tachycardia: a long-term follow-up study.

J Cardiovasc Med(Hagerstown). 2021 Dec 1;22(12):892-900.

The aim of our study was to compare ivabradine versus bisoprolol in the short-term and long-term treatment of inappropriate sinus tachycardia.

From this prospective, parallel-group, open-label study, consecutive patients affected by inappropriate sinus tachycardia received ivabradine or bisoprolol and were evaluated with Holter ECG, ECG stress test, European Heart Rhythm Association score and Minnesota Living With Heart Failure Questionnaire at baseline, after 3 and 24 months.

Overall, 40 patients were enrolled. Baseline parameters were comparable in the ivabradine and bisoprolol subgroups. Two patients had transient phosphenes with ivabradine and two others interrupted the drug after 3 months as they planned to become pregnant. Eight individuals treated with bisoprolol experienced hypotension and weakness, which caused drug discontinuation in five of them. Ivabradine was superior to bisoprolol in reducing Holter ECG mean heart rate (HR) and mean HR during daytime at short- and long-term follow-up. Moreover, ivabradine but not bisoprolol significantly reduced Holter ECG mean HR during night-time as well as maximal and minimal HR and significantly increased the time duration and maximal load reached at ECG stress test. The quality of life questionnaires significantly improved in both subgroups.

This study suggests that ivabradine is better tolerated than bisoprolol and seems to be superior in controlling the heart rate and improving exercise capacity in a small population of individuals affected by inappropriate sinus tachycardia during a short-term and long-term follow-up.

Di Bartolo P, Eckel RH, Strollo F, Gentile S.

Hundred-year experience with insulin and lipohypertrophy: an unresolved issue.

Diabetes Res Clin Pract. 2021 Aug;178:108924. Epub 2021 Jun 18.

In the article recently published in Diab Res Clin Pract (1), we described one of the most exciting paths in the history of medicine from the perspective of diabetologists and people with type 1 diabetes. Such a history lasted 100 years, from the discovery of insulin to the most technologically advanced technologies aimed at making treatment as close to physiology and user-friendly as possible. Indeed, we are luckier than others because, by living in Italy and the USA, respectively, we have access to miniaturized and computerized insulin delivery systems, but this is not the case worldwide. Due to that, while receiving many favorable comments from colleagues and friends, we were encouraged to further expand on the issue and go deeper into insulin injection technique.

Gentile S, Guarino G, Della Corte T, Marino G, Fusco A, Corigliano G, Colarusso S, Piscopo M, Improta MR, Corigliano M, Martedi E, Oliva D, Russo V, Simonetti R, Satta E, Romano C, Vaia S, Strollo F; AMD-OSDI Study Group on Injection Techniques; Nefrocenter Network and Nyx Start-up Study Group.

Lipohypertrophy in elderly insulin-treated patients with type 2 diabetes.

Diabetes Ther. 2021 Jan;12(1):107-119.

The number of older adults with insulin-treated diabetes mellitus (DM) is steadily increasing worldwide. Errors in the insulin injection technique can lead to skin lipohypertrophy (LH), which is the accumulation of fat cells and fibrin in the subcutaneous tissue. While lipohypertrophic lesions/nodules (LHs) due to incorrect insulin injection techniques are very common, they are often flat and hardly visible and thus require thorough deep palpation examination and ultrasonography (US) for detection. Detection is crucial because such lesions may eventually result in poor diabetes control due to their association with unpredictable insulin release patterns. Skin undergoes fundamental structural changes with aging, possibly increasing the risk for LH. We have therefore investigated the effect of age on the prevalence of LHs and on factors potentially associated with such lesions.

A total of 1227 insulin-treated outpatients with type 2 DM (T2DM) referred to our diabetes centers were consecutively enrolled in the study. These patients underwent a thorough clinical and US evaluation of the skin at injection sites, as previously described, with up to 95% concordance between the clinical and US screening techniques. Of these 1227 patients, 718 (59%) had LH (LH+) and 509 (41%) were LH-free (LH-). These patients were then assigned to two age class groups (≤ 65 years and > 65 years), and several clinical features, diabetes complication rates, and injection habits were investigated.

Comparison of the two age subgroups revealed that 396 (48%) and 322 (79%) patients in the younger and older groups, respectively, had LHs ($p < 0.001$). Compared to the younger subgroup, the older subgroup displayed a higher LH rate in the abdomen (52.9 vs. 38.3%; $p < 0.01$) and a lower rate in the arms (25.4 vs. 35.8%; $p < 0.05$), thighs (26.7 vs. 33.4%; $p < 0.05$), and buttocks (4.9 vs. 26.2%; $p < 0.01$). In older subjects, the most relevant parameters were: habit of injecting insulin into LH nodules (56 vs. 47% [younger subjects]; $p < 0.01$), rate of post-injection leakage of insulin from injection site (drop-leaking rate; 47 vs. 39% [younger subjects]; $p < 0.05$), and rate of painful injections (5 vs. 16% [younger subjects]; $p < 0.001$). Multivariate analysis showed a stronger association between LH and poor habits, as well as between several clinical parameters, among which the most relevant were hypoglycemic events and glycemic variability.

The higher rate of post-injection drop-leaking and pain-free injections might find an explanation in skin changes typically observed in older adults, including lower thickness, vascularity and elasticity, and a more prominent fibrous texture, all of which negatively affect tissue distensibility. Consequently, in addition to the well-known association between aging skin impaired drug absorption rate, aging skin displays a progressively decreasing ability to accommodate large volumes of insulin-containing fluid.

The strong association between LH rate and hypoglycemic events plus glycemic variability suggests the need (1) to take specific actions to prevent and control the high risk of acute cardiovascular events expected to occur in older subjects in the case of hypoglycemic events, and (2) to identify suitable strategies to fulfill the difficult task of performing effective educational programs specifically targeted to the elderly.

Guarino G, Della Corte T, Strollo F, Gentile S; Nefrocenter Research Study Group.

Policaptil gel retard in adult subjects with the metabolic syndrome: efficacy, safety, and tolerability compared to metformin.

Diabetes Metab Syndr. 2021 May-Jun;15(3):901-907.

Background: Policaptil Gel Retard® (PGR), is a new macromolecule complex based on polysaccharides slowing the rate of carbohydrate and fat absorption. It proved to significantly reduce body weight, acanthosis nigricans expression, HbA1c levels, and glucose metabolism abnormalities in obese, hyper-insulinemic adolescents. No such data are available for adults.

The aim of the study is to compare the effects of PGR vs. metformin in adult subjects with the Metabolic Syndrome (MS) and T2DM on a Low Glycemic Index diet.

This spontaneous clinical, longitudinal, single-blind, randomized study based on a per-protocol analysis enrolled 100 outpatients with MS and T2DM consecutively referring to our clinic for three months, and randomly assigned to either the active treatment (Group A: 6 tablets/day) or the comparator (Group B: Metformin tablets, 1500-2000 mg/day in two divided doses during the two main meals, to minimize side effects) to be taken 30 min before each main meal in equally divided doses. Serum lipid profile, anthropometry, HOMA-IR index, and tolerability parameters were evaluated before and after a 6-month follow-up period.

All parameters improved at a similar rate in both groups but for the lipid profile, which got even better in Group A. Group A also experienced less prominent gastrointestinal side effects than its counterpart.

For the first time, we showed the non-inferiority of PGR compared to metformin in obese adult subjects with the MS and T2DM as for glycemic control and a clear-cut superiority of PGR in terms of both serum lipid-lowering capacity and tolerability.

Monda VM, Porcellati F, Strollo F, Fucili A, Monesi M, Satta E, Gentile S.

Possible preventative/rehabilitative role of gliflozins in OSA and T2DM. A systematic literature review-based hypothesis.

Adv Ther. 2021 Aug;38(8):4195-4214.

Obstructive sleep apnoea (OSA) is characterized by frequent apnoea episodes during sleep due to upper airway obstruction. The present review summarizes current knowledge on inter-relationships between OSA and type 2 diabetes mellitus (T2DM) and suggests the former as a possible target for sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors (SGLT-2i). Based on pathophysiological mechanisms underlying OSA onset and renal SGLT-2 effects, we suggest that SGLT-2i indications might expand beyond current ones, including glucose, lipids, uric acid, blood pressure, and body weight control as well as chronic heart failure and kidney disease prevention.

Gentile S, Guarino G, Della Corte T, Marino G, Satta E, Pasquarella M, Romano C, Alfrone C, Giordano L, Loiacono F, Capace M, Lamberti R, Strollo F; AMD-OSDI Study Group on Injection Technique; Nefrocenter Research and Nyx Start-Up Study Group.

The durability of an intensive, structured education-based rehabilitation protocol for best insulin injection practice: The ISTERP-2 Study.

Diabetes Ther. 2021 Sep;12(9):2557-2569.

Studies on the durability of an intensive, structured education protocol on best insulin injection practice are missing for people with type 2 diabetes mellitus (T2DM). The aim of this study was to assess the durability of an intensive, structured education-based rehabilitation protocol on best insulin injection practice in well-trained subjects from our previous intensive, multimedia intervention study registered as the ISTERP-1 study. A total of 158 subjects with T2DM from the well-trained group of the 6-month-long ISTERP-1 study, all of whom had successfully attained lower glucose levels compared to baseline levels with lower daily insulin doses and with less frequent and severe hypoglycemic episodes, participated in the present investigation involving an additional 6-month follow-up period, called the ISTERP-2 study.

Participants were randomized into an intervention group and a control group, depending on whether they were provided or not provided with further education refresher courses for 6 months. At the end of the 6 months, the two groups were compared in terms of injection habits, daily insulin dose requirement, number of severe or symptomatic hypoglycemic events, and glycated hemoglobin (HbA1c) levels.

Despite being virtually superimposable at baseline, the two groups behaved quite differently during the follow-up. The within-group analysis of observed parameters showed that the subjects in the intervention group maintained and even improved the good behavioral results learned during the ISTERP-1 study by further reducing both the rate of injection technique errors ($p < 0.001$) and size of

lipohypertrophic lesions at injection sites ($p < 0.02$). Conversely, those in the control group progressively abandoned best practice, except for the use of ice-cold insulin and, consequently, had significantly higher HbA1c levels and daily insulin dose requirements at the end of the follow-up than at baseline ($p < 0.05$). In addition, as expected from all the above, the rate of hypoglycemic episodes also decreased in the intervention group ($p < 0.05$), resulting in a significant difference between groups after 6 months ($p < 0.02$).

Our data provide evidence that intensive, structured education refresher courses have no outstanding durability, so that repeated refresher courses, at least at 6-month intervals, are needed to have positive effects on people with T2DM, contributing not only to prevention but also to long-term rehabilitation.

Zago M, Condoluci C, Manzia CM, Pili M, Manunza ME, Galli M.

Multi-segmental postural control patterns in down syndrome.

Clin Biomech (Bristol, Avon). 2021Feb;82:105271. Epub 2021 Jan 11.

Patients with Down Syndrome (DS) exhibit less efficient and unstable standing postural control. The specificities of somatosensorial deficits might result in a different utilization of resources and in distinct whole-body kinematic patterns, to date still unexplored. In this paper we aim at addressing multi-segmental coordination patterns in people with DS while maintaining standing balance under different visual conditions (open and closed eyes).

This cross-sectional observational cohort study involved two groups of 23 patients with DS and 12 healthy controls. A 30-s standing balance test allowed to extract (i) the length of the trajectory of the center-of-pressure sway and 95% confidence ellipse area from Ground Reaction forces, and (ii) Principal Movement (PM) components from full-body motion kinematics; the latter were obtained exploiting a Principal Component Analysis-based approach, also embracing a motor-control perspective through the evaluation of the number of modifications applied by the neuromuscular controller on segments' acceleration.

Trajectory length was significantly higher in patients; 95% ellipse confidence area did not differ between groups/condition. Postural movement components differed in people with DS from healthy controls not only in the "observable", behavioural phenotype (PM3 and PM8), but also in the amount of activation of the associated control (PM1 to PM8, over-activated in DS) in all spatial directions.

Results reinforced the prevalence of a medio-lateral hip strategy (instead of an ankle strategy) in maintaining postural stability. Most important, they revealed a less frequent activation of postural patterns in all spatial directions.

Piccinini L, Cimolin V, Storm F, Di Girolamo G, Biffi E, Galli M, Condoluci C.

Quantification of the effects of robotic-assisted gait training on upper and lower body strategy during gait in diplegic children with Cerebral Palsy using summary parameters.

Comput Methods Biomech Biomed Engin. 2021 Jun 14:1-8. Epub ahead of print.

The effects of robotic-assisted gait training on upper and lower body strategy during gait in diplegic children with Cerebral Palsy (CP) were quantified using summary parameters (Upper Body Profile Score (UBPS) and Gait Profile Score (GPS)). Firstly, the upper body strategy during gait was assessed in 73 children with 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. Then, the effects of a robotic-assisted gait training in a sub-group of 35 children by means of UBPS were evaluated. After robotic-assisted gait training program, no significant differences as for the summary parameters (UBPS and GPS). However, considering the specific variables scores, significant improvements are displayed as for the upper body parameter on the sagittal plane (Upper Body Ant/Pst index) and the lower limbs, in particular pelvis (Pelvic Ant/Pst and Pelvic Int/Ext indices) and as for walking velocity. A sort of reorganization of full-body kinematics, especially at upper body and proximal level (pelvis) seems to appear, with a new gait approach, characterised by a better strategy of the upper body associated with a significant improvement of the pelvis movement.

Kida, E., Walus, M., Albertini, G., & Golabek, A. A. (2021).

Long-term voluntary running modifies the levels of proteins of the excitatory/inhibitory system and reduces reactive astrogliosis in the brain of Ts65Dn mouse model for down syndrome.

Brain Research, 1766 doi:10.1016/j.brainres.2021.147535

We showed previously that voluntary long-term running improved cognition and motor skills, but in an age-dependent manner, in the Ts65Dn mouse model for Down syndrome (DS). Presently, we investigated the effect of running on the levels of some key proteins of the excitatory/inhibitory system, which is impaired in the trisomic brain, and on astroglia, a vital component of this system. Ts65Dn mice had free access to a running wheel for 9-13 months either from weaning or from the age of 7 months. Sedentary Ts65Dn mice served as controls. We found that running modified the levels of four of the seven proteins we tested that are associated with the glutamatergic/GABA-ergic system. Thus, Ts65Dn runners demonstrated increased levels of glutamine synthetase and metabotropic glutamate receptor 1 and decreased levels of glutamate transporter 1 and glutamic acid decarboxylase 65 (GAD65) versus sedentary mice, but of metabotropic glutamate receptor 1 and GAD65 only in the post-weaning cohort. GAD67, ionotropic N-methyl-D-aspartate type receptor subunit 1, and GABA_Aα5 receptors' levels were similar in runners and sedentary animals. The number of glial fibrillary acidic protein (GFAP)-positive astrocytes and the levels of GFAP were significantly reduced in runners relative to sedentary mice. Our study provides new insight into the mechanisms underlying the beneficial effect of voluntary, sustained running on function of the trisomic brain by identifying the involvement of proteins associated with glutamatergic and GABAergic systems and reduction in reactive astrogliosis.

Vernieri F, Altamura C, Brunelli N, Costa CM, Aurilia C, Egeo G, Fofi L, Favoni V, Pierangeli G, Lovati C, Aguggia M, d'Onofrio F, Doretto A, Di Fiore P, Finocchi C, Rao R, Bono F, Ranieri A, Albanese M, Cevoli S, Barbanti P; GARLIT Study Group.

Galcanezumab for the prevention of high frequency episodic and chronic migraine in real life in Italy: a multicenter prospective cohort study (the GARLIT study).

J Headache Pain. 2021 May 3;22(1):35.

The clinical benefit of galcanezumab, demonstrated in randomized clinical trials (RCTs), remains to be quantified in real life. This study aimed at evaluating the effectiveness, safety and tolerability of galcanezumab in the prevention of high-frequency episodic migraine (HFEM) and chronic migraine (CM) in a real-life setting.

This multicenter prospective observational cohort study was conducted between November 2019 and January 2021 at 13 Italian headache centers. Consecutive adult HFEM and CM patients clinically eligible were enrolled and treated with galcanezumab subcutaneous injection 120 mg monthly with the first loading dose of 240 mg. The primary endpoint was the change in monthly migraine days (MMDs) in HFEM and monthly headache days (MHDs) in CM patients after 6 months of therapy (V6). Secondary endpoints were the Numerical Rating Scale (NRS), monthly painkiller intake (MPI), HIT-6 and MIDAS scores changes, ≥50% responder rates (RR), the conversion rate from CM to episodic migraine (EM) and Medication Overuse (MO) discontinuation.

One hundred sixty-three patients (80.5% female, 47.1 ± 11.7 years, 79.8% CM) were included. At V6, MMDs reduced by 8 days in HFEM and MHDs by 13 days in CM patients (both p < .001). NRS, MPI, HIT-6 and MIDAS scores significantly decreased (p < .001). Ten patients (6.1%) dropped out for inefficacy and classified as non-responders. Patients with ≥50%RRs, i.e. responders, were 76.5% in the HFEM and 63.5% in the CM group at V6. Among CM patients, the V6 responders presented a lower body mass index (p = .018) and had failed a lower number of preventive treatments (p = .013) than non-responders. At V6, 77.2% of CM patients converted to EM, and 82.0% ceased MO. Adverse events, none serious, were reported in up to 10.3% of patients during evaluation times.

Galcanezumab in real life was safe, well tolerated and seemed more effective than in RCTs. Normal weight and a low number of failed preventives were positively associated with galcanezumab effectiveness in CM patients.

Barbanti P, Fofi L, Grazi L, Vernieri F, Camarda C, Torelli P, Cevoli S, Russo A, Bono F, Finocchi C, Rao R, Messina S, De Simone R, Vanacore N, Bonassi S; IRON Study Group.

Clinical features, disease progression, and use of healthcare resources in a large sample of 866 patients from 24 headache centers: A real-life perspective from the Italian chRONic migrainE (IRON) project.

Headache. 2021 Jun 14. Epub ahead of print.

The aim of the study is to develop a dedicated Italian chronic migraine (CM) database (IRON project) to overcome disease misconceptions, improve clinical administration, reduce patients' burden, and rationalize economic resource allotment.

Proper CM management requires a comprehensive appraisal of its full clinical, social, and economic complexity.

In this cross-sectional study, CM patients were screened in 24 certified headache centers with face-to-face interviews. Information on sociodemographic factors, medical history, characteristics of CM, and of prior episodic migraine (EM), and healthcare resource use was gathered using a semistructured web-based questionnaire.

A total of 866 CM patients were enrolled. CM started ~20 years after EM onset (age at EM onset 17.4 ± 9.1 vs. age at CM onset 35.3 ± 12.5 [mean \pm SD]). CM prophylaxis, used by 430/866 (49.6%) of the patients, was often ineffective, not tolerated, and prematurely discontinued. Medications and diagnostic workup, frequently inappropriate, were mostly subsidized by the Italian national health service. CM patients with ≥ 25 headache days/month revealed substantial clinical differences and heavier disability and economic burden compared with those with < 25 headache days/month.

CM is a heterogeneous headache disorder deserving more in-depth clinical characterization, sharper diagnostic criteria, and tailored treatments. CM registries are expected to improve clinical management, resulting in increased disease awareness, better healthcare resource allocation, and reduced economic burden.

Barbanti P, Aurilia C, Cevoli S, Egeo G, Fofi L, Messina R, Salerno A, Torelli P, Albanese M, Carnevale A, Bono F, D'Amico D, Filippi M, Altamura C, Vernieri F; EARLY Study Group.

Long-term (48 weeks) effectiveness, safety, and tolerability of erenumab in the prevention of high-frequency episodic and chronic migraine in a real world: results of the EARLY 2 study.

Headache. 2021 Jul 26. Epub ahead of print.

The aim of the study is to evaluate the long-term effectiveness, safety, and tolerability of erenumab in a real-world migraine population, looking for putative predictors of responsiveness.

Erenumab proved to be effective, safe, and well tolerated in the prevention of episodic migraine (EM) and chronic migraine (CM) in long-term extension studies of double-blind, placebo-controlled trials in patients with no more than two (EM) or three (CM) prior preventive treatment failures.

A 48-week, multicenter, longitudinal cohort real-life study was conducted at 15 headache centers across eight Italian regions between December 20, 2018 and July 31, 2020. We considered all consecutive patients with high-frequency episodic migraine (HFEM) or CM aged 18-65 years. Each patient was treated with erenumab 70 mg, administered monthly. The dose was switched to 140 mg in nonresponders and in responders who had become nonresponders for at least 4 weeks. Change in monthly migraine days (MMDs) or monthly headache days (MHDs) at Weeks 45-48 compared with baseline was the primary efficacy endpoint. Secondary endpoints encompassed variation in monthly analgesic intake, achievement of a $\geq 50\%$, $\geq 75\%$, or 100% reduction in migraine or headache days, and any change in the Visual Analogue Scale (VAS) and Headache Impact Test-6 scores (HIT-6) during the same time interval.

A total of 242 patients with migraine received at least one dose of erenumab 70 mg and were considered for safety analysis, whereas 221 received a monthly erenumab dose for ≥ 48 weeks and were included in the effectiveness and safety analysis set. All patients had previously been treated unsuccessfully with ≥ 3 migraine-preventive medication classes. From baseline to Weeks 45-48,

erenumab treatment reduced MMD by 4.3 ± 5.3 (mean \pm SD) in patients with HFEM, and MHD by 12.8 ± 8.9 (mean \pm SD) in subjects with CM. VAS and HIT-6 scores were decreased by 1.8 ± 1.9 (mean \pm SD) and 12.3 ± 11 (mean \pm SD) in HFEM, and by 3.0 ± 2.2 (mean \pm SD) and 13.1 ± 11.2 (mean \pm SD) in CM. Median monthly analgesic intake passed from 11.0 (interquartile range [IQR] 10.0-13.0) to 5 (IQR 2.0-8.0) in HFEM and from 20.0 (IQR 15.0-30.0) to 6.0 (IQR 3.8-10.0) in CM. The $\geq 50\%$ responders were 56.1% (32/57) in HFEM and 75.6% (124/164) in CM; $\geq 75\%$ responders were 31.6% (18/57) and 44.5% (73/164); and 100% responders were 8.8% (5/57) and 1.2% (2/164), respectively. At Week 48, 83.6% (137/164) of patients with CM had reverted to EM. Erenumab was safe and well tolerated. Responsiveness to erenumab was positively associated with cutaneous allodynia (OR: 5.44, 95% CI: 1.52-19.41; $p = 0.009$) in HFEM. In patients with CM, $\geq 50\%$ responsiveness was positively associated with male sex (OR: 2.99, 95% CI: 1.03-8.7; $p = 0.044$) and baseline migraine frequency (OR: 1.12, 95% CI: 1.05-1.20; $p = 0.001$) and negatively associated with psychiatric comorbidities (OR: 0.37, 95% CI: 0.15-0.87; $p = 0.023$) and prior treatment failures (OR: 0.77, 95% CI: 0.64-0.92; $p = 0.004$).

Long-term (48-week) erenumab treatment provides sustained effectiveness, safety, and tolerability in real-life patients with HFEM or CM with ≥ 3 prior preventive treatment failures. The dose of 140 mg was required in most patients along the study and should be taken into consideration as the starting dose. Allodynia (in HFEM), male sex, and baseline migraine frequency (in CM) might represent positive responsiveness predictors. Conversely, psychiatric comorbidities and multiple prior preventive treatment failures could be negative predictors in patients with CM.

D'Amico D, Grazi L, Grignani E, Leonardi M, Sansone E, Raggi A; HEADWORK Study Group.

HEADWORK questionnaire: why do we need a new tool to assess work-related disability in patients with migraine?

Headache. 2020 Feb;60(2):497-504. Epub 2020 Jan 13

This article reviews current headache disability measures and clinical need, as well as presenting the rationale for a new measure addressing work-related disability in migraine patients and the steps devoted to this aim.

Episodic and chronic migraine (EM and CM) constitute an enormous economic burden to societies, and the vast majority of this burden is attributable to indirect costs, ie those associated with productivity loss. A measure of work-related disability is therefore needed to quantify the impact of EM and CM on patients' ability to carry out work tasks.

We briefly present the advantages and disadvantages of the disability measures that have been most commonly used for this purpose and the rationale for developing a new measure.

The entire process of development of HEADWORK, a questionnaire designed to assess work-related disability, is presented together with short-term sensitivity to change.

Current headache disability measures need improvement. HEADWORK is a valid, reliable, and sensitive questionnaire to address the amount and severity of work-related difficulties and of the factors contributing to such difficulties. HEADWORK is suitable for daily clinical practice, epidemiological research and for clinical trials, and potentially to define work-related disability weights for the calculation of migraine indirect costs.

Di Lorenzo C, Ballerini G, Barbanti P, Bernardini A, D'Arrigo G, Egeo G, Frediani F, Garbo R, Pierangeli G, Prudenzano MP, Rebaudengo N, Semeraro G, Sirianni G, Valente M, Coppola G, Cervenka MC, Spera G. **Applications of ketogenic diets in patients with headache: clinical recommendations.**

Nutrients. 2021 Jul 5;13(7):2307.

Headaches are among the most prevalent and disabling neurologic disorders and there are several unmet needs as current pharmacological options are inadequate in treating patients with chronic headache, and a growing interest focuses on nutritional approaches as non-pharmacological treatments. Among these, the largest body of evidence supports the use of the ketogenic diet (KD). Exactly 100 years ago, KD was first used to treat drug-resistant epilepsy, but subsequent applications of this diet also

involved other neurological disorders. Evidence of KD effectiveness in migraine emerged in 1928, but in the last several year's different groups of researchers and clinicians began utilizing this therapeutic option to treat patients with drug-resistant migraine, cluster headache, and/or headache comorbid with metabolic syndrome. Here we describe the existing evidence supporting the potential benefits of KDs in the management of headaches, explore the potential mechanisms of action involved in the efficacy in-depth, and synthesize results of working meetings of an Italian panel of experts on this topic. The aim of the working group was to create a clinical recommendation on indications and optimal clinical practice to treat patients with headaches using KDs. The results we present here are designed to advance the knowledge and application of KDs in the treatment of headaches.

Altamura C, Cevoli S, Brunelli N, Aurilia C, Fofi L, Egeo G, Barbanti P, Vernieri F; GARLIT Study Group collaborators.

When should we consider chronic patients as non-responders to monoclonal antibodies targeting the CGRP pathway?

J Neurol. 2021. Epub ahead of print.

Laffon B, Bonassi S, Costa S, Valdiglesias V.

Genomic instability as a main driving factor of unsuccessful ageing: potential for translating the use of micronuclei into clinical practice.

Mutat Res. 2021 Jan-Jun;787:108359. Epub 2020 Nov 27.

Genome instability denotes an increased tendency to alterations in the genome during cell life cycle, driven by a large variety of endogenous and exogenous insults. Ageing is characterized by the presence of damage to various cellular constituents, but genome alterations, randomly accumulating with age in different tissues, constitute the key target in this process, and are believed to be the main factor of ageing. Age-related failure of DNA repair pathways allows DNA lesions to occur more frequently, and their accumulation over time contributes to the age-associated decrease in genome integrity in somatic cells. The micronucleus (MN) test is one of the most widely used assays to evaluate genomic instability in different surrogate tissues. A large number of studies has consistently shown a progressive increase in MN frequency with age, starting from very young age groups onwards. Therefore, MN frequency is a suitable biomarker of genomic instability in ageing. Frailty is a multidimensional geriatric syndrome of unsuccessful ageing, characterized by decreased biological reserves and increased vulnerability to external stressors, involving a higher risk of negative health outcomes. Although there is a well-founded belief that genome instability is involved in the frailty syndrome, only two studies investigated the relationship between MN frequency and frailty, not allowing to draw a definite conclusion on the utility of this biomarker for frailty detection. The use of MN and other genomic biomarkers in the detection and follow-up of patients affected by or at risk of frailty has the potential to accumulate evidence on the clinical impact of this approach in the identification and control of frailty in older people.

Asanov M, Bonassi S, Proietti S, Minina VI, Tomino C, El-Zein R.

Genomic instability in chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer: a systematic review and meta-analysis of studies using the micronucleus assay.

Mutat Res. 2021 Jan-Jun;787:108344.

Respiratory tissues are highly susceptible to diseases due to the constant exposure to physical and chemical airborne pollutants. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and lung cancer are among the most common causes of serious illness and death worldwide. The inflammatory environment associated with these respiratory diseases has long been accepted as the major player in the development of airway abnormalities. The presence and relevance of DNA damage and genomic instability makes the micronucleus assay a suitable candidate to quantitatively estimate these early pathogenetic events. A systematic review and meta-analysis were planned to determine underlying common mechanisms that can explain the relationships between COPD and lung cancer. A total of 17

studies from Jan 1999 to Dec 2019 comparing micronucleus frequency in patients affected by respiratory diseases vs healthy controls were analysed. Our results confirmed the presence of significant association between MN frequency and the diseases investigated, and suggested a circle of events linking inflammation induced oxidative stress to the risk of disease through genomic instability and hypoxia. Therefore, using non-invasive, robust and cost effective genomic instability assays such as the micronucleus assay, would allow us to capture unique phenotypic and biological changes that would allow the identification of subjects at high risk of developing lung diseases and improve early detection strategies.

Crocco M, Calvi A, Gandullia P, Malerba F, Mariani A, Di Profio S, Tappino B, Bonassi S. **Assessing health-related quality of life in children with coeliac disease: the italian version of CDDUX.**

Nutrients. 2021 Feb 2;13(2):485.

We aimed to assess Health-Related Quality of Life (HRQoL) of Italian children and their parents with coeliac disease (CD) using the Coeliac Disease Dutch Questionnaire (CDDUX). The CDDUX underwent a cross-cultural adaptation in a multi-step process, according to international guidelines. A total of 224 children aged between 8-18 years and their parents were prospectively recruited. Cronbach α coefficient was determined as a measure of internal consistency of the questionnaire and inter-children/parent reliability by intraclass correlation coefficient. Univariate and bivariate regression models were used to evaluate correlations between clinical variables and children and parents subclasses of CDDUX and overall mean Paediatric Quality of Life Inventory (PedsQL). The Italian CDDUX proved to be valid and reliable, mean CDDUX total score revealing a neutral evaluation of the quality of life in children 52.6 ± 17.2 and parents 49.5 ± 17.9 ($p = 0.07$) with strong correlation with PedsQL. The only clinical variable which appeared to affect significantly quality of life both in children and parents was the lower age. A comparison with our results showed remarkable differences in the HRQoL of populations of various nationalities. The Italian version of the CDDUX questionnaire is a simple and reliable tool for assessing the HRQoL in children and adolescents with CD.

Dhillon VS, Deo P, Bonassi S, Fenech M.

Lymphocyte micronuclei frequencies inskin, haematological, prostate, colorectal and esophageal cancer cases: a systematic review and meta-analysis.

Mutat Res. 2021 Jan-Jun;787:108372.

Micronucleus (MN) assay has been widely used as a biomarker of DNA damage, chromosomal instability, cancer risk and accelerated aging in many epidemiological studies. In this narrative review and meta-analysis we assessed the association between lymphocyte micronuclei (MNI) and cancers of the skin, blood, digestive tract, and prostate. The review identified nineteen studies with 717 disease subjects and 782 controls. Significant increases in MRi for MNI were observed in the following groups: subjects with blood cancer (MRi = 3.98; 95 % CI: 1.98-7.99; $p = 0.000$) and colorectal cancer (excluding IBD) (MRi = 2.69; 95 % CI: 1.82-3.98, $p < 0.000$). The results of this review suggest that lymphocyte MNI are a biomarker of DNA damage and chromosomal instability in people with haematological or colorectal cancers. However, the MRi for lymphocyte MNI in subjects with cancers of skin, prostate, esophagus was not significantly increased. More case-control and prospective studies are warranted to further verify the observed trends and to better understand the role of lymphocyte MNI as a biomarker of cancer risk in blood, skin, digestive tract and prostate.

Valencia-Quintana R, López-Durán RM, Milić M, Bonassi S, Ochoa-Ocaña MA, Uriostegui-Acosta MO, Pérez-Flores GA, Gómez-Olivares JL, Sánchez-Alarcón J.

Assessment of cytogenetic damage and cholinesterases' activity in workers occupationally exposed to pesticides in Zamora-Jacona, Michoacan, Mexico.

Int J Environ Res Public Health. 2021 Jun 10;18(12):6269.

Pesticides have been considered as potential chemical mutagens; however, little is known about toxic and genotoxic effects during pesticide application in Zamora-Jacona, Michoacan State in Mexico. This study sought to determine DNA damage and cholinesterase activities inhibitions in 54 agricultural workers exposed to complex mixtures of pesticides vs. control group (26 individuals) using Comet assay in peripheral whole blood, micronucleus (MN) test in oral mucosa cells, Cytokinesis-blocked MN assay in lymphocytes (L-CBMNcyt) and measuring AChE and BChE activities in whole blood and plasma samples, respectively. Exposed subjects demonstrated significantly elevated levels of primary (Comet assay: tail intensity, tail length, tail moment, Olive tail moment) and permanent DNA damage (MN assay: in blood/buccal cells; frequencies of nuclear buds, binucleated cells, cells with condensed chromatin, karyorrhexis, pyknosis, and karyolysis). However, inhibition of cholinesterase activities (AChE and BChE) was not observed in the workers. Confounding factors including sex, age, BMI, working exposure period, protection level, smoking habit (cigarettes per day units), alcohol consumption (weekly), medication, were considered in the analysis. These combined techniques demonstrated usefulness in the health hazards risks pesticide exposure assessment and suggested the need for periodic monitoring together with the education and the training of occupational workers for the safe application of potentially harmful pesticides.

Ilari S, Vitiello L, Russo P, Proietti S, Milić M, Muscoli C, Cardaci V, Tomino C, Bonassi G, Bonassi S.

Daily vegetables intake and response to COPD Rehabilitation. The role of oxidative stress, inflammation and DNA damage.

Nutrients. 2021 Aug 14;13(8):2787.

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a respiratory disease associated with airways inflammation and lung parenchyma fibrosis. The primary goals of COPD treatment are to reduce symptoms and risk of exacerbations, therefore pulmonary rehabilitation is considered the key component of managing COPD patients. Oxidative airway damage, inflammation and reduction of endogenous antioxidant enzymes are known to play a crucial role in the pathogenesis of COPD. Recently, also natural antioxidants have been considered as they play an important role in metabolism, DNA repair and fighting the effects of oxidative stress. In this paper we evaluated the response of 105 elderly COPD patients to pulmonary rehabilitation (PR), based on high or low vegetable consumption, by analyzing clinical parameters and biological measurements at baseline and after completion of the three weeks PR. We found that daily vegetable intake in normal diet, without any specific intervention, can increase the probability to successfully respond to rehabilitation (65.4% of responders ate vegetables daily vs. 40.0% of non-responders, $p = 0.033$). The association was especially evident in subjects ≥ 80 year of age (OR = 17.0; $p < 0.019$). Three weeks of pulmonary rehabilitation are probably too short to reveal a reduction of the oxidative stress and DNA damage, but are enough to show an improvement in the patient's inflammatory state.

Della-Morte D, Pacifici F, Ricordi C, Massoud R, Rovella V, Proietti S, Iozzo M, Lauro D, Bernardini S, Bonassi S, Di Daniele N.

Low level of plasminogen increases risk for mortality in COVID-19 patients.

Cell Death Dis. 2021 Aug 5;12(8):773.

The pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19), caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), and especially of its complications is still not fully understood. In fact, a very high number of patients with COVID-19 die because of thromboembolic causes. A role of plasminogen, as precursor of fibrinolysis, has been hypothesized. In this study, we aimed to investigate the association between plasminogen levels and COVID-19-related outcomes in a population of 55 infected Caucasian patients (mean age: 69.8 ± 14.3 , 41.8% female). Low levels of plasminogen were significantly associated with inflammatory markers (CRP, PCT, and IL-6), markers of coagulation (D-dimer, INR, and APTT), and markers of organ dysfunctions (high fasting blood glucose and decrease in

the glomerular filtration rate). A multidimensional analysis model, including the correlation of the expression of coagulation with inflammatory parameters, indicated that plasminogen tended to cluster together with IL-6, hence suggesting a common pathway of activation during disease's complication. Moreover, low levels of plasminogen strongly correlated with mortality in COVID-19 patients even after multiple adjustments for presence of confounding. These data suggest that plasminogen may play a pivotal role in controlling the complex mechanisms beyond the COVID-19 complications, and may be useful both as biomarker for prognosis and for therapeutic target against this extremely aggressive infection.

Bonassi S, Ceppi M, Møller P, Azqueta A, Milić M, Monica N, Brunborg G, Godschalk R, Koppen G, Langie SAS, Teixeira JP, Bruzzone M, Da Silva J, Benedetti D, Cavallo D, Ursini CL, Giovannelli L, Moretti S, Riso P, Del Bo' C, Russo P, Dobrzyńska M, Goroshinskaya IA, Surikova EI, Staruchova M, Barančokova M, Volkovova K, Kažimirova A, Smolkova B, Laffon B, Valdiglesias V, Pastor S, Marcos R, Hernández A, Gajski G, Spremo-Potparević B, Živković L, Boutet-Robinet E, Perdry H, Lebailly P, Perez CL, Basaran N, Nemeth Z, Safar A, Dusinska M, Collins A; hCOMET project.

DNA damage in circulating leukocytes measured with the comet assay may predict the risk of death.

Sci Rep. 2021 Aug 18;11(1):16793.

The comet assay or single cell gel electrophoresis, is the most common method used to measure strand breaks and a variety of other DNA lesions in human populations. To estimate the risk of overall mortality, mortality by cause, and cancer incidence associated to DNA damage, a cohort of 2,403 healthy individuals (25,978 person-years) screened in 16 laboratories using the comet assay between 1996 and 2016 was followed-up. Kaplan-Meier analysis indicated a worse overall survival in the medium and high tertile of DNA damage ($p < 0.001$). The effect of DNA damage on survival was modelled according to Cox proportional hazard regression model. The adjusted hazard ratio (HR) was 1.42 (1.06-1.90) for overall mortality, and 1.94 (1.04-3.59) for diseases of the circulatory system in subjects with the highest tertile of DNA damage. The findings of this study provide epidemiological evidence encouraging the implementation of the comet assay in preventive strategies for non-communicable diseases.

Bonassi S, Ceppi M, Møller P, Azqueta A, Milić M, Neri M, Brunborg G, Godschalk R, Koppen G, Langie SAS, Teixeira JP, Bruzzone M, Da Silva J, Benedetti D, Cavallo D, Ursini CL, Giovannelli L, Moretti S, Riso P, Del Bo' C, Russo P, Dobrzyńska M, Goroshinskaya IA, Surikova EI, Staruchova M, Barančokova M, Volkovova K, Kažimirova A, Smolkova B, Laffon B, Valdiglesias V, Pastor S, Marcos R, Hernández A, Gajski G, Spremo-Potparević B, Živković L, Boutet-Robinet E, Perdry H, Lebailly P, Perez CL, Basaran N, Nemeth Z, Safar A, Dusinska M, Collins A; hCOMET project.

Author Correction: DNA damage in circulating leukocytes measured with the comet assay may predict the risk of death.

Sci Rep. 2021 Sep 20;11(1):19043. Erratum for: Sci Rep. 2021 Aug 18;11(1):16793.

Olanow CW, 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. 2021;11(1):177-186.

ND0612 is a continuous, subcutaneous levodopa/carbidopa delivery system in development for patients with Parkinson's disease (PD) experiencing motor fluctuations. Objective: Evaluate the efficacy and safety of two ND0612 dosing regimens in patients with PD.

This was a 28-day open-label study (NCT02577523) in PD patients with ≥ 2.5 hours/day of OFF time despite optimized treatment. Patients were randomized to treatment with either a 24-hour infusion (levodopa/carbidopa dose of 720/90 mg) or a 14-hour 'waking-day' infusion (levodopa/carbidopa dose of 538/68 mg plus a morning oral dose of 150/15 mg). Supplemental oral doses of levodopa were permitted for patients in both groups if required. In-clinic assessments of OFF time (primary endpoint) and ON time with or without dyskinesia were determined by a blinded rater over 8 hours (normalized to 16 hours).

A total of 38 patients were randomized and 33 (87%) completed the study. Compared to baseline, OFF time for the overall population was reduced by a least squares (LS) mean[95% CI] of 2.0[- 3.3, - 0.7] hours ($p = 0.003$). ON time with no/mild dyskinesia (no troublesome dyskinesia) was increased from baseline by a LS mean of 3.3[2.0, 4.6] hours ($p < 0.0001$), and ON time with moderate/severe dyskinesia was reduced by a LS mean of 1.2[- 1.8, - 0.5] hours ($p \leq 0.001$). Reduction in OFF time was larger in the 24-hour group (- 2.8[- 4.6, - 0.9] hours; $p = 0.004$) than in the 14-hour group (- 1.3[- 3.1, 0.5] hours; $p = 0.16$). Complete resolution of OFF time was observed in 42% ($n = 8$) of patients in the 24-hour group. Infusion site reactions were the most common adverse event.

This study demonstrates the feasibility and safety of continuous subcutaneous delivery of levodopa as a treatment for PD and provides preliminary evidence of efficacy.

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. 2021 Jan;28(1):349-354.

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.

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. 2021 Mar 5;31(4):2220-2237.

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.

Ferri R, Babiloni C, Karami V, Triggiani AI, Carducci F, Noce G, Lizio R, Pascarelli MT, Soricelli A, Amenta F, Bozzao A, Romano A, Giubilei F, Del Percio C, Stocchi F, Frisoni GB, Nobili F, Patanè L, Arena P.

Stacked autoencoders as new models for an accurate Alzheimer's disease classification support using resting-state EEG and MRI measurements.

Clin Neurophysiol. 2021Jan;132(1):232-245.

This retrospective and exploratory study tested the accuracy of artificial neural networks (ANNs) at detecting Alzheimer's disease patients with dementia (ADD) based on input variables extracted from resting-state electroencephalogram (rsEEG), structural magnetic resonance imaging (sMRI) or both.

For the classification exercise, the ANNs had two architectures that included stacked (autoencoding) hidden layers recreating input data in the output. The classification was based on LORETA source estimates from rsEEG activity recorded with 10-20 montage system (19 electrodes) and standard sMRI variables in 89 ADD and 45 healthy control participants taken from a national database.

The ANN with stacked autoencoders and a deep leaning model representing both ADD and control participants showed classification accuracies in discriminating them of 80%, 85%, and 89% using rsEEG, sMRI, and rsEEG + sMRI features, respectively. The two ANNs with stacked autoencoders and a deep leaning model specialized for either ADD or control participants showed classification accuracies of 77%, 83%, and 86% using the same input features.

The two architectures of ANNs using stacked (autoencoding) hidden layers consistently reached moderate to high accuracy in the discrimination between ADD and healthy control participants as a function of the rsEEG and sMRI features employed.

The present results encourage future multi-centric, prospective and longitudinal cross-validation studies using high resolution EEG techniques and harmonized clinical procedures towards clinical applications of the present ANNs.

Stocchi F, Vacca L, Grassi A, Torti M.

An evaluation of the efficacy and value of CVT-301 for the treatment of Parkinson's disease. Expert Opin Pharmacother. 2021 Jun;22(8):965-972.

Levodopa is the most effective drug in the treatment of Parkinson's disease, but its chronic treatment is linked to the occurrence of motor complications with fluctuations of motor performance and dyskinesia. Unpredictable OFF episodes can be severe and disabling and current rescue medications cannot always be used safely. Rescue therapy is characterized by a rapid and predictable ON response and the safety profile of levodopa will represent a major advantage for patients affected by unresponsive OFF episodes. CVT-301 is a new inhaled formulation of LD recently developed as a self-administered

treatment for OFF periods. Herein, the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, efficacy, and safety of CVT-301 are reviewed.

CVT-301 may offer several potential advantages including increased systemic bioavailability through pulmonary absorption, rapid onset of action, avoidance of first-pass drug metabolism, and less plasma level variability. It should be noted that the delivery device used has been described as relatively simple to use, but the few steps required to prepare and self-administer the dose can be challenging for PD patients during their OFF state. Additionally, resolution of an OFF episode requires the administration of two capsules of CVT-301, which further complicates the use of the device.

Babiloni C, Arakaki X, Azami H, Bennys K, Blinowska K, Bonanni L, Bujan A, Carrillo MC, Cichocki A, de Frutos-Lucas J, Del Percio C, Dubois B, Edelmayer R, Egan G, Epelbaum S, Escudero J, Evans A, Farina F, Fargo K, Fernández A, Ferri R, Frisoni G, Hampel H, Harrington MG, Jelic V, Jeong J, Jiang Y, Kaminski M, Kavcic V, Kilborn K, Kumar S, Lam A, Lim L, Lizio R, Lopez D, Lopez S, Lucey B, Maestú F, McGeown WJ, McKeith I, Moretti DV, Nobili F, Noce G, Olichney J, Onofrij M, Osorio R, Parra-Rodriguez M, Rajji T, Ritter P, Soricelli A, Stocchi F, Tarnanas I, Taylor JP, Teipel S, Tucci F, Valdes-Sosa M, Valdes-Sosa P, Weiergräber M, Yener G, Guntekin B.

Measures of resting state EEG rhythms for clinical trials in Alzheimer's disease: Recommendations of an expert panel.

Alzheimers Dement. 2021 Apr 15. Epub ahead of print.

The Electrophysiology Professional Interest Area (EPIA) and Global Brain Consortium endorsed recommendations on candidate electroencephalography (EEG) measures for Alzheimer's disease (AD) clinical trials. The Panel reviewed the field literature. As most consistent findings, AD patients with mild cognitive impairment and dementia showed abnormalities in peak frequency, power, and "interrelatedness" at posterior alpha (8-12 Hz) and widespread delta (< 4 Hz) and theta (4-8 Hz) rhythms in relation to disease progression and interventions. The following consensus statements were subscribed: (1) Standardization of instructions to patients, resting state EEG (rsEEG) recording methods, and selection of artifact-free rsEEG periods are needed; (2) power density and "interrelatedness" rsEEG measures (e.g., directed transfer function, phase lag index, linear lagged connectivity, etc.) at delta, theta, and alpha frequency bands may be use for stratification of AD patients and monitoring of disease progression and intervention; and (3) international multisectoral initiatives are mandatory for regulatory purposes.

Vacca L, Proietti S, Bravi D, Radicati FG, Stocchi F.

Effectiveness of an herbaceous derivatives, PHGG, plus sodium hyaluronate in the treatment of chronic constipation in patients with Parkinson's disease: a pilot study.

Neurol Sci. 2021 Jun 4. Epub ahead of print.

Chronic constipation is a highly prevalent and often under-appreciated gastrointestinal disorder in PD associated with significant impairment in quality of life. In this study, we investigated the efficacy and safety of PHGG plus hyaluronate (PHGG+) in patients suffering from PD and constipation. Thirty-four PD patients have been recruited in an open-label pilot study and measured symptoms and quality of life instruments related to constipation. PHGG+ showed to have a minimal still significant effect in improving constipation as measured by PAC Symp and CGI-S. PHGG+ is safe and well tolerated. Data suggests that PHGG+ may be considered efficacious in alleviating symptoms of constipation in PD patients.

Jost ST, Visser-Vandewalle V, Rizos A, Loehrer PA, Silverdale M, Evans J, Samuel M, Petry-Schmelzer JN, Sauerbier A, Gronostay A, Barbe MT, Fink GR, Ashkan K, Antonini A, Martinez-Martin P, Chaudhuri KR, Timmermann L, Dafsari HS; EUROPAR and the International Parkinson and Movement Disorders Society Non-Motor Parkinson's Disease Study Group.

Non-motor predictors of 36-month quality of life after subthalamic stimulation in Parkinson disease.

NPJ Parkinsons Dis. 2021 Jun 8;7(1):48.

To identify predictors of 36-month follow-up quality of life (QoL) outcome after bilateral subthalamic nucleus deep brain stimulation (STN-DBS) in Parkinson's disease (PD). In this ongoing, prospective, multicenter international study (Cologne, Manchester, London) including 73 patients undergoing STN-DBS, we assessed the following scales preoperatively and at 6-month and 36-month follow-up: PD Questionnaire-8 (PDQ-8), NMSScale (NMSS), Scales for Outcomes in PD (SCOPA)-motor examination, -activities of daily living, and -complications, and levodopa equivalent daily dose (LEDD). We analyzed factors associated with QoL improvement at 36-month follow-up based on (1) correlations between baseline test scores and QoL improvement, (2) step-wise linear regressions with baseline test scores as independent and QoL improvement as dependent variables, (3) logistic regressions and receiver operating characteristic curves using a dichotomized variable "QoL responders"/"non-responders". At both follow-ups, NMSS total score, SCOPA-motor examination, and -complications improved and LEDD was reduced significantly. PDQ-8 improved at 6-month follow-up with subsequent decrements in gains at 36-month follow-up when 61.6% of patients were categorized as "QoL non-responders". Correlations, linear, and logistic regression analyses found greater PDQ-8 improvements in patients with younger age, worse PDQ-8, and worse specific NMS at baseline, such as 'difficulties experiencing pleasure' and 'problems sustaining concentration'. Baseline SCOPA scores were not associated with PDQ-8 changes. Our results provide evidence that 36-month QoL changes depend on baseline neuropsychological and neuropsychiatric non-motor symptoms burden. These findings highlight the need for an assessment of a wide range of non-motor and motor symptoms when advising and selecting individuals for DBS therapy.

Abbruzzese G, Barone P, Lopiano L, Stocchi F.

The current evidence for the use of Safinamide for the treatment of Parkinson's disease.

Drug Des Devel Ther. 2021 Jun 10;15:2507-2517.

Parkinson's therapeutic interventions are only symptomatic. An optimal treatment should therefore address the largest number of motor and non-motor symptoms, to manage patients at best. Safinamide is one of the most recent approved drugs for fluctuating patients, in add-on to levodopa, that remains the gold standard treatment. It has a unique mechanism of action, both dopaminergic (as MAO-B inhibitor) and glutamatergic (through Na⁺ channel blockade). Results from Phase III trials, post-hoc analyses and real-life experiences suggest a beneficial effect on motor (such as tremor, bradykinesia, rigidity and gait) and non-motor (pain, mood, sleep) symptoms.

Here, the authors discuss clinical efficacy and safety of safinamide, identifying the patients' profiles that could benefit most. A search in PubMed was performed in September 2020, with no time limits. Publications' abstracts were reviewed.

Safinamide is peculiar due to its double mechanism of action. Its benefits in improving motor functions and fluctuations, and some non-motor symptoms, could have a valuable impact on patients' quality of life (QoL), together with its safety profile.

Babiloni C, Ferri R, Noce G, Lizio R, Lopez S, Lorenzo I, Tucci F, 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.

Resting state Alpha electroencephalographic rhythms are differently related to aging in cognitively unimpaired seniors and patients with Alzheimer's disease and amnesic Mild Cognitive Impairment.

J Alzheimers Dis. 2021 Jun 12. Epub ahead of print.

In relaxed adults, staying in quiet wakefulness at eyes closed is related to the so-called resting state electroencephalographic (rsEEG) rhythms, showing the highest amplitude in posterior areas at alpha frequencies (8-13 Hz).

Here we tested the hypothesis that age may affect rsEEG alpha (8-12 Hz) rhythms recorded in normal elderly (Nold) seniors and patients with mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease (ADMCI). Clinical and rsEEG datasets in 63 ADMCI and 60 Nold individuals (matched for demography, education, and gender) were taken from an international archive. The rsEEG rhythms were investigated at individual delta, theta, and alpha frequency bands, as well as fixed beta (14-30 Hz) and gamma (30-40 Hz) bands. Each group was stratified into three subgroups based on age ranges (i.e., tertiles).

As compared to the younger Nold subgroups, the older one showed greater reductions in the rsEEG alpha rhythms with major topographical effects in posterior regions. On the contrary, in relation to the younger ADMCI subgroups, the older one displayed a lesser reduction in those rhythms. Notably, the ADMCI subgroups pointed to similar cerebrospinal fluid AD diagnostic biomarkers, gray and white matter brain lesions revealed by neuroimaging, and clinical and neuropsychological scores.

The present results suggest that age may represent a deranging factor for dominant rsEEG alpha rhythms in Nold seniors, while rsEEG alpha rhythms in ADMCI patients may be more affected by the disease variants related to earlier versus later onset of the AD.

Olanow CW, Poewe W, Rascol O, Stocchi F.

On-demand therapy for OFF episodes in Parkinson's Disease.

Mov Disord. 2021 Aug 7. Epub ahead of print.

Levodopa is the most effective therapy for Parkinson's disease; however, chronic treatment is associated with the development of OFF episodes, in which there is a return of parkinsonian features following a dose of levodopa and prior to the onset of benefit from the subsequent dose. OFF episodes can be a major source of disability for PD patients and frequently result in depression, apathy and an unwillingness to participate in social activities. Most currently available medical and surgical therapies are designed to reduce total daily OFF time but do not provide a rapid and reliable "on-demand" therapy for individual OFF episodes. Indeed, responses to individual doses of levodopa during an acute OFF episode are unreliable, frequently leading to partial-ON, delayed-ON, or no-ON responses even at different times in the same patient. There are now 3 therapies that are available for the on-demand treatment of OFF episodes; subcutaneous injection of apomorphine, sublingual apomorphine film, and inhaled levodopa. The first has not enjoyed widespread use in the PD community, whereas the latter 2 therapies have only recently been approved. This review will consider the currently available on-demand therapies and their potential advantages and disadvantages. © 2021 International Parkinson and Movement Disorder Society.

Tinazzi M, Geroi C, Erro R, Marcuzzo E, Cuoco S, 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, 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. 2021 May;28(5):1752-1758.

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.

Cosentino G, Avenali M, Schindler A, Pizzorni N, Montomoli C, Abbruzzese G, Antonini A, Barbiera F, Benazzo M, Benarroch EE, Bertino G, Cereda E, Clavè P, Cortelli P, Eleopra R, Ferrari C, Hamdy S, Huckabee ML, Lopiano L, Marchese Ragona R, Masiero S, Michou E, Occhini A, Pacchetti C, Pfeiffer RF, Restivo DA, Rondanelli M, Ruoppolo G, Sandrini G, Schapira AHV, Stocchi F, Tolosa E, Valentino F, Zamboni M, Zangaglia R, Zappia M, Tassorelli C, Alfonsi E.

A multinational consensus on dysphagia in Parkinson's disease: screening, diagnosis and prognostic value.

J Neurol. 2021 Aug 21. Epub ahead of print.

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder characterized by a combination of motor and non-motor dysfunction. Dysphagia is a common symptom in PD, though it is still too frequently underdiagnosed. Consensus is lacking on screening, diagnosis, and prognosis of dysphagia in PD.

The aim of the study is to systematically review the literature and to define consensus statements on the screening and the diagnosis of dysphagia in PD, as well as on the impact of dysphagia on the prognosis and quality of life (QoL) of PD patients.

A multinational group of experts in the field of neurogenic dysphagia and/or PD conducted a systematic revision of the literature published since January 1990 to February 2021 and reported the results according to PRISMA guidelines. The output of the research was then analyzed and discussed in a consensus conference convened in Pavia, Italy, where the consensus statements were drafted. The final version of statements was subsequently achieved by e-mail consensus.

Eighty-five papers were used to inform the Panel's statements even though most of them were of Class IV quality. The statements tackled four main areas: (1) screening of dysphagia: timing and tools; (2) diagnosis of dysphagia: clinical and instrumental detection, severity assessment; (3) dysphagia and QoL: impact and assessment; (4) prognostic value of dysphagia; impact on the outcome and role of associated conditions.

The statements elaborated by the Consensus Panel provide a framework to guide the neurologist in the timely detection and accurate diagnosis of dysphagia in PD.

Güntekin B, Aktürk T, Arakaki X, Bonanni L, Del Percio C, Edelmayer R, Farina F, Ferri R, Hanoğlu L, Kumar S, Lizio R, Lopez S, Murphy B, Noce G, Randall F, Sack AT, Stocchi F, Yener G, Yıldırım E, Babiloni C.

Are there consistent abnormalities in event-related EEG oscillations in patients with Alzheimer's disease compared to other diseases belonging to dementia?

Psychophysiology. 2021 Aug 30:e13934. Epub ahead of print.

Cerebrospinal and structural-molecular neuroimaging in-vivo biomarkers are recommended for diagnostic purposes in Alzheimer's disease (AD) and other dementias; however, they do not explain the effects of AD neuropathology on neurophysiological mechanisms underpinning cognitive processes. Here, an Expert Panel from the Electrophysiology Professional Interest Area of the Alzheimer's Association reviewed the field literature and reached consensus on the event-related electroencephalographic oscillations (EROs) that show consistent abnormalities in patients with significant cognitive deficits due to Alzheimer's, Parkinson's (PD), Lewy body (LBD), and cerebrovascular

diseases. Converging evidence from oddball paradigms showed that, as compared to cognitively unimpaired (CU) older adults, AD patients had lower amplitude in widespread delta (>4 Hz) and theta (4-7 Hz) phase-locked EROs as a function of disease severity. Similar effects were also observed in PD, LBD, and/or cerebrovascular cognitive impairment patients. Non-phase-locked alpha (8-12 Hz) and beta (13-30 Hz) oscillations were abnormally reduced (event-related desynchronization, ERD) in AD patients relative to CU. However, studies on patients with other dementias remain lacking. Delta and theta phase-locked EROs during oddball tasks may be useful neurophysiological biomarkers of cognitive systems at work in heuristic and intervention clinical trials performed in AD patients, but more research is needed regarding their potential role for other dementias.

Tinazzi M, Pilotto A, Morgante F, Marcuzzo E, Cuoco S, Ceravolo R, Mazzucchi S, Padovani A, Romito LM, Eleopra R, Nicoletti A, Dallochio C, Arbasino C, Bono F, Magro G, Demartini B, Gambini O, Modugno N, Olivola E, Bonanni L, Zanolin E, Albanese A, Ferrazzano G, Tessitore A, Lopiano L, Calandra-Buonaura G, Petracca M, Esposito M, Pisani A, Manganotti P, Tesolin L, Teatini F, Defazio G, Ercoli T, Stocchi F, Erro R, Zappia M, Geroin C.

Functional gait disorders: demographic and clinical correlations.

Parkinsonism Relat Disord. 2021 Aug 25;91:32-36. Epub ahead of print.

We aimed to describe the prevalence and clinical-demographical features of patients with functional gait disorders (FGDs) and to compare them to patients with functional motor disorders (FMDs) without FGDs (No-FGDs).

In this multicenter observational study, we enrolled patients with a clinically definite diagnosis of FMDs in 25 tertiary movement disorders centers in Italy. Each subject with FMDs underwent a comprehensive clinical assessment, including screening for different subtypes of functional gait disorders. Multivariate regression models were implemented in order to estimate the adjusted odds ratio (OR; 95% confidence interval) of having FGDs in relation to sociodemographic and clinical characteristics.

Out of 410 FMDs, 26.6% (n = 109) of patients exhibited FGDs. The most frequent FGDs were slow gait (n = 43, 39.4%), astasia-abasia (n = 26, 23.8%), and knee buckling (n = 24, 22%). They exhibited single FGDs in 51.4% (n = 56) or complex FGDs (more than one type of FGDs) in 48.6% (n = 53) of cases. On multivariate regression analysis, the presence of FGDs was more likely associated with older age (OR 1.03, 95% CI 1.01-1.04), functional visual symptoms (OR 2.19, 95% CI 1.08-4.45), and the diagnosis of somatic symptoms disorder (OR 2.97, 95% CI 1.08-8.17). FGDs were also more likely to undergo physiotherapy (OR 1.81, 95% CI 1.08-3.03).

People with FMDs may present with different and overlapping types of FGDs, which may occur in older age. The association of FGDs with functional visual symptoms and somatic symptoms disorder opens up to new avenues to the understanding of the neural mechanisms of these disorders.

Hauser RA, Hattori N, Fernandez H, Isaacson SH, Mochizuki H, Rascol O, Stocchi F, Li J, Mori A, Nakajima Y, Ristuccia R, LeWitt P.

Efficacy of istradefylline, an adenosine A2A receptor antagonist, as adjunctive therapy to Levodopa in Parkinson's disease: a pooled analysis of 8 phase 2b/3 trials.

J Parkinsons Dis. 2021 Sep 1. Epub ahead of print.

Istradefylline is a selective adenosine A2A receptor antagonist for the treatment of patients with Parkinson's disease (PD) experiencing OFF episodes while on levodopa/decarboxylase inhibitor.

This pooled analysis of eight randomized, placebo-controlled, double-blind phase 2b/3 studies evaluated the efficacy and safety of istradefylline.

Istradefylline was evaluated in PD patients receiving levodopa with carbidopa/benserazide and experiencing motor fluctuations. Eight 12- or 16-week trials were conducted (n = 3,245); four of these studies were the basis for istradefylline's FDA approval. Change in OFF time as assessed in patient-completed 24-h PD diaries at Week 12 was the primary endpoint. All studies were designed with common methodology, thereby permitting pooling of data. Pooled analysis results from once-daily oral

istradefylline (20 and 40 mg/day) and placebo were evaluated using a mixed-model repeated-measures approach including study as a factor.

Among 2,719 patients (placebo, n = 992; 20 mg/day, n = 848; 40 mg/day, n = 879), OFF hours/day were reduced at Week 12 at istradefylline dosages of 20 mg/day (least-squares mean difference [LSMD] from placebo in reduction from baseline [95%CI], -0.38 h [-0.61, -0.15]) and 40 mg/day (-0.45 h [-0.68, -0.22], p < 0.0001); ON time without troublesome dyskinesia (ON-WoTD) significantly increased. Similar results were found in the four-study pool (OFF hours/day, 20 mg/day, -0.75 h [-1.10, -0.40]; 40 mg/day, -0.82 h [-1.17, -0.47]). Istradefylline was generally well-tolerated; the average study completion rate among istradefylline-treated patients across all studies was 89.2%. Dyskinesia was the most frequent adverse event (placebo, 9.6%; 20 mg/day, 16.1%; 40 mg/day, 17.7%).

In this pooled analysis, istradefylline significantly improved OFF time and ON-WoTD relative to placebo and was well-tolerated.

Poewe W, Stocchi F, Arkadir D, Ebersbach G, Ellenbogen AL, Giladi N, Isaacson SH, Kieburtz K, LeWitt P, Olanow CW, Simuni T, Thomas A, Zlotogorski A, Adar L, Case R, Oren S, Fuchs Orenbach S, Rosenfeld O, Sasson N, Yardeni T, Espay AJ; BeyoND study group.

Subcutaneous Levodopa infusion for Parkinson's disease: 1-year data from the open-label BeyoND Study.

Mov Disord. 2021 Sep 8. Epub ahead of print.

Continuous, subcutaneous (SC) levodopa/carbidopa infusion with ND0612 is under development as a treatment for patients with Parkinson's disease (PD) and motor fluctuations.

The aim of the study is to evaluate 1-year safety data.

BeyoND is an open-label study evaluating the long-term safety of two ND0612 dosing regimens.

Of the 214 enrolled patients (24-hour SC infusion: n = 90; 16-hour SC infusion: n = 124), 120 (56%) completed 12 months of treatment. Leading causes for study discontinuation were consent withdrawal (19.6%) and adverse events (17.3%). Rates of discontinuation were reduced from 49% to 29% after a protocol revision and retraining. Systemic safety was typical for PD patients treated with levodopa/carbidopa. Most patients experienced infusion site reactions, particularly nodules (30.8%) and hematoma (25.2%), which were judged mostly mild to moderate and led to discontinuation in only 10.3% of the participants.

Subcutaneous levodopa/carbidopa continuous infusion with ND0612 is generally safe, with typical infusion site reactions for SC delivery as the main adverse event. © 2021 The Authors. Movement Disorders published by Wiley Periodicals LLC on behalf of International Parkinson and Movement Disorder Society.

Schindler A, Pizzorni N, Cereda E, Cosentino G, Avenali M, Montomoli C, Abbruzzese G, Antonini A, Barbiera F, Benazzo M, Benarroch E, Bertino G, Clavè P, Cortelli P, Eleopra R, Ferrari C, Hamdy S, Huckabee ML, Lopiano L, Marchese-Ragona R, Masiero S, Michou E, Occhini A, Pacchetti C, Pfeiffer RF, Restivo DA, Rondanelli M, Ruoppolo G, Sandrini G, Schapira A, Stocchi F, Tolosa E, Valentino F, Zamboni M, Zangaglia R, Zappia M, Tassorelli C, Alfonsi E.

Consensus on the treatment of dysphagia in Parkinson's disease.

J Neurol Sci. 2021 Nov 15; 430:120008.

Dysphagia is common in Parkinson's disease (PD). The effects of antiparkinsonian drugs on dysphagia are controversial. Several treatments for dysphagia are available but there is no consensus on their efficacy in PD.

To conduct a systematic review of the literature and to define consensus statements on the treatment of dysphagia in PD and related nutritional management.

A multinational group of experts in the field of neurogenic dysphagia and/or Parkinson's disease conducted a systematic evaluation of the literature and reported the results according to PRISMA guidelines. The evidence from the retrieved studies was analyzed and discussed in a consensus

conference organized in Pavia, Italy, and the consensus statements were drafted. The final version of statements was subsequently achieved by e-mail consensus.

The literature review retrieved 64 papers on treatment and nutrition of patients with PD and dysphagia, mainly of Class IV quality. Based on the literature and expert opinion in cases where the evidence was limited or lacking, 26 statements were developed.

The statements developed by the Consensus panel provide a guidance for a multi-disciplinary treatment of dysphagia in patients with PD, involving neurologists, otorhinolaryngologists, gastroenterologists, phoniatrists, speech-language pathologists, dieticians, and clinical nutritionists.

Babiloni C, Noce G, Ferri R, Lizio R, Lopez S, Lorenzo I, Tucci F, Soricelli A, Zurrón M, Díaz F, Nobili F, Arnaldi D, Famà F, Buttinelli C, Giubilei F, Cipollini V, Marizzoni M, Güntekin B, Yıldırım E, Hanoglu L, Yener G, Gündüz DH, Onorati P, Stocchi F, Vacca L, Maestú F, Frisoni GB, Del Percio C.

Resting state Alpha electroencephalographic rhythms are affected by sex in cognitively unimpaired seniors and patients with Alzheimer's disease and amnesic Mild Cognitive Impairment: a retrospective and exploratory study.

Cereb Cortex. 2021 Oct 6;31(10):3448-3460. Online ahead of print.

In the present retrospective and exploratory study, we tested the hypothesis that sex may affect cortical sources of resting state eyes-closed electroencephalographic (rsEEG) rhythms recorded in normal elderly (Nold) seniors and patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment (ADMCI). Datasets in 69 ADMCI and 57 Nold individuals were taken from an international archive. The rsEEG rhythms were investigated at individual delta, theta, and alpha frequency bands and fixed beta (14-30 Hz) and gamma (30-40 Hz) bands. Each group was stratified into matched females and males. The sex factor affected the magnitude of rsEEG source activities in the Nold seniors. Compared with the males, the females were characterized by greater alpha source activities in all cortical regions. Similarly, the parietal, temporal, and occipital alpha source activities were greater in the ADMCI-females than the males. Notably, the present sex effects did not depend on core genetic (APOE4), neuropathological (A β 42/phospho-tau ratio in the cerebrospinal fluid), structural neurodegenerative and cerebrovascular (MRI) variables characterizing sporadic AD-related processes in ADMCI seniors. These results suggest the sex factor may significantly affect neurophysiological brain neural oscillatory synchronization mechanisms underpinning the generation of dominant rsEEG alpha rhythms to regulate cortical arousal during quiet vigilance.

San-Martin R, Fraga FJ, Del Percio C, Lizio R, Noce G, Nobili F, Arnaldi D, D'Antonio F, De Lena C, Güntekin B, Hanoglu L, Taylor JP, McKeith I, Stocchi F, Ferri R, Onofrij M, Lopez S, Bonanni L, Babiloni C.

Classification of patients with Alzheimer's disease and Dementia with Lewy Bodies using resting EEG selected features at sensor and source levels: a proof-of-concept study.

Curr Alzheimer Res. 2021;18(12):956-969.

Olanow CW, Stocchi F, Peckham EL, De Pandis MF, Sciarappa K, Navia B.

Dose optimization of apomorphine sublingual film for treating "OFF" episodes in Parkinson's disease.

Parkinsonism Relat Disord. 2021 Oct 28;93:27-30.

Apomorphine sublingual film is approved for the "on-demand" treatment of "OFF" episodes in Parkinson's disease (PD). Patients must undergo dose titration to determine their most effective and tolerable dose. We assessed whether higher doses than those that provide an initial "ON" response could yield more effective treatment.

Patients with PD were assessed in the "OFF" state and the apomorphine sublingual film dose was titrated to a level that provided a tolerable "ON" response. The dose was then increased by up to two

dose levels, if tolerated. A comparison in the Movement Disorder Society Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS) Part III scores was made following administration of the dose that provided the initial "ON" response and following the higher dose. Treatment-emergent adverse events were also reported.

Thirty-five patients were titrated to higher apomorphine sublingual film doses than those that provided an initial "ON" response. A mean improvement in MDS-UPDRS Part III score was observed compared with the initial dose of 5.6 points ($P = 0.034$), 4.4 points ($P = 0.009$), and 3.7 points ($P = 0.018$) at 30, 60, and 90 min postdose, respectively. Adverse events were mild or moderate and resolved with dose reduction without concomitant treatment.

Higher doses of apomorphine sublingual film than those initially perceived to provide an "ON" response can be tolerated and provide additional improvement in motor function in many patients.

Molteni F, Guanziroli E, Goffredo M, Calabrò RS, Pournajaf S, Gaffuri M, Gasperini G, Filoni S, Baratta S, Galafate D, Le Pera D, Bramanti P, Franceschini M, On Behalf Of Italian Eksogait Study Group.

Gait recovery with an overground powered exoskeleton: a randomized controlled trial on subacute stroke subjects.

Brain Sci. 2021 Jan 14;11(1):E104.

Overground Robot-Assisted Gait Training (o-RAGT) provides intensive gait rehabilitation. This study investigated the efficacy of o-RAGT in subacute stroke subjects, compared to conventional gait training. A multicenter randomized controlled trial was conducted on 75 subacute stroke subjects (38 in the Experimental Group (EG) and 37 in the Control Group (CG)). Both groups received 15 sessions of gait training (5 sessions/week for 60 min) and daily conventional rehabilitation. The subjects were assessed at the beginning (T1) and end (T2) of the training period with the primary outcome of a 6 Minutes Walking Test (6MWT), the Modified Ashworth Scale of the Affected lower Limb (MAS-AL), the Motricity Index of the Affected lower Limb (MI-AL), the Trunk Control Test (TCT), Functional Ambulation Classification (FAC), a 10 Meters Walking Test (10MWT), the modified Barthel Index (mBI), and the Walking Handicap Scale (WHS).

The 6MWT increased in both groups, which was confirmed by both frequentist and Bayesian analyses. Similar outcomes were registered in the MI-AL, 10MWT, mBI, and MAS-AL. The FAC and WHS showed a significant number of subjects improving in functional and community ambulation in both groups at T2. The clinical effects of o-RAGT were similar to conventional gait training in subacute stroke subjects. The results obtained in this study are encouraging and suggest future clinical trials on the topic.

Iodice F, Cassano V, Rossini PM.

Direct and indirect neurological, cognitive, and behavioral effects of COVID-19 on the healthy elderly, mild-cognitive-impairment, and Alzheimer's disease populations.

Neurol Sci. 2021Feb;42(2):455-465. Epub 2021 Jan 7.

Healthy elderly, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease populations have been among the most affected in the early stages of the COVID-19 pandemic due to the direct effects of the virus, and numerous indirect effects now emerge and will have to be carefully assessed over time.

This article reviews the main articles that have been published so far about the direct and indirect effects of the COVID-19 pandemic on these particularly fragile populations.

The pandemic associated to COVID-19 has shifted most of the health resources to the emergency area and has consequently left the three main medical areas dealing with the elderly population (oncology, time-dependent diseases and degenerative disease) temporarily "uncovered". In the phase following the emergency, it will be crucial to guarantee to each area the economic and organizational resources to quickly return to the level of support of the prepandemic state.

The emergency phase represented a significant occasion of discussion on the possibilities of telemedicine which will inevitably become increasingly important, but all the limits of its use in the elderly population have to be considered. In the post-lockdown recovery phase, alongside the classic

medical evaluation, the psychological evaluation must become even more important for doctors caring about people with cognitive decline as well as with their caregivers.

Ravizzotti E, Vercelli S, Pellicciari L, Furmanek MP, Zagnoni G, Piscitelli D.

Reliability and validity of the trunk control measurement scale among children and adolescents with Cerebral Palsy in Tanzania.

Percept Mot Skills. 2021 Apr;128(2):731-745.

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.

Iodice F, Romoli M, Giometto B, Clerico M, Tedeschi G, Bonavita S, Leocani L, Lavorgna L; Digital Technologies, Web and Social Media Study Group of the Italian Society of Neurology. **Stroke and digital technology: a wake-up call from COVID-19 pandemic.**

Neurol Sci. 2021 Mar;42(3):805-809.

The pandemic has implemented the need for new digital technologies as useful tools during the emergency and the long recovery phase that will follow. SARS-CoV-2 has strongly impacted stroke care with significant contraction in a number of patients treated.

This mini-review is an initiative of the "Digital Technologies, Web and Social Media Study Group" of the Italian Society of Neurology and briefly discusses digital tools for managing the acute phase and the rehabilitation after stroke, even considering the new apps that will improve the process of remote monitoring of patients after discharge at home.

Telemedicine and digital technologies could play a role in each of the three stroke-belt stages: hyperacute treatment and reperfusion, acute care, etiological classification and secondary prevention and rehabilitation.

The global emergency represented by the COVID-19 pandemic can be the stimulus to accelerate the digitalization process in the field of stroke for the use of new methods on a large scale.

Di Lorenzo F, Ercoli T, Cuffaro L, Barbato F, Iodice F, Tedeschi G, Bombaci A; SigN.

COVID-19 impact on neurology training program in Italy.

Neurol Sci. 2021 Mar;42(3):817-823.

Public health recommendations and governmental measures during the COVID-19 pandemic have resulted in numerous restrictions on daily living including social distancing, isolation and home confinement. While these measures are imperative to abate the spreading of COVID-19, the impact of these restrictions on health behaviours and lifestyles at home is undefined. Therefore, an international online survey was launched in April 2020, in seven languages, to elucidate the behavioural and lifestyle consequences of COVID-19 restrictions. This report presents the results from the first thousand responders on physical activity (PA) and nutrition behaviours.

Following a structured review of the literature, the "Effects of home Confinement on multiple Lifestyle Behaviours during the COVID-19 outbreak (ECLB-COVID19)" Electronic survey was designed by a steering group of multidisciplinary scientists and academics. The survey was uploaded and shared on the Google online survey platform. Thirty-five research organisations from Europe, North-Africa, Western Asia and the Americas promoted the survey in English, German, French, Arabic, Spanish, Portuguese and Slovenian languages. Questions were presented in a differential format, with questions related to responses "before" and "during" confinement conditions.

1047 replies (54% women) from Asia (36%), Africa (40%), Europe (21%) and other (3%) were included in the analysis. The COVID-19 home confinement had a negative effect on all PA intensity levels (vigorous, moderate, walking and overall). Additionally, daily sitting time increased from 5 to 8 h per day. Food consumption and meal patterns (the type of food, eating out of control, snacks between meals, number of main meals) were more unhealthy during confinement, with only alcohol binge drinking decreasing significantly.

While isolation is a necessary measure to protect public health, results indicate that it alters physical activity and eating behaviours in a health compromising direction. A more detailed analysis of survey data will allow for a segregation of these responses in different age groups, countries and other subgroups, which will help develop interventions to mitigate the negative lifestyle behaviours that have manifested during the COVID-19 confinement.

Di Lorenzo F, Ercoli T, Cuffaro L, Barbato F, Iodice F, Tedeschi G, Bombaci A; SigN.

COVID-19 impact on neurology training program in Italy.

Neurol Sci.2021 Mar;42(3):817-823.

The ongoing COVID-19 pandemic is having a huge impact on clinical activity of all hospitals, including the ones involved in training of residents. In addition, neurology residents underwent substantial modifications of their training program. Aim of our investigation was to evaluate the impact of COVID-19 pandemic on the educational activities of Italian neurology residents through an online questionnaire delivered to neurology residents. The results obtained showed that almost 30% of the respondents were redistributed to COVID-19 units. Neurology departments underwent substantial modifications of their organization influencing clinical educational activities; lessons and seminars were rescheduled online and research protocols were stopped and transferred to remote working, when feasible. There was a relevant use of telemedicine approach even if most of the respondents had never been trained before. Some of the changes had a North-South gradient, following the epidemiology of the pandemic. The data obtained from our survey highlight those points to address to be prepared for possible future emergencies.

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

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

Am J Phys Med Rehabil. 2021 May 1;100(5):483-491.

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 neurologic 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 = 3548) of orthopedic and neurologic patients. Functional, demographic, and clinical records at patient admission and 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 score at admission ($P < 0.0001$), age ($P < 0.0001$), and time from the acute event ($P < 0.0001$) on mBI score at discharge. Moreover, the disease type (neurologic or orthopedic) adjusted by sex (male or female) and presence of different impairments

(cognitive and behavioral impairments) and complications (hypertension and cardiovascular diseases) significantly influenced mBI score at discharge ($P < 0.05$) ($R^2 = 0.497$). No significant interactions between other factors were found ($P > 0.05$).

Several prognostic factors should be considered when planning an appropriate tailored rehabilitation program.

Damiani C, Pournajaf S, Goffredo M, Proietti S, Denza G, Rosa B, Franceschini M, Casale R.

Community ambulation in people with lower limb amputation: an observational cohort study. *Medicine (Baltimore)*. 2021 Jan 22;100(3):e24364.

Lower limb amputation (LLA) is still a health issue requiring rehabilitation and long-term care even in industrial societies. Several studies on subjects with LLA have been focused on the efficacy of rehabilitation and factors influencing the use of prosthesis. However, literature data on the recovery of ability to walk outdoors, and thus to participate in social life in this population is limited. To investigate potential correlations between socio-demographic and clinical factors, and the use of the prosthesis for indoor and/or outdoor walking referred to as community ambulation (CA) in subjects with LLA. An observational cohort study on 687 LLA subjects was conducted. Socio-demographic and clinical characteristics of 302 subjects who received similar rehabilitative treatment with respect to the standard protocol were collected by a telephone survey with a structured questionnaire. The CA recovery, in terms of patient's autonomy and participation, assessed by Walking Handicap Scale, was considered as the main outcome. The univariate analysis demonstrated statistical significant positive correlation between CA and gender ($\chi^2 = 3.901$, $P = .048$); amputation level ($\chi^2 = 24.657$, $P < .001$); pre-LLA ($\chi^2 = 6.338$, $P = .012$) and current work activity ($\chi^2 = 25.192$, $P < .001$); prosthesis use ($\chi^2 = 187.037$, $P < .01$); and time from LLA ($r = 0.183$, $P < .001$); increasing age was negatively correlated with the outcome ($r = -0.329$, $P < .001$), while pain intensity was not significant. Being male (75.4%); trans-tibial (TT) amputation level (9.79%); working before (3.81%) and after LLA (7.68%); and the prosthesis use (24.63%) increased the probability of CA recovery. Multivariate binary logistic regression analysis confirmed that the prosthesis use ($P < .001$) and TT amputation level ($P = .042$) are predictors of a positive outcome (Walking Handicap Scale 4-6). These findings highlight the importance of the use of prosthesis in people with LLA for the restoration of a good capacity of participation (CA), especially in subjects with TT amputation level. The identification of predictive factors may help tailor-made rehabilitation approaches addressing an earlier reintegration to social life.

Scalise V, Brindisino F, Pellicciari L, Minnucci S, Bonetti F.

Carpal tunnel syndrome: a national survey to monitor knowledge and operating methods.

Int J Environ Res Public Health. 2021 Feb 18;18(4):1995.

The aim of this article was to investigate the knowledge, management, and clinical practice of Italian physiotherapists concerning patients with carpal tunnel syndrome (CTS). A national cross-sectional survey consisted of 24 questions was administered from December 2019 until February 2020. A Chi-squared independence test was run to study any difference between subgroups of the sample and responses to the questionnaire. Five hundred and eight respondents completed the survey. Most respondents ($n = 225/508$; 44.3%) are under 29 years old, female ($n = 256/508$; 50.4%) and have been working as physiotherapists for less than 5 years ($n = 213/508$; 41.9%). Most of respondents correctly knows about the cause ($n = 455/508$, 89.6%), main signs and symptoms of CTS ($n = 415/508$, 81.70%) and administer education, manual therapy, myofascial techniques and therapeutic exercises ($n = 457/508$, 89.88%). Three hundred and sixty-four (71.68%) respondents were aware of the influence of psychosocial factors on the patient's outcomes. The survey showed greater adherence to evidences by physiotherapists holding a master's degree. The results are mostly comparable with other surveys structured all over the world on the same topic. Italian physiotherapists management of the CTS was not always in line with current evidence. Interventions such as education, manual therapy, therapeutic exercise, nerve and tendon glide techniques are widely used, while the orthotic is only offered by half of the sample.

Cecchi F, Cassio A, Lavezzi S, Scarponi F, Gatta G, Montis A, Bernucci C, Franceschini M, Bargellesi S, Paolucci S, Taricco M.

Redefining a minimal assessment protocol for stroke rehabilitation: the new "Protocollo di Minima per l'Ictus" - PMIC2020.

Eur J Phys Rehabil Med. 2021 May 27. Epub ahead of print.

The use of standardized assessment protocols is strongly recommended to identify patient's needs, outcomes, and predictors of response to specific interventions in Stroke rehabilitation. In 2008, the Italian Society of Physical and Rehabilitation Medicine (SIMFER) published the minimal protocol for the person with stroke ("Protocollo di Minima per l'Ictus" [PMIC]), in reference to the International classification of Functioning, Disability and Health. In 2019, the SIMFER appointed a working group to provide a revised, updated version in line with the most recent literature and suitable for all rehabilitation settings: the PMIC2020. Descriptive study based on the consensus of a panel of experts. The study setting includes all the rehabilitation settings. The population included is represented by stroke survivors with disability. The coordinator of the SIMFER National Stroke Section appointed the working group, including the 8 Stroke Section board members, and 4 more experts (3 physiatrists; 1 neurologist). An extensive revision of the international literature on stroke assessment recommendations was performed; each proposed change from PMIC was written and motivated, discussed and voted. The PMIC2020 is a single form, to be administered at any time of the rehabilitation pathway, including a minimum set of variables, consisting of a demographic/anamnestic section, and a clinical/functional assessment section. Newly introduced tools included measures of malnutrition (BMI<18.5); pain in verbal and non-verbal patients (Numeric Rating Scale-pain, Pain Assessment in Advanced Dementia Scale); neurological impairment (National Institute of Health-Stroke Scale); activity (Modified Barthel Index, Short Physical Performance Battery); and participation (Frenchay Activity Index). The PMIC2020 provides an updated tool for the multidimensional rehabilitation assessment of the stroke patient, at any stage of the rehabilitation pathway, aiming at a shared minimum set of variables defining patient's needs and at defined outcomes across different rehabilitation facilities and settings. The PMIC2020 identifies patient's needs, outcomes, and predictors of response to specific interventions in Stroke rehabilitation and provide ground for a highly needed Stroke Registry.

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 Jul;58(7):768-777. Epub 2020 Jan 29.

This is a multicenter prospective observational study of people with acute traumatic spinal cord injury (TSCI) admitted to rehabilitation.

The aim of the study is 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.

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

Functional gait recovery after a combination of conventional therapy and overground robot-assisted gait training is not associated with significant changes in muscle activation pattern: an EMG preliminary study on subjects subacute post stroke.

Brain Sci. 2021 Apr 1;11(4):448.

Overground Robot-Assisted Gait Training (o-RAGT) appears to be a promising stroke rehabilitation in terms of clinical outcomes. The literature on surface Electromyography (sEMG) assessment in o-RAGT is limited. This paper aimed to assess muscle activation patterns with sEMG in subjects subacute post stroke after training with o-RAGT and conventional therapy.

An observational preliminary study was carried out with subjects subacute post stroke who received 15 sessions of o-RAGT (5 sessions/week; 60 min) in combination with conventional therapy. The subjects were assessed with both clinical and instrumental evaluations. Gait kinematics and sEMG data were acquired before (T1) and after (T2) the period of treatment (during ecological gait), and during the first session of o-RAGT (o-RAGT1). An eight-channel wireless sEMG device acquired in sEMG signals. Significant differences in sEMG outcomes were found in the BS of TA between T1 and T2. There were no other significant correlations between the sEMG outcomes and the clinical results between T1 and T2.

There were significant functional gains in gait after complex intensive clinical rehabilitation with o-RAGT and conventional therapy. In addition, there was a significant increase in bilateral symmetry of the Tibialis Anterior muscles. At this stage of the signals from the tibialis anterior (TA), gastrocnemius medialis (GM), rectus femoris (RF), and biceps femoris caput longus (BF) muscles of each lower extremity. sEMG data processing extracted the Bilateral Symmetry (BS), the Co-Contraction (CC), and the Root Mean Square (RMS) coefficients.

Eight of 22 subjects in the subacute stage post stroke agreed to participate in this sEMG study. This subsample demonstrated a significant improvement in the motricity index of the affected lower limb and functional ambulation. The heterogeneity of the subjects' characteristics and the small number of subjects was associated with high variability research, functional gait recovery was associated with minimal change in muscle activation patterns.

Tomino C, Ilari S, Solfrizzi V, Malafoglia V, Zilio G, Russo P, Proietti S, Marcolongo F, Scapagnini G, Muscoli C, Rossini PM.

Mild Cognitive Impairment and Mild Dementia: The Role of Ginkgo biloba (EGb 761®)

Pharmaceuticals (Basel). 2021 Apr 1;14(4):305.

Mild cognitive impairment (MCI) and dementia are clinically prevalent in the elderly. There is a high risk of cognitive decline in patients diagnosed with MCI or dementia. This review describes the effectiveness of Ginkgo biloba leaf special extract EGb 761® for the treatment of dementia syndromes and EGb 761® combination therapy with other medications for symptomatic dementia. This drug has shown convincing results, improving cognitive function, neuropsychiatric symptoms and consequent reduction of caregiver stress and maintenance of autonomy in patients with age-related cognitive decline, MCI and mild to moderate dementia. Currently, there is little evidence to support the combination therapy with anti-dementia drugs and, therefore, more evidence is needed to evaluate the role of EGb 761® in mixed therapy.

D'Atri A, Scarpelli S, Gorgoni M, Truglia I, Lauri G, Cordone S, Ferrara M, Marra C, Rossini PM, De Gennaro L.

EEG alterations during wake and sleep in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease.

iScience. 2021 Apr 1;24(4):102386.

Patients with Alzheimer's disease (AD) undergo a slowing of waking electroencephalographic (EEG) rhythms since prodromal stages, which could be ascribed to poor sleep quality. We examined the relationship between wake and sleep alterations by assessing EEG activity during sleep and (pre-sleep/post-sleep) wakefulness in AD, mild cognitive impairment (MCI) and healthy controls. AD and MCI show high sleep latency and less slow-wave sleep. Reduced sigma activity characterizes non-rapid eye movement (NREM) sleep, reflecting sleep spindles loss. The EEG slowing characterizes REM sleep and wakefulness of AD and MCI, with strong correlations among the two phenomena suggesting common neuropathological mechanisms. Evening-to-morning variations in waking EEG revealed the gradual disappearance in MCI and AD of overnight changes in delta activity, indicating a progressive decay of sleep restorative functions on diurnal activity that correlates with the impairment of sleep high-frequency activity in AD. Our findings support a linkage between wake and sleep alterations, and the importance of sleep-related processes in Alzheimer's disease progression.

Romano P, Pournajaf S, Ottaviani M, Gison A, Infarinato F, Mantoni C, De Pandis MF, Franceschini M, Goffredo M.

Sensor network for analyzing upper body strategies in Parkinson's disease versus normative kinematic patterns.

Sensors (Basel). 2021 May 31;21(11):3823.

In rehabilitation, the upper limb function is generally assessed using clinical scales and functional motor tests. Although the Box and Block Test (BBT) is commonly used for its simplicity and ease of execution, it does not provide a quantitative measure of movement quality. This study proposes the integration of an ecological Inertial Measurement Units (IMUs) system for analysis of the upper body kinematics during the execution of a targeted version of BBT, by able-bodied persons with subjects with Parkinson's disease (PD). Joint angle parameters (mean angle and range of execution) and hand trajectory kinematic indices (mean velocity, mean acceleration, and dimensionless jerk) were calculated from the data acquired by a network of seven IMUs. The sensors were applied on the trunk, head, and upper limb in order to characterize the motor strategy used during the execution of BBT. Statistics revealed significant differences ($p < 0.05$) between the two groups, showing compensatory strategies in subjects with PD. The proposed IMU-based targeted BBT protocol allows to assess the upper limb function during manual dexterity tasks and could be used in the future for assessing the efficacy of rehabilitative treatments.

Grossi E, Caminada E, Goffredo M, Vescovo B, Castrignano T, Piscitelli D, Valagussa G, Franceschini M, Vanzulli F.

Patterns of restricted and repetitive behaviors in autism spectrum disorders: a cross-sectional video recording study. Preliminary report.

Brain Sci. 2021 May 21;11(6):678.

Several instruments have been proposed to investigate restricted, repetitive behaviors (RRBs) in individuals with Autism Spectrum Disorder (ASD). Systematic video observations may overcome questionnaire and interview limitations to investigate RRBs. This study aimed to analyze stereotypic patterns through video recordings and to determine the correlation between the number and appearance of RRBs to ASD severity.

Twenty health professionals wearing a body cam recorded 780 specific RRBs during everyday activities of 67 individuals with ASD (mean age: 14.2 ± 3.72 years) for three months. Each stereotypy was classified according to its complexity pattern (i.e., simple or complex) based on body parts and sensory channels involved.

The RRBs spectrum for each subject ranged from one to 33 different patterns (mean: 11.6 ± 6.82). Individuals with a lower number of stereotypies shown a lower ASD severity compared to subjects with a higher number of stereotypies ($p = 0.044$). No significant differences were observed between

individuals exhibiting simple (n = 40) and complex patterns (n = 27) of stereotypies on ASD severity, age, sex, and the number of stereotypies.

This study represents the first attempt to systematically document expression patterns of RRBs with a data-driven approach. This may provide a better understanding of the pathophysiology and management of RRBs.

Gimigliano F, Liguori S, Moretti A, Toro G, Rauch A, Negrini S; other members of the Technical Working Group, Iolascon G.

Correction to: 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. 2021 Mar 1;22(1):7. Erratum for: J Orthop Traumatol. 2020 Nov 14;21(1):20.

Piscitelli D, Ferrarello F, Ugolini A, Verola S, Pellicciari L.

Measurement properties of the Gross Motor Function Classification System, Gross Motor Function Classification System-Expanded & Revised, Manual Ability Classification System, and Communication Function Classification System in cerebral palsy: a systematic review with meta-analysis.

Dev Med Child Neurol. 2021 Nov;63(11):1251-1261.

To systematically review and meta-analyse the measurement properties of the Gross Motor Function Classification System (GMFCS), Gross Motor Function Classification System-Expanded & Revised (GMFCS-E&R), Manual Ability Classification System (MACS), and Communication Function Classification System (CFCS) in children with cerebral palsy (CP).

Six databases were searched. Articles on the measurement properties of the GMFCS, GMFCS-E&R, MACS, and CFCS administered to children with CP were included. Quality was assessed by means of the COnsensus-based Standards for the selection of health Measurement INstruments (COSMIN) Risk of Bias checklist. The level and grading of evidence were defined for each measurement property.

Forty-four articles were included in the systematic review and 37 articles were included in the meta-analysis. The level (grading) of evidence was strong (positive) for reliability and construct validity. Content validity displayed an unknown level of evidence for the GMFCS, limited evidence (positive) for the MACS, and moderate evidence (positive) for the CFCS. There was moderate (positive) evidence for measurement error in the GMFCS and MACS. The level of evidence for responsiveness was unknown. No studies investigated cross-cultural validity.

These instruments can be used by health care professionals and caregivers to quantify the constructs needed to measure ability in children with CP. Current high-quality evidence supports the use of these tools to classify ability in children with CP. Adopting the COSMIN guidelines, content, and cross-cultural validity should be investigated further. What this paper adds Strong evidence supports the reliability and construct validity of the GMFCS, GMFCS-E&R, MACS, and CFCS as functional classification systems in children with cerebral palsy. The GMFCS, GMFCS-E&R, MACS, and CFCS can be used by both health care professionals and caregivers. The GMFCS, GMFCS-E&R, MACS, and CFCS should not be used to detect change.

De Francesco S, Galluzzi S, Vanacore N, Festari C, Rossini PM, Cappa SF, Frisoni GB, Redolfi A.

Norms for automatic estimation of hippocampal atrophy and a step forward for applicability to the Italian population.

Front Neurosci. 2021 Jun 28;15:656808.

Hippocampal volume is one of the main biomarkers of Alzheimer's Dementia (AD). Over the years, advanced tools that performed automatic segmentation of Magnetic Resonance Imaging (MRI) T13D scans have been developed, such as FreeSurfer (FS) and ACM-Adaboost (AA).

Hippocampal volume is considered abnormal when it is below the 5th percentile of the normative population. The aim of this study was to set norms, established from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) population, for hippocampal volume measured with FS v.6.0 and AA tools in the neuGRID platform (www.neuGRID2.eu) and demonstrate their applicability for the Italian population.

Norms were set from a large group of 545 healthy controls belonging to ADNI. For each pipeline, subjects with segmentation errors were discarded, resulting in 532 valid segmentations for FS and 421 for AA (age range 56-90 years). The comparability of ADNI and the Italian Brain Normative Archive (IBNA), representative of the Italian general population, was assessed testing clinical variables, neuropsychological scores and normalized hippocampal volumes. Finally, percentiles were validated using the Italian Alzheimer's disease Repository Without Borders (ARWiBo) as external independent data set to evaluate FS and AA generalizability.

Hippocampal percentiles were checked with the chi-square goodness of fit test. P-values were not significant, showing that FS and AA algorithm distributions fitted the data well. Clinical, neuropsychological and volumetric features were similar in ADNI and IBNA ($p > 0.01$). Hippocampal volumes measured with both FS and AA were associated with age ($p < 0.001$). The 5th percentile thresholds, indicating left/right hippocampal atrophy were respectively: (i) below 3,223/3,456 mm³ at 56 years and 2,506/2,415 mm³ at 90 years for FS; (ii) below 4,583/4,873 mm³ at 56 years and 3,831/3,870 mm³ at 90 years for AA. The average volumes computed on 100 cognitively intact healthy controls (CN) selected from ARWiBo were close to the 50th percentiles, while those for 100 AD patients were close to the abnormal percentiles.

Norms generated from ADNI through the automatic FS and AA segmentation tools may be used as normative references for Italian patients with suspected AD.

Fried PJ, Santarnecchi E, Antal A, Bartres-Faz D, Bestmann S, Carpenter LL, Celnik P, Edwards D, Farzan F, Fecteau S, George MS, He B, Kim YH, Leocani L, Lisanby SH, Loo C, Luber B, Nitsche MA, Paulus W, Rossi S, Rossini PM, Rothwell J, Sack AT, Thut G, Ugawa Y, Ziemann U, Hallett M, Pascual-Leone A.

Training in the practice of noninvasive brain stimulation: recommendations from an IFCN committee.

Clin Neurophysiol. 2021 Mar;132(3):819-837.

As the field of noninvasive brain stimulation (NIBS) expands, there is a growing need for comprehensive guidelines on training practitioners in the safe and effective administration of NIBS techniques in their various research and clinical applications. This article provides recommendations on the structure and content of this training. Three different types of practitioners are considered (Technicians, Clinicians, and Scientists), to attempt to cover the range of education and responsibilities of practitioners in NIBS from the laboratory to the clinic. Basic or core competencies and more advanced knowledge and skills are discussed, and recommendations offered regarding didactic and practical curricular components. We encourage individual licensing and governing bodies to implement these guidelines.

Ricciardi D, Casagrande S, Iodice F, Orlando B, Trojsi F, Cirillo G, Clerico M, Bozzali M, Leocani L, Abbadessa G, Miele G, Tedeschi G, Bonavita S, Lavorgna L; Digital Technologies, Web, Social Media Study Group of the Italian Society of Neurology.

Myasthenia gravis and telemedicine: a lesson from COVID-19 pandemic.

Neurol Sci. 2021 Dec;42(12):4889-4892.

COVID-19 pandemic has induced an urgent reorganization of the healthcare system to ensure continuity of care for patients affected by chronic neurological diseases including myasthenia gravis (MG). Due to

the fluctuating nature of the disease, early detection of disease worsening, adverse events, and possibly life-threatening complications is mandatory. This work analyzes the main unresolved issues in the management of the myasthenic patient, the possibilities offered so far by digital technologies, and proposes an online evaluation protocol based on 4 simple tests to improve MG management. Telemedicine and Digital Technology might help neurologists in the clinical decision-making process of MG management, avoiding unnecessary in presence consultations and allowing a rational use of the time and space reduced by the pandemic.

Calabrò RS, Morone G, Naro A, Gandolfi M, Liotti V, D'aurizio C, Straudi S, Focacci A, Pournajaf S, Aprile I, Filoni S, Zanetti C, Leo MR, Tedesco L, Spina V, Chisari C, Taveggia G, Mazzoleni S, Smania N, Paolucci S, Franceschini M, Bonaiuti D.

Robot-assisted training for upper limb in stroke (ROBOTAS): an observational, multicenter study to identify determinants of efficacy.

J Clin Med. 2021 Nov 11;10(22):5245.

The loss of arm function is a common and disabling outcome after stroke. Robot-assisted upper limb (UL) training may improve outcomes. The aim of this study was to explore the effect of robot-assisted training using end-effector and exoskeleton robots on UL function following a stroke in real-life clinical practice.

A total of 105 patients affected by a first-ever supratentorial stroke were enrolled in 18 neurorehabilitation centers and treated with electromechanically assisted arm training as an add-on to conventional therapy. Both interventions provided either an exoskeleton or an end-effector device (as per clinical practice) and consisted of 20 sessions (3/5 times per week; 6-8 weeks). Patients were assessed by validated UL scales at baseline (T0), post-treatment (T1), and at three-month follow-up (T2). The primary outcome was the Fugl-Meyer Assessment for the upper extremity (FMA-UE).

FMA-UE improved at T1 by 6 points on average in the end-effector group and 11 points on average in the exoskeleton group ($p < 0.0001$). Exoskeletons were more effective in the subacute phase, whereas the end-effectors were more effective in the chronic phase ($p < 0.0001$).

Robot-assisted training might help improve UL function in stroke patients as an add-on treatment in both subacute and chronic stages. Pragmatic and highmethodological studies are needed to confirm the showed effectiveness of the exoskeleton and end-effector devices.

Calabrò RS, Morone G, Naro A, Gandolfi M, Liotti V, D'aurizio C, Straudi S, Focacci A, Pournajaf S, Aprile I, Filoni S, Zanetti C, Leo MR, Tedesco L, Spina V, Chisari C, Taveggia G, Mazzoleni S, Smania N, Paolucci S, Franceschini M, Bonaiuti D.

Robot-assisted training for upper limb in stroke (ROBOTAS): an observational, multicenter study to identify determinants of efficacy.

J Clin Med. 2021 Nov 11;10(22):5245.

The loss of arm function is a common and disabling outcome after stroke. Robot-assisted upper limb (UL) training may improve outcomes. The aim of this study was to explore the effect of robot-assisted training using end-effector and exoskeleton robots on UL function following a stroke in real-life clinical practice.

A total of 105 patients affected by a first-ever supratentorial stroke were enrolled in 18 neurorehabilitation centers and treated with electromechanically assisted arm training as an add-on to conventional therapy. Both interventions provided either an exoskeleton or an end-effector device (as per clinical practice) and consisted of 20 sessions (3/5 times per week; 6-8 weeks). Patients were assessed by validated UL scales at baseline (T0), post-treatment (T1), and at three-month follow-up (T2). The primary outcome was the Fugl-Meyer Assessment for the upper extremity (FMA-UE).

FMA-UE improved at T1 by 6 points on average in the end-effector group and 11 points on average in the exoskeleton group ($p < 0.0001$). Exoskeletons were more effective in the subacute phase, whereas the end-effectors were more effective in the chronic phase ($p < 0.0001$).

Robot-assisted training might help improve UL function in stroke patients as an add-on treatment in both subacute and chronic stages. Pragmatic and highmethodological studies are needed to confirm the showed effectiveness of the exoskeleton and end-effector devices.

Pellicciari L, Chiarotto A, Giusti E, Crins MHP, Roorda LD, Terwee CB.

Psychometric properties of the patient-reported outcomes measurement information system scale v1.2: global health (PROMIS-GH) in a Dutch general population.

Health Qual Life Outcomes. 2021 Sep 27;19(1):226.

The aim of the study is to assess the psychometric properties of the Dutch-Flemish Patient-Reported Outcome Measurement Information System Scale v1.2 - Global Health (PROMIS-GH).

The PROMIS-GH (also referred to as PROMIS-10) was administered to 4370 persons from the Dutch general population. Unidimensionality (CFI \geq 0.95; TLI \geq 0.95; RMSEA \leq 0.06; SRMR \leq 0.08), local independence (residual correlations $<$ 0.20), monotonicity (H $>$ 0.30), model fit with the Graded Response Model (GRM, $p <$ 0.001), internal consistency (alpha $>$ 0.75), precision (total score information across the latent trait), measurement invariance (no Differential Item Functioning [DIF]), and cross-cultural validity (no DIF for language, Dutch vs. United States English) of its subscales, composed of four items each, Global Mental Health (GMH) and Global Physical Health (GPH), were assessed.

Confirmatory factor analyses, on both subscales, revealed slight departures from unidimensionality for GMH (CFI = 0.98; TLI = 0.95, RMSEA = 0.22; SRMR = 0.04) and GPH (CFI = 0.99; TLI = 0.97; RMSEA = 0.12; SRMR = 0.03). Local independence, monotonicity, GRM model fit, internal consistency, precision and cross-cultural validity were supported. However, Global10 (emotional problems) showed misfit on the GMH subscale, while Global08 (fatigue) presented DIF for age.

The psychometric properties of the PROMIS-GH in the Dutch population were considered acceptable. Sufficient local independence, monotonicity, GRM fit, internal consistency, measurement invariance and cross-cultural validity were found. If future studies find similar results, structural validity of the GMH could be enhanced by improving or replacing Global10 (emotional problems).

Di Iorio R, Rossi S, Rossini PM.

One century of healing currents into the brain from the scalp: from electroconvulsive therapy to repetitive transcranial magnetic stimulation for neuropsychiatric disorders.

Clin Neurophysiol. 2021 Nov11;133:145-151.

Electroconvulsive therapy (ECT) was applied for the first time in humans in 1938: after 80 years, it remains conceptually similar today except for modifications of the original protocol aimed to reduce adverse effects (as persistent memory deficits) without losing clinical efficacy. We illustrate the stages of development as well as ups and downs of ECT use in the last eighty years, and the impact that it still maintains for treatment of certain psychiatric conditions. Targeted, individualized and safe noninvasive neuromodulatory interventions are now possible for many neuropsychiatric disorders thanks to repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) that injects currents in the brain through electromagnetic induction, powerful enough to depolarize cortical neurons and related networks. Although ECT and rTMS differ in basic concepts, mechanisms, tolerability, side effects and acceptability, and beyond their conceptual remoteness (ECT) or proximity (rTMS) to "precision medicine" approaches, the two brain stimulation techniques may be considered as complementary rather than competing in the current treatment of certain neuropsychiatric disorders.

Costa C, Vecchio F, Romoli M, Miraglia F, Cesarini EN, Alù F, Calabresi P, Rossini PM.

Cognitive decline risk stratification in people with late-onset epilepsy of unknown etiology: an electroencephalographic connectivity and graph theory pilot study.

J Alzheimers Dis. 2021 Nov 22. Epubahead of print.

Although people with late onset epilepsy of unknown etiology (LOEU) are at higher risk of cognitive decline compared to the general population, we still lack affordable tools to predict and stratify their risk of dementia.

This pilot-study investigates the potential application of electroencephalography (EEG) network small-world (SW) properties in predicting cognitive decline among patients with LOEU.

People diagnosed with LOEU and normal cognitive examination at the time of epilepsy diagnosis were included. Cerebrospinal fluid biomarkers, brain imaging, and neuropsychological assessment were performed at the time of epilepsy diagnosis. Baseline EEG was analyzed for SW properties. Patients were followed-up over time with neuropsychological testing to define the trajectory of cognitive decline.

Over 5.1 years of follow-up, among 24 patients diagnosed with LOEU, 62.5% were female, mean age was 65.3 years, thirteen developed mild cognitive impairment (MCI), and four developed dementia. Patients with LOEU developing MCI had lower values of SW coefficients in the delta ($p = 0.03$) band and higher SW values in the alpha frequency bands ($p = 0.02$) compared to patients having normal cognition at last follow-up. The two separate ANOVAs, for low and alpha bands, confirmed an interaction between SW and cognitive decline at follow-up. A similar gradient was confirmed for patients developing dementia compared to those with normal cognitive function as well as to those developing MCI.

Baseline EEG analysis through SW is worth investigating as an affordable, widely available tool to stratify LOEU patients for their risk of cognitive decline.

Cracchiolo M, Panarese A, Valle G, Strauss I, Granata G, Iorio RD, Stieglitz T, Rossini PM, Mazzoni A, Micera S.

Computational approaches to decode grasping force and velocity level in upper-limb amputee from intraneural peripheral signals.

J Neural Eng. 2021 Apr 6;18(5).

Recent results have shown the potentials of neural interfaces to provide sensory feedback to subjects with limb amputation increasing prosthesis usability. However, their advantages for decoding motor control signals over current methods based on electromyography (EMG) are still debated. In this study we compared a standard EMG-based method with approaches that use peripheral intraneural data to infer distinct levels of grasping force and velocity in a trans-radial amputee. Surface EMG (three channels) and intraneural signals (collected with transverse intrafascicular multichannel electrodes, TIMEs, 56 channels) were simultaneously recorded during the amputee's intended grasping movements. We sorted single unit activity (SUA) from each neural signal and then we identified the most informative units. EMG envelopes were extracted from the recorded EMG signals. A reference support vector machine (SVM) classifier was used to map EMG envelopes into desired force and velocity levels. Two decoding approaches using SUA were then tested and compared to the EMG-based reference classifier: (a) SVM classification of firing rates into desired force and velocity levels; (b) reconstruction of covariates (the grasp cue level or EMG envelopes) from neural data and use of covariates for classification into desired force and velocity levels. Using EMG envelopes as reconstructed covariates from SUA yielded significantly better results than the other approaches tested, with performance similar to that of the EMG-based reference classifier, and stable over three different recording days. Of the two reconstruction algorithms used in this approach, a linear Kalman filter and a nonlinear point process adaptive filter, the nonlinear filter gave better results. This study presented a new effective approach for decoding grasping force and velocity from peripheral intraneural signals in a trans-radial amputee, which relies on using SUA to reconstruct EMG envelopes. Being dependent on EMG recordings only for the training phase, this approach can fully exploit the advantages of implanted neural interfaces and potentially overcome, in the medium to long term, current state-of-the-art methods.

Scarlata S, Finamore P, Laudisio A, Cardaci V, Ramaccia M, D'Alessandro F, Pedone C, Antonelli Incalzi R, Cesari M.

Association between frailty index, lung function, and major clinical determinants in chronic obstructive pulmonary disease.

Airflow limitation alone is unable to capture the complexity of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), better explained by comprehensive disease-specific indexes. Frailty is a clinical condition characterized by high vulnerability to internal and external stressors and represents a strong predictor of adverse outcomes.

Primary objective was to test the association between indexes of lung function and COPD severity with frailty index (FI), and secondary to evaluate the association between FI and comorbidities, cognitive and physical function, BODE index, and mortality.

150 stable COPD outpatients were enrolled and followed up to 4 years. At baseline, participants performed a geriatric multidimensional assessment, pulmonary function tests, arterial blood gas analysis, 6-min walking test, and bioimpedance analysis. BODE and FI were calculated. Spearman's ρ was used to assess correlations. Mortality was assessed using Kaplan-Meier curves.

Participants were followed up for a median of 39 months. Mean age was 73 years and median frailty index 0.15 (IQR 0.11-0.19). FI was higher in frequent exacerbators (≥ 2 /year) (mean 0.18 vs 0.15, p 0.01) and dyspnoeic patients (mMRC ≥ 2) (mean 0.21 vs 0.14, $p < 0.01$) and correlated with lung volumes, expiratory flows, and pressure of arterial oxygen. FI was positively correlated with the number of comorbidities, depressive symptoms, cognitive decline, and BODE index. Mortality was higher in patients with BODE higher than 3 (HR 3.6, 95% CI 1.2-10.9), and not associated with FI.

Scarlata S, Cardaci V, Santangelo C, Matarese M, Cesari M, Antonelli Incalzi R.

Distancing measures in COVID-19 pandemic: loneliness, more than physical isolation, affects health status and psycho-cognitive wellbeing in elderly patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease.

COPD. 2021 Jun 28:1-6.

Since the outbreak of the SARS-CoV-2 pandemic in 2020, many governments have been imposing confinement and physical distancing measures. No data exist on the effects of lockdowns on the health status of patients affected by chronic pathologies, specifically those with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). Our study aims to establish variations across the psychological and cognitive profile of patients during the isolation period in Italy, in a cohort of patients affected by COPD, between February and May 2020. Forty patients with established COPD were comprehensively evaluated by geriatric multidimensional assessment before the spread of the epidemic in Italy, and submitted to a second evaluation during the subsequent lockdown. We assessed functional ability, basic and instrumental Activities of Daily Living (ADL and IADL), cognition and mood status. We compared the scores obtained at baseline against those obtained during the pandemic, and used mean differences for correlation with major clinical and functional indexes. The score differences from MMSE, ADL and IADL were statistically significant. Such differences were correlated to the presence of a caregiver and to the total number of family members living together. Remarkably, the loneliness dimension, more than the restrictions themselves, seemed to represent the major determinant of altered health status and depressed psycho-cognitive profile in our population. Also remarkably, we detected no correlation between the score variation and the respiratory function indexes of disease severity. The isolation measures adopted during the SARS-CoV-2 pandemic have triggered the classic clinical string associated to geriatric isolation, which leads to a deterioration of cognitive functions, independence and frailty levels in a population affected by a chronic degenerative disease, such as COPD. If considered from a multidimensional geriatric point of view, the individual benefit of isolation measures could be small or non-existent.

LINEA 3

Innovazione in medicina e riabilitazione

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Sviluppo, validazione e utilizzo di uno strumento di comunicazione per il superamento della barriera linguistica in ambito sanitaria

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 (in questo caso paziente) e che, richiedono, quindi, adattamenti complessi per garantire uno scambio comunicativo; il dover far fronte alla barriera linguistica risulta oggi una problematica in notevole aumento in ambito sanitario.

Diversi studi hanno dimostrato che non conoscere la lingua del paese in cui ci si trova, soprattutto se in situazioni di “svantaggio”, porta all’isolamento sociale e alla chiusura. Il problema della comunicazione interculturale in ambito sanitario appare come un problema attuale e che necessita di strategie per essere superato.

Considerato la percentuale di persone provenienti da altri paesi in Italia, visto anche lo stato di “emergenza umanitaria” negli ospedali, aumenta il numero di stranieri con bisogni sanitari.

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 onomatopree, 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.

Oggetto dello studio: 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:

1. 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.
2. Validazione dello strumento con soggetti italiani di lingua italiana.
3. Validazione dello strumento con soggetti non italiani che parlano la lingua italiana.
4. Utilizzo dello strumento validato con soggetti non italiani che non parlano la lingua italiana.

Questo studio ha 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 sarà sviluppato presso l'IRCCS San Raffaele 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.

E' stato selezionato un set di pittogrammi rappresentativi di situazioni più comuni in ambito sanitario e necessità ricorrenti dei pazienti afferenti alla Struttura, racchiusi in un breve opuscolo di poche pagine che, idealmente, dovrebbe servire al paziente per comunicare in modo immediato e chiaro i 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 sarà utilizzato con soggetti che non parlano la lingua italiana.

Saranno acquisiti dati in forma anonima di tipo demografico, clinico e di accettazione dello strumento.

Nel corso del 2021 a causa del protrarsi dell'emergenza sanitaria dovuta al coronavirus e all'impatto avuto sullo svolgimento delle attività, non è stata raggiunta la validazione che dovrà proseguire nel corso del 2022.

Allo stato attuale la somministrazione ha riguardato n. 105 soggetti italiani e 49 soggetti 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 uno strumento comunicativo semplice ed efficace.

L'opuscolo comunicativo sarà utilizzato nella pratica clinica presso l'IRCCS San Raffaele Roma come comunicatore per soggetti che non parlano la lingua italiana per abbattere le barriere linguistiche in modo efficace, immediato ed economicamente sostenibile.

Riabilitazione robotica attivo-assistita degli arti superiori e 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.

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 seguente 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 intende 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 permette 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. Tali argomenti sono particolarmente attuali nel panorama Europeo, in cui le nuove call Horizon 2020 sono rivolte al finanziamento di progetti di questo tipo.

STUDIO 1: La riabilitazione robot-assistita del cammino sul terreno libero (Overground Robot-Assisted Gait Training: o-RAGT) permette ai clinici di offrire un trattamento intensivo mirato alle persone con il deficit della deambulazione. Questo studio multicentrico randomizzato

controllato ha approfondito l'efficacia di o-RAGT nei soggetti con ictus subacuto, rispetto al training del cammino con l'approccio tradizionale. Sono stati reclutati 75 soggetti con ictus subacuto (38 nel Gruppo Sperimentale (EG) e 37 nel Gruppo di Controllo (CG)). Entrambi i gruppi hanno ricevuto 15 sessioni di training del cammino (con una frequenza di 5 sessioni a settimanadi 60 minuti/sessione) e riabilitazione convenzionale giornaliera. Tutti i partecipanti sono stati valutati clinicamente all'inizio (T1) e alla fine (T2) del periodo di trattamento con le seguenti scale di valutazione: Il 6-Minute Walking Test (6MWT), che è stato considerato come l'outcome primario dello studio; modified Ashworth Scale per la valutazione di spasticità dell'arto inferiore affetto (MAS-AL); Motricity Index dell'arto inferiore affetto (MI-AL); il Trunk Control Test (TCT); Functional Ambulation Classification (FAC); 10 meters Walking Test (10MWT); modified Barthel Index (mBI) e Walking Handicap Scale (WHS).

STUDIO 2: Il Robot-Assisted Gait Training (o-RAGT) è stato dimostrato un approccio riabilitativo promettente, dal punto di vista clinico, per le persone con ictus. Tuttavia, la letteratura sulla valutazione dell'elettromiografia di superficie (sEMG) in o-RAGT è limitata. Questo studio ha l'obiettivo di valutare sEMG in soggetti con ictus subacuto per lo studio degli effetti di o-RAGT, in aggiunta alla terapia convenzionale, in termini di attivazione muscolare. A tal fine, 22 soggetti con ictus in fase subacuta sono stati reclutati e hanno ricevuto 15 sessioni di o-RAGT utilizzando un esoscheletro indossabile over-ground (5 sessioni/settimana; ognuno di 60 minuti) in combinazione con il trattamento riabilitativo convenzionale. I soggetti sono stati valutati sia attraverso le valutazioni cliniche che quelle strumentali. La cinematica del cammino e sEMG sono state acquisite: prima (T1) e dopo (T2) il trattamento durante la deambulazione in ambiente ecologico; e durante la prima sessione di o-RAGT (o-RAGT1). Un dispositivo sEMG wireless a otto canali è stato utilizzato per acquisire i segnali dei muscoli tibiale anteriore (TA), gastrocnemio mediale (GM), retto femorale (RF) e bicipite femorale caput longus (BF) di ciascun arto inferiore. L'elaborazione dei dati sEMG ha estratto i coefficienti Bilateral Symmetry (BS), Co-Contraazione (CC) e Root Mean Square (RMS).

STUDIO 3: La perdita funzionale dell'arto superiore è una conseguenza molto frequente ed invalidante nei sopravvissuti da ictus. La riabilitazione robot-assistita degli arti superiori può migliorare i risultati con un approccio intensivo e task-orientato. Lo scopo di questo studio era di esplorare l'effetto del training robot-assistito utilizzando i sistemi robotici di tipo esoscheletro e end-effector sulla funzione dell'arto superiore dopo un ictus nella pratica clinica della vita reale. Un totale di 105 pazienti affetti da un primo ictus sopratentoriale è stato arruolato in 18 centri di neuroriabilitazione e trattati con la riabilitazione robot-assistita dell'arto superiore in aggiunta alla terapia convenzionale. Entrambi gli interventi prevedevano un esoscheletro o un dispositivo end-effector (come da pratica clinica) e consistevano in 20 sessioni (3/5 volte a settimana; per una durata complessiva di 6-8 settimane). I pazienti sono stati valutati mediante scale cliniche convalidate all'inizio (T0), dopo il trattamento (T1) e al follow-up di tre mesi (T2). La scala di Fugl-Meyer per l'arto superiore (FMA-UE) è stata considerata come l'outcome primario dello studio.

STUDIO 4: Il rapido sviluppo di dispositivi elettromeccanici e robotici ha profondamente influenzato la neuroriabilitazione. La crescita negli aspetti scientifici e tecnologici è fondamentale per aumentare il numero di dispositivi di nuova concezione e i medici hanno accolto con entusiasmo tale crescita. Tuttavia, il miglioramento dello standard per la segnalazione degli aspetti clinici, tecnici e normativi di tali dispositivi elettromeccanici e robotici rimane un'esigenza insoddisfatta nella neuroriabilitazione. Di conseguenza, questo studio mirava ad analizzare la letteratura esistente sui dispositivi elettromeccanici e robotici utilizzati nella neuroriabilitazione, considerando gli attuali sistemi di classificazione clinica, tecnica e normativa. Nell'ambito della CICERONE Consensus Conference, sono stati esaminati gli studi sui dispositivi elettromeccanici e robotici utilizzati per la riabilitazione degli arti superiori e inferiori

nelle persone con disabilità neurologiche nell'età adulta e nell'infanzia. Abbiamo condotto una ricerca bibliografica utilizzando i seguenti database: MEDLINE, Cochrane Library, PeDro, Institute of Electrical and Electronics Engineers, Science Direct e Google Scholar. Sono stati applicati sistemi di classificazione clinica, tecnica e normativa per raccogliere informazioni sui dispositivi elettromeccanici e robotici. Sono stati studiati i disegni e le popolazioni dello studio.

Risultati ottenuti:

STUDIO 1: Il 6MWT è aumentato in entrambi i gruppi, il che è stato confermato sia dall'analisi frequentista che da quella bayesiana. Risultati simili sono stati registrati anche nel MI-AL, 10MWT, mBI e MAS-AL. Un numero significativo di soggetti di entrambi i gruppi ha ottenuto un miglioramento nella deambulazione funzionale (valutato con la FAC) e in quella in comunità (valutata con il WHS) al T2. Gli effetti clinici di o-RAGT complessivamente erano simili al training del cammino con l'approccio convenzionale nei soggetti con ictus subacuto. I risultati ottenuti in questo studio sono incoraggianti e suggeriscono future sperimentazioni cliniche su tale argomento.

STUDIO 2: Sono state trovate differenze significative negli esiti di sEMG per quanto riguarda la simmetria bilaterale (BS) del muscolo TA tra T1 e T2, suggerendo che l'esoscheletro indossabile over-ground potrebbe migliorare la coordinazione neuromuscolare della simmetria laterale durante il cammino. Tuttavia, non è stato possibile trovare alcuna correlazione tra gli esiti di sEMG e gli outcome clinici. Anche un miglioramento di Co-Contraazione (CC) e Root Mean Square (RMS) alla fine del trattamento o-RAGT è stato trovato, anche se non statisticamente significativo. L'acquisizione durante o-RAGT1 ha mostrato attivazioni muscolari volontarie durante il cammino con l'esoscheletro. È stato fattibile eseguire l'analisi sEMG in un contesto riabilitativo clinico intensivo e complesso. Il recupero funzionale del cammino dopo il trattamento non è stato associato ai cambiamenti significativi nel pattern di attivazione muscolare. Tuttavia, il campione studiato dei soggetti in fase subacuta post-ictus è l'eterogeneità delle loro le caratteristiche ha causato un'elevata variabilità nei segnali sEMG.

STUDIO 3: FMA-UE è migliorato al T1 in media di 6 punti nel gruppo end-effector e di 11 punti in media nel gruppo esoscheletro ($p < 0,0001$). Gli esoscheletri erano più efficaci nella fase subacuta, mentre gli end-effector sono stati rilevati più efficaci nella fase cronica ($p < 0,0001$). Concludendo, la riabilitazione robot-assistita potrebbe aiutare a migliorare la funzione dell'arto superiore nei pazienti con ictus come trattamento aggiuntivo sia in fase subacuta che cronica. Sono necessari studi pragmatici e altamente metodologici per confermare l'efficacia dimostrata dell'esoscheletro e dei dispositivi end-effector.

STUDIO 4: Complessivamente, 316 studi sono stati inclusi nell'analisi. Più della metà (52%) degli studi erano studi randomizzati e controllati (RCT). La popolazione ha studiato i più colpiti da ictus, seguiti da lesioni del midollo spinale, sclerosi multipla, paralisi cerebrale e lesioni cerebrali traumatiche. In totale sono stati descritti 100 dispositivi; di questi, il 19% è stato certificato con il marchio CE. Nel complesso, il tipo principale di dispositivo era un esoscheletro. Tuttavia, i dispositivi end-effector sono stati utilizzati principalmente per gli arti superiori, mentre gli esoscheletri sono stati utilizzati per gli arti inferiori (sia per bambini che per adulti).

Analizzando esclusivamente gli articoli relativi a pazienti in età pediatrica è emerso che la maggior parte degli studi ha coinvolto bambini con paralisi cerebrale. Solo un terzo degli studi erano studi randomizzati e controllati. Complessivamente sono stati studiati 17 dispositivi (nove sistemi end-effector e otto esoscheletri), di cui solo 4 (24%) avevano il marchio CE. Gli studi differiscono sulla durata, l'intensità e le misure di esito dei protocolli di riabilitazione. La ricerca futura dovrebbe migliorare sia i protocolli di riabilitazione che la descrizione dei dispositivi.

Lo studio 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 CEFALEA E DOLORE NEUROPATICO

Studio osservazionale italiano dell'emicrania (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). 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. Studi condotti sulla popolazione italiana hanno dimostrato percentuali ben più alte e preoccupanti. 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). 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). 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. 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). 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'emigrania ha gettato le basi per lo studio osservazionale nazionale sull'emigrania: "I-GRAINE". Lo studio implementa ed include al suo interno l'esperienza del precedente studio di coorte su Emigrania Cronica (Studio IRON) che ha preso le mosse nel 2014 ed ha ad oggi arruolato >700 pazienti reclutati in 26 centri cefalee italiani. Studio osservazionale prospettico, multicentrico, non interventistico sulla storia clinica dell'emigrania nella pratica clinica che utilizza una rete di centri cefalee sul territorio italiano.

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 emigrania episodica e cronica;
3. individuare l'impatto di fattori legati alla gestione del paziente sull'evoluzione e la prognosi dell'emigrania
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 emigrania I-GRAINE è il 10% dei pazienti seguiti presso i centri cefalee aderenti al registro.

All'interno dell'I-GRAINE 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 verranno arruolati circa 6,000 dei pazienti incidenti (definiti come aventi data di prima visita nei 6 mesi precedenti all'arruolamento nel registro), che saranno invitati a partecipare a uno studio di follow up e raccolta dati allargata.

La durata dello studio osservazionale I-GRAINE è di 5 anni e intende di misurare l'evoluzione dell'handicap prodotto dall'emigrania, il suo impatto sulla vita del paziente, nonché gli effetti di nuovi trattamenti di recente introduzione.

Lo studio è stato avviato ad Aprile 2021 e al 31/12/2021 ha visto l'arruolamento di complessivi 255 pazienti. Nel 2022 si prevede la continuazione delle attività previste nello studio osservazionale.

AREA DISABILITÀ DELLO SVILUPPO E RIABILITAZIONE

Accademia dello sport per bambini con Disabilità dello Sviluppo ed Intellettiva

Sebbene individui con disabilità intellettive abbiano generalmente diverse limitazioni fisiche e motorie (Shumway-Cook & Woollacott, 1985), è per loro possibile partecipare in molte forme di attività sportiva e ricreativa. Tuttavia, questi pazienti hanno generalmente un basso livello di attività fisica rispetto ai pari età sani, mostrando un più basso valore di consumo di ossigeno, limitazioni aerobiche funzionali, e una peggiore ventilazione. In più, molti individui affetti, ad esempio da sindrome di Down sono sovrappeso o obesi, con un'ipotonia muscolare diffusa (Dodd & Shields, 2005; Foley et al., 2014), una limitazione della coordinazione motoria e dell'equilibrio, e conseguenti alterazioni motorie e del cammino dovute anche a aumentata lassità legamentosa (Galli et al., 2008). In particolare, Caselli et al. (1991) hanno riportato che il cammino in giovani e adolescenti con sindrome di Down è caratterizzato da eccessiva extra rotazione delle anche, aumentata flessione del ginocchio e valgismo, rotazione esterna della tibia. Inoltre, si è osservato una marcata pronazione del piede con implicazioni sulla stabilità posturale della locomozione.

Al contrario, gli individui con disabilità intellettive che scelgono di praticare attività sportiva hanno maggiori probabilità di alterare il loro stato di composizione corporea (Li et al., 2015), aiutando a migliorare la propria salute generale e diminuendo la probabilità di insorgenza di altri disturbi cardiovascolari e patologie come il diabete (Crawford et al., 2015).

L'attività sportiva a sua volta promuove la fiducia in sé stessi e l'indipendenza, e pur non essendo queste direttamente connesse allo stato di salute, sono entrambi fattori importanti per la qualità della vita (Rimmer et al., 2004).

Ad oggi non vi è evidenza scientifica su quali siano gli effetti dell'attività sportiva sulla biomeccanica del cammino e sul controllo motorio e posturale in pazienti affetti da disabilità intellettive, e in particolare se tali effetti siano riconducibili ad un ripristino, anche parziale, delle funzionalità tipiche dell'individuo sano. Si può ipotizzare che la biomeccanica della deambulazione sia positivamente influenzata 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 confrontano le caratteristiche di un gruppo di soggetti affetti da disabilità intellettive partecipanti alle competizioni Special Olympics rispetto a un gruppo di controllo, allineato per età e tipo di patologia, di soggetti non praticanti attività sportiva, i cui dati vengono di routine raccolti dai laboratori clinici interessati.

Si intende verificare se la regolare attività fisica migliori le 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 sono confrontate con un Gruppo di Controllo (CG) costituito da soggetti di simile età e grado di disabilità, non impegnati in attività agonistiche. Sono 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 vengono eseguite da osservatori in cieco rispetto al gruppo. È stata completata l'acquisizione dei dati di analisi del cammino di 93 giovani con sindrome di Down (52 sportivi e 41 controlli non praticanti sport) che sarà conclusa nel 2022.

AREA EPIDEMIOLOGIA CLINICA E MOLECOLARE

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 basato sui programmi proposti riduce 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.

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).

Endpoints Secondari

- Valutazione comparativa, a 1 anno dall'inizio dello studio, del numero di ammissioni al Pronto Soccorso inerenti all'evento "caduta" riportate dal paziente al medico nei due gruppi di studio.

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

Lo studio è multicentrico interventistico educativo non farmacologico.

Sono coinvolti circa 100 MMG ai quali verrà 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, deve eseguire una visita domiciliare al paziente per valutare la presenza di rischi nell'ambiente domestico e lasciare le indicazioni su come evitarli.

Ci si attende che si assista ad 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

Le persone anziane che hanno più probabilità di cadere, oltre a quelle già cadute 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.

Laboratorio di Bioingegneria della Riabilitazione

Implementazione di modelli di Health Technology Assessment: 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 HTA e permettono una valutazione multidisciplinare coinvolgendo i diversi professionisti e stakeholder del processo sanitario, valutando l'impatto di queste innovazioni in ambito 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.
- Supporto alla pianificazione degli investimenti tecnologici

Report completi di HTA relativi alle nuove tecnologie, efficientazione dei protocolli clinici, ottimizzazione dei costi, pianificazione dei costi sorgenti.

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-eficaci 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, un gruppo di 24 strutture come il gruppo 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 2021 l'implementazione di HTA ha permesso l'introduzione di nuove tecnologie per la somministrazione di

- Tecar terapia (o diatermia): ovvero attraverso una tecnica di intervento fisico in grado di stimolare l'attivazione di processi anti infiammatori e riparativi attraverso l'iniezione di energia all'interno dei tessuti trattati (trasferimento energetico capacitivo-resistivo).
- Elettroterapia: strumento per la stimolazione antalgica o terapeutica attraverso la somministrazione di correnti elettriche.
- Laser terapia: una tecnica di intervento fisico in grado di stimolare l'attivazione di processi anti infiammatori e riparativi attraverso l'iniezione di energia all'interno dei tessuti attraverso diodi laser.

Sviluppo e validazione di tecnologie per la teleriabilitazione e il telemonitoraggio

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 nuove tecnologie in ambito "Digital Health" possono essere una soluzione efficace a questi problemi in termini di miglioramento della qualità dei servizi, facile accesso da parte del cittadino e inserimento di protocolli personalizzati e incentrati sul paziente. Le iniziative digitali proposte nel panorama nazionale si inseriscono nella rivoluzione 4.0 che permette la facile fruibilità e l'interconnessione di sistemi con l'obiettivo di accrescere la qualità dei servizi sanitari abbattendo l'impatto economico, così come previsto dall'Agenda Digitale Italiana.

Il presente progetto propone la valutazione della fattibilità, dell'efficacia dell'accettazione di piattaforme digitali di Teleriabilitazione e telemonitoraggio volte allo svolgimento di terapie innovative mediante il supporto medico da remoto.

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

L'ICT permette al paziente di interagire con il personale medico e assistenziale, garantire una continuità della terapia anche al di fuori delle mura ospedaliere, tutelare l'equità tra l'accesso ai vari servizi sanitari locali, stabilire un monitoraggio in tempo reale e a distanza delle proprie condizioni di salute.

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 piattaforme domiciliari facilmente accessibili per la continuità della terapia e dell'assistenza clinica dei pazienti e valutarne l'efficacia clinica.

Intende inoltre implementare cruscotti personalizzati basati su parametri quantitativi e oggettivi per la profilazione del paziente che esegue terapie domiciliari. Valutare l'accettazione della tecnologia e del consulto medico e tecnico a distanza da parte di pazienti neurologici. Valutare i volumi di uso delle piattaforme ICT durante il programma riabilitativo domiciliare

E' stato proposto un 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, viene 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.

Criteri di inclusione:

- 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 prestabilito su indicazione del personale clinico.

È stata implementata un'applicazione per il trattamento domiciliare di pazienti con esiti di ictus in fase cronica mediante la somministrazione della Terapia dell'Osservazione dell'Azione (AOT) che consente di osservare video di azioni di vita quotidiana e successiva esecuzione dello stesso gesto da parte del paziente.

L'applicazione è suddivisa in due parti fondamentali:

- Somministrazione dell'AOT su un tablet fornito al paziente;
- Cruscotto web-based per la gestione, visualizzazione e consulto con il paziente mediante interfaccia web connessa al server aziendale.

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.

Gli sviluppi futuri, nel corso del 2022, prevedono il reclutamento di soggetti affetti da ictus ai quali verrà somministrato il trattamento di Action Observation domiciliare per 5 settimane, durante le quali verranno monitorati off-line dal terapeuta e supportati in caso di richiesta di supporto tecnico. Per valutare la fattibilità del trattamento domiciliare e l'usabilità della piattaforma software sviluppata, così come la soddisfazione dei soggetti rispetto ai servizi forniti, al termine della sperimentazione sui partecipanti verrà valutata l'accettazione della tecnologia tramite questionari e interviste specifiche.

PUBBLICAZIONI

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 brainnetworks' modulations.
Brain Res Bull. 2021 Feb;167:33-36.

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.

Miraglia F, Tomino C, Vecchio F, Gorgoni M, De Gennaro L, Rossini PM.

The brain network organization during sleep onset after deprivation.
Clin Neurophysiol. 2021 Jan;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 electroencealographic (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.

Ribaldi F, Altomare D, Jovicich J, Ferrari C, Picco A, Pizzini FB, Soricelli A, Mega A, Ferretti A, Drevelegas A, Bosch B, Müller BW, Marra C, Cavaliere C, Bartrés-Faz D, Nobili F, Alessandrini F, Barkhof F, Gros-Dagnac H, Ranjeva JP, Wiltfang J, Kuijjer J, Sein J, Hoffmann KT, Roccatagliata L, Parnetti L, TsolakiM, Constantinidis M, Aiello M, Salvatore M, Montalti M, Caulo M, Didic M, Bargallo N, Blin O, Rossini PM, Schonknecht P, Floridi P, Payoux P, Visser PJ, Bordet R, Lopes R, Tarducci R, Bombois S, Hensch T, Fiedler U, Richardson JC, Frisoni GB, Marizzoni M.

Accuracy and reproducibility of automated white matter hyperintensities segmentation with lesion segmentation tool: A European multi-site 3T study.

Magn Reson Imaging. 2021 Feb;76:108-115.

Brain vascular damage accumulate in aging and often manifest as white matter hyperintensities (WMHs) on MRI. Despite increased interest in automated methods to segment WMHs, a gold standard has not been achieved and their longitudinal reproducibility has been poorly investigated. The aim of present work is to evaluate accuracy and reproducibility of two freely available segmentation algorithms. A harmonized MRI protocol was implemented in 3T-scanners across 13 European sites, each scanning five volunteers twice (test-retest) using 2D-FLAIR. Automated segmentation was performed using Lesion segmentation tool algorithms (LST): the Lesion growth algorithm (LGA) in SPM8 and 12 and the Lesion prediction algorithm (LPA). To assess reproducibility, we applied the LST longitudinal pipeline to the LGA and LPA outputs for both the test and retest scans. We evaluated volumetric and spatial accuracy comparing LGA and LPA with manual tracing, and for reproducibility the test versus retest. Median volume difference between automated WMH and manual segmentations (mL) was -0.22[IQR = 0.50] for LGA-SPM8, -0.12[0.57] for LGA-SPM12, -0.09[0.53] for LPA, while the spatial accuracy (Dice Coefficient) was 0.29[0.31], 0.33[0.26] and 0.41[0.23], respectively. The reproducibility analysis showed a median reproducibility error of 20%[IQR = 41] for LGA-SPM8, 14% [31] for LGA-SPM12 and 10% [27] with the LPA cross-sectional pipeline. Applying the LST longitudinal pipeline, the reproducibility errors were considerably reduced (LGA: 0%[IQR = 0], $p < 0.001$; LPA: 0% [3], $p < 0.001$) compared to those derived using the cross-sectional algorithms. The DC using the longitudinal pipeline was excellent (median = 1) for LGA [IQR = 0] and LPA [0.02]. LST algorithms showed moderate accuracy and good reproducibility. Therefore, it can be used as a reliable cross-sectional and longitudinal tool in multi-site studies.

Gott J, Bovy L, Peters E, Tziouridou S, Meo S, Demirel Ç, Esfahani MJ, Oliveira PR, Houweling T, Orticoni A, Rademaker A, Boeltink D, Varatheeswaran R, van Hooijdonk C, Chaabou M, Mangiaruga A, van den Berge E, Weber FD, Ritter S, Dresler M.

Virtual reality training of lucid dreaming.

Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2021 Feb;376(1817):20190697.

Metacognitive reflections on one's current state of mind are largely absent during dreaming. Lucid dreaming as the exception to this rule is a rare phenomenon; however, its occurrence can be facilitated through cognitive training. A central idea of respective training strategies is to regularly question one's phenomenal experience: is the currently experienced world real, or just a dream? Here, we tested if such lucid dreaming training can be enhanced with dream-like virtual reality (VR): over the course of four weeks, volunteers underwent lucid dreaming training in VR scenarios comprising dream-like elements, classical lucid dreaming training or no training. We found that VR-assisted training led to significantly stronger increases in lucid dreaming compared to the no-training condition. Eye signal-verified lucid dreams during polysomnography supported behavioural results. We discuss the potential mechanisms underlying these findings, in particular the role of synthetic dream-like experiences, incorporation of VR content in dream imagery serving as memory cues, and extended dissociative effects of VR session on subsequent experiences that might amplify lucid dreaming training during wakefulness. This article is part of the theme issue 'Offline perception: voluntary and spontaneous perceptual experiences without matching external stimulation'.

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

Brain sources' activity in resting state before a visuo-motor task.

J Neural Eng. 2021 Mar 17;18(3).

In modern neuroscience, the underlying mechanisms of the elaboration and reaction to different kinds of stimuli of the brain hemispheres remain still very challenging to understand, together with the possibility to anticipate certain behaviors to improve the performance. Approach. The purpose of the present study was to investigate the brain rhythms characteristics of electroencephalographic (EEG) recordings and in particular, their interhemispheric differences in resting state condition before a visuo-motor task in a population of healthy adults. During the task, subjects were asked to react to a sequence of visual cues as quick as possible. The reaction times (RTs) to the task were measured, collected and correlated with the EEG signals recorded in a resting state condition immediately preceding the task.

The EEG data were analyzed in the space of cortical sources of EEG rhythms by the computation of the global spectra power density (GSPD) in the left and in the right hemisphere, and of an index of brain laterality (L). Main results. The results showed a negative correlation between the RTs and the GSPD in the central areas in the left and in the right hemisphere in both eyes open (EO) and eyes closed (EC) conditions. A close to significant and negative correlation was found in the parietal areas. Furthermore, RTs negatively correlated with L in the central areas in EC condition. The results showed a negative correlation between the RTs and the GSPD in the central areas in the left and in the right hemisphere in both EO and EC conditions. Significance. The correlations between the brain activity before a task and the RTs to the task can represent an interesting tool for exploring the brain state characterization for the upcoming tasks performance.

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

Human brain networks in physiological and pathological aging: reproducibility of EEG graph theoretical analysis in cortical connectivity.

Brain Connect. 2021 Dec 24. Online ahead of print.

Background: Physiological and pathological brain aging plays a central role in brain network modulation. The aim of the present article was to assess the stability of a proposed method for evaluation of small-world (SW) characteristics for the study of the human connectome. Subjects and Methods: Eighty subjects were recruited: 36 young healthy controls, 32 elderly healthy controls, and 12 patients affected by Alzheimer's disease (AD). Electroencephalograms (EEGs) were recorded during six separate sessions (480 recordings) at an average intersession interval of 3.8 ± 0.2 days. We applied graph theory functions to the weighted and undirected networks obtained by the lagged linear coherence estimated by exact low-resolution electromagnetic tomography (eLORETA). We explored the following frequency bands: delta (2-4 Hz), theta (4-8 Hz), alpha 1 (8-10.5 Hz), alpha 2 (10.5-13 Hz), beta 1 (13-20 Hz), beta 2 (20-30 Hz), and gamma (30-40 Hz). Results: The proposed method for evaluation of SW characteristics exhibited good reproducibility and stability. Furthermore, results showed the pattern, Young > Elderly > AD, in low-frequency delta and theta bands and vice versa in the higher alpha band. Finally, a correlation with age was confirmed in healthy subjects, showing that the older the age, the higher the SW values for alpha 2. Discussion: Evidences from the present study confirm the stability of the SW index and suggest that the analysis of connectivity patterns evaluated from EEGs can be supported by the graph theory. The proposed method for evaluation of SW characteristics has shown good reproducibility and stability. This technique, applied to patient data, could provide more information on the pathophysiological processes underlying age-related brain disconnection, as well as on administration of rehabilitation treatments at the right time, which could allow patients to avoid unnecessary interventions. Impact statement The graph analysis tools described in this study represent an interesting approach to study the distinctive characteristics of physiological aging by focusing on functional connectivity networks. The proposed method for evaluation of small-world characteristics has shown good reproducibility and stability. This technique, applied to patient data, could provide more information on the pathophysiological processes underlying age-related brain disconnection, as well as on delivery of rehabilitation treatments at the right time, which could allow patients to avoid unnecessary interventions.

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

Entropy modulation of electroencephalographic signals in physiological aging.

Mech Ageing Dev. 2021 Mar 22;196:111472.

Aging is a multifactorial physiological process characterized by the accumulation of degenerative processes impacting on different brain functions, including the cognitive one. A tool largely employed in the investigation of brain networks is the electroencephalogram (EEG). Given the cerebral complexity and dynamism, many non-linear approaches have been applied to explore age-related brain electrical activity modulation detected by the EEG: one of them is the entropy, which measures the disorder of a system. The present study had the aim to investigate aging influence on brain dynamics applying

Approximate Entropy (ApEn) parameter to resting state EEG data of 68 healthy adult participants, divided with respect to their age in two groups, focusing on several specialized brain regions. Results showed that elderly participants present higher ApEn values than younger participants in the central, parietal and occipital areas, confirming the hypothesis that aging is characterized by an evolution of brain dynamics. Such findings may reflect a reduced synchronization of the neural networks cyclic activity, due to the reduction of cerebral connections typically found in aging process. Understanding the dynamics of brain networks by applying the entropy parameter could be useful for developing appropriate and personalized rehabilitation programs and for future studies on neurodegenerative diseases.

Hatlestad-Hall C, Bruña R, Syvertsen MR, Erichsen A, Andersson V, Vecchio F, Miraglia F, Rossini PM, Renvall H, Taubøll E, Maestú F, Haraldsen IH.

Source- level EEG and graph theory reveal widespread functional network alterations in focal epilepsy.

Clin Neurophysiol. 2021 Apr 30;132(7):1663-1676.

The hypersynchronous neuronal activity associated with epilepsy causes widespread functional network disruptions extending beyond the epileptogenic zone. This altered network topology is considered a mediator for non-seizure symptoms, such as cognitive impairment. The aim of this study was to investigate functional network alterations in focal epilepsy patients with good seizure control and high quality of life.

We compared twenty-two focal epilepsy patients and sixteen healthy controls on graph metrics derived from functional connectivity of source-level resting-state EEG. Graph metrics were calculated over a range of network densities in five frequency bands.

We observed a significantly increased small world index in patients relative to controls. On the local level, two left-hemisphere regions displayed a shift towards greater alpha band "hubness". The findings were not mediated by age, sex or education, nor by age of epilepsy onset, duration or focus lateralisation.

Widespread functional network alterations are evident in focal epilepsy, even in a cohort characterised by successful anti-seizure medication therapy and high quality of life. These findings might support the position that functional network analysis could hold clinical relevance for epilepsy.

Focal epilepsy is accompanied by global and local functional network aberrancies which might be implied in the sustenance of non-seizure symptoms.

Gott J, Bovy L, Peters E, Tzioridou S, Meo S, Demirel Ç, Esfahani MJ, Oliveira PR, Houweling T, Orticoni A, Rademaker A, Booltink D, Varatheeswaran R, van Hooijdonk C, Chaabou M, Mangiaruga A, van den Berge E, Weber FD, Ritter R, Dresler M. **Virtual reality training of lucid dreaming: VR training of lucid dreaming.** Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci .2021 Feb;376(1817):20190697.

Metacognitive reflections on one's current state of mind are largely absent during dreaming. Lucid dreaming as the exception to this rule is a rare phenomenon; however, its occurrence can be facilitated through cognitive training. A central idea of respective training strategies is to regularly question one's phenomenal experience: is the currently experienced world real, or just a dream? Here, we tested if such lucid dreaming training can be enhanced with dream-like virtual reality (VR): over the course of four weeks, volunteers underwent lucid dreaming training in VR scenarios comprising dream-like elements, classical lucid dreaming training or no training. We found that VR-assisted training led to significantly stronger increases in lucid dreaming compared to the no-training condition. Eye signal-verified lucid dreams during polysomnography supported behavioural results. We discuss the potential mechanisms underlying these findings, in particular the role of synthetic dream-like experiences, incorporation of VR content in dream imagery serving as memory cues, and extended dissociative effects of VR session on subsequent experiences that might amplify lucid dreaming training during

wakefulness. This article is part of the theme issue 'Offline perception: voluntary and spontaneous perceptual experiences without matching external stimulation'.

Vecchio F, Miraglia F, Alú F, Orticoni A, Judica E, Cotelli M, Rossini PM.

Contribution of graph theory applied to EEG data analysis for Alzheimer's Disease versus vascular dementia diagnosis.

Alzheimers Dis. 2021;82(2):871-879.

Most common progressive brain diseases in the elderly are Alzheimer's disease (AD) and vascular dementia (VaD). They present with relatively similar clinical symptoms of cognitive decline, but the underlying pathophysiological mechanisms are different.

The aim is to explore the brain connectivity differences between AD and VaD patients compared to mild cognitive impairment (MCI) and normal elderly (Nold) subjects applying graph theory, in particular the Small World (SW) analysis.

274 resting state EEGs were analyzed in 100 AD, 80 MCI, 40 VaD, and 54 Nold subjects. Graph theory analyses were applied to undirected and weighted networks obtained by lagged linear coherence evaluated by eLORETA tool.

VaD and AD patients presented more ordered low frequency structure (lower value of SW) than Nold and MCI subjects, and more random organization (higher value of SW) in low and high frequency alpha rhythms. Differences between patients have been found in high frequency alpha rhythms in VaD (higher value of SW) with respect to AD, and in theta band with a trend which is more similar to MCI and Nold than to AD. MCI subjects presented a network organization which is intermediate, in low frequency bands, between Nold and patients.

Graph theory applied to EEG data has proved very useful in identifying differences in brain network patterns in subjects with dementia, proving to be a valid tool for differential diagnosis. Future studies will aim to validate this method to diagnose especially in the early stages of the disease and at single subject level.

Räty S, Borrmann C, Granata G, Cárdenas-Morales L, Schoenfeld A, Sailer M, Silvennoinen K, Holopainen J, De Rossi F, Antal A, Rossini PM, Tatlisumak T, Sabel BA.

Non-invasive electrical brain stimulation for vision restoration afterstroke: an exploratory randomized trial (REVIS).

Restor Neurol Neurosci. 2021;39(3):221-235.

Occipital strokes often cause permanent homonymous hemianopia leading to significant disability. In previous studies, non-invasive electrical brain stimulation (NIBS) has improved vision after optic nerve damage and in combination with training after stroke.

We explored different NIBS modalities for rehabilitation of hemianopia after chronic stroke.

In a randomized, double-blinded, sham-controlled, three-armed trial, altogether 56 patients with homonymous hemianopia were recruited. The three experiments were: i) repetitive transorbital alternating current stimulation (rtACS, n = 8) vs. rtACS with prior cathodal transcranial direct current stimulation over the intact visual cortex (tDCS/rtACS, n = 8) vs. sham (n = 8); ii) rtACS (n = 9) vs. sham (n = 9); and iii) tDCS of the visual cortex (n = 7) vs. sham (n = 7). Visual functions were evaluated before and after the intervention, and after eight weeks follow-up. The primary outcome was change in visual field assessed by high-resolution and standard perimetries. The individual modalities were compared within each experimental arm.

Primary outcomes in Experiments 1 and 2 were negative. Only significant between-group change was observed in Experiment 3, where tDCS increased visual field of the contralesional eye compared to sham. tDCS/rtACS improved dynamic vision, reading, and visual field of the contralesional eye, but was not superior to other groups. rtACS alone increased foveal sensitivity, but was otherwise ineffective. All trial-related procedures were tolerated well.

This exploratory trial showed safety but no main effect of NIBS on vision restoration after stroke. However, tDCS and combined tDCS/rtACS induced improvements in visually guided performance that need to be confirmed in larger-sample trials. NCT01418820 (clinicaltrials.gov).

Mazzoni A, Oddo CM, Valle G, Camboni D, Strauss I, Barbaro M, Barabino G, Puddu R, Carboni C, Bioni 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.

Author correction: morphological neural computation restores discrimination of naturalistic textures in trans-radial amputees.

Sci Rep. 2021 Aug 11;11(1):16662.

Erratum for: Sci Rep. 2020 Jan 16;10(1):527.

Vecchio F, Miraglia F, Alù F, Valle G, Mazzoni A, Oddo C, Micera S, Rossini PM.

Brain network modulation in transradial amputee with finger perception restored through biomimetic intraneural stimulation.

Neurol Sci. 2021 Dec;42(12):5369-5372.

The hand is a sophisticated tool which allows humans to interact with the external world mainly via the sense of touch. Previous evidences demonstrated that electrical stimulations of the nerve trunks governing the hand are able to restore touch perception in transradial amputees. The aim of this study was to evaluate the neurological correlates of restored perception by the evaluation of network characteristics of the brain connectome via EEG recordings in amputees utilizing a fully sensorized bionic hand.

A 48-year-old female with a left wrist traumatic disarticulation incurred 23 years prior to the study was enrolled for 6 months, during which experimental sessions were randomized. The control group included 12 healthy subjects performing a similar protocol.

Results showed that in both amputee and control group, a trend of SW in delta and beta 1 is recognizable (Delta and Beta 1 opposite spread) selectively in the hemisphere contralateral to the stimulus.

Delta increases (less orderly network) while Beta 1 decreases (more ordered network). It could be seen as a sign of higher attention and concentration of subjects to understand the perception and this monolateral modulation is similar to the bilateral attention given to the mathematical task difficulty's increment.

D'Atri A, Gorgoni M, Scarpelli S, Cordone S, Alfonsi V, Marra C, Ferrara M, Rossini PM, De Gennaro L.

Relationship between cortical thickness and EEG alterations during sleep in the Alzheimer's disease.

Brain Sci. 2021 Sep 4;11(9):1174.

Recent evidence showed that EEG activity alterations that occur during sleep are associated with structural, age-related, changes in healthy aging brains, and predict age-related decline in memory performance. Alzheimer's disease (AD) patients show specific EEG alterations during sleep associated with cognitive decline, including reduced sleep spindles during NREM sleep and EEG slowing during REM sleep. We investigated the relationship between these EEG sleep alterations and brain structure changes in a study of 23 AD patients who underwent polysomnographic recording of their undisturbed sleep and 1.5T MRI scans. Cortical thickness measures were correlated with EEG power in the sigma band during NREM sleep and with delta- and beta-power during REM sleep. Thinning in the right precuneus correlated with all the EEG indexes considered in this study. Frontal-central NREM sigma power showed an inverse correlation with thinning of the left entorhinal cortex. Increased delta activity at the frontopolar and temporal regions was significantly associated with atrophy in some temporal, parietal, and frontal cortices, and with mean thickness of the right hemisphere. Our findings revealed an

association between sleep EEG alterations and the changes to AD patients' brain structures. Findings also highlight possible compensatory processes involving the sources of frontal-central sleep spindles.

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

Performance prediction in a visuo-motor task: the contribution of EEG analysis.

Cognitive Neurodynamics. <https://doi.org/10.1007/s11571-021-09713-x>

Brain state in the time preceding the task affects motor performance at single trial level. Aim of the study was to investigate, through a single trial analysis of the Power Spectral Density (PSD) of the cortical sources of EEG rhythms, whether there are EEG markers, which can predict trial-by-trial the subject's performance as measured by the reaction time (RT). 20 healthy adult volunteers performed a specific visuomotor task while continuously recorded with a 64 electrodes EEG. For each single trial, the PSD of the cortical sources of EEG rhythms was obtained from EEG data to cortical current density time series in 12 regions of interest at Brodmann areas level. Results showed a statistically significant increase of posterior and limbic alpha 1 and of frontal beta 2 power, and a reduction of frontal and limbic delta and of temporal alpha 1 power, during triggering stimulus presentation for better performance, namely faster responses. At single trial level, correlation analyses between RTs and significant PSD, revealed positive correlations in frontal delta, temporal alpha 1, and limbic delta bands, and negative ones in frontal beta 2, parietal alpha 1, and occipital alpha 1 bands. Furthermore, the subject's faster responses have been found as correlated with the similarity between the PSD values in parietal and occipital alpha 1. Predicting individual's performance at single trial level, might be extremely useful in the clinical context, since it could allow to launch rehabilitative therapies in the most efficient brain state, avoiding useless interventions.

Miraglia F, Vecchio F, Pellicciari MC, Cespon J, Rossini PM. Brain Networks

Modulation in young and old subjects during transcranial direct current stimulation applied on prefrontal and parietal cortex.

Int J Neural Syst. 2021Oct 15:2150056. Epub ahead of print.

Evidence indicates that the transcranial direct current stimulation (tDCS) has the potential to transiently modulate cognitive function, including age-related changes in brain performance. Only a small number of studies have explored the interaction between the stimulation sites on the scalp, task performance, and brain network connectivity within the frame of physiological aging. We aimed to evaluate the spread of brain activation in both young and older adults in response to anodal tDCS applied to two different scalp stimulation sites: Prefrontal cortex (PFC) and posterior parietal cortex (PPC). EEG data were recorded during tDCS stimulation and evaluated using the Small World (SW) index as a graph theory metric. Before and after tDCS, participants performed a behavioral task; a performance accuracy index was computed and correlated with the SW index. Results showed that the SW index increased during tDCS of the PPC compared to the PFC at higher EEG frequencies only in young participants. tDCS at the PPC site did not exert significant effects on the performance, while tDCS at the PFC site appeared to influence task reaction times in the same direction in both young and older participants. In conclusion, studies using tDCS to modulate functional connectivity and influence behavior can help identify suitable protocols for the aging brain.

Vecchio F.

Aging and brain connectivity by graph theory.

Aging (Albany NY). 2021 Nov 2;undefined(undefined). Epub ahead of print.

Vecchio F, Pappalettera C, Miraglia F, Alù F, Orticoni A, Judica E, CotelliM, Pistoia F, Rossini PM.

Graph theory on brain cortical sources in Parkinson's disease: the analysis of 'Small World' organization from EEG.

Sensors (Basel).2021 Oct 31;21(21):7266.

Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease in the elderly population. Similarly to other neurodegenerative diseases, the early diagnosis of PD is quite difficult. The current pilot study aimed to explore the differences in brain connectivity between PD and Normal elderly (Nold) subjects to evaluate whether connectivity analysis may speed up and support early diagnosis. A total of 26 resting state EEGs were analyzed from 13 PD patients and 13 age-matched Nold subjects, applying to cortical reconstructions the graph theory analyses, a mathematical representation of brain architecture. Results showed that PD patients presented a more ordered structure at low-frequency EEG rhythms (lower value of SW) than Nold subjects, particularly in the theta band, whereas in the high-frequency alpha, PD patients presented more random organization (higher SW) than Nold subjects. The current results suggest that PD could globally modulate the cortical connectivity of the brain, modifying the functional network organization and resulting in motor and non-motor signs. Future studies could validate whether such an approach, based on a low-cost and non-invasive technique, could be useful for early diagnosis, for the follow-up of PD progression, as well as for evaluating pharmacological and neurorehabilitation treatments.

LINEA 4

Progetti in rete

Rete cardiologica

Strategie integrate per lo studio dei determinanti cellulari e genomici della placca ateromasi

Il presente studio è suddiviso in 3 sotto-studi

1. Apnea ostruttiva nel sonno (OSA) e placca carotidea: ruolo dei fattori epigenetici;
2. Programma di allenamento di resistenza nella prevenzione secondaria di malattie cardiovascolari;
3. Gli esercizi di resistenza nella prevenzione secondaria delle malattie cardiovascolari con particolare riferimento alle placche carotidee

1. Sleep apnea ostruttiva e placca carotidea: ruolo dei fattori epigenetici

Lo studio che inizialmente si proponeva di valutare il ruolo patogenetico di presenza e severità di sleep apnea ostruttiva (OSA) in soggetti portatori di aterosclerosi carotidea, si è esteso alla valutazione del ruolo che i meccanismi di ipossiemia/reossigenazione caratteristici dell'apnea ostruttiva possano giocare nel favorire i processi di invecchiamento cellulare.

Pertanto, il protocollo iniziale è stato modificato con l'introduzione di una coorte di pazienti portatori di sleep apnea moderato-severa e con l'introduzione di biomarcatori di accelerazione dell'invecchiamento. La versione emendata del protocollo è stata approvata dal Comitato Etico di ICS Maugeri, cui ha fatto seguito l'inizio dell'arruolamento della seconda coorte.

Sono stati finora valutati un totale di 120 soggetti così distribuiti: 16 soggetti normali e 104 soggetti portatori di placca carotidea e/o sleep apnea. di 17 soggetti che non hanno completato lo studio sono stati esclusi.

I campioni ematici sono stati sottoposti ad estrazione del DNA genomico, la presenza o meno di aterosclerosi carotidea è stata definita per un valore di stenosi > 40%, le registrazioni polisunnografiche sono state classificate in base ad un valore dell'indice di apnea -ipopnea > 5 eventi/ora.

È stata eseguita una analisi preliminare su un totale di 80 campioni così distribuiti: controlli (n=11), placca +/osa + (n = 39), placca +/OSA - (n=8), placca -/OSA + (n=30). In questa analisi sono stati valutati i livelli di Citosina metilata in regioni selezionate del genoma associate ai geni codificanti per l'aspartatociclastasi (ASPA), la sub unità integrinica 2B (ITGA2B) e la fosfodiesterasi 4C (PDE4C) noti per essere marcatori sensibili del processo di invecchiamento. L'analisi rivela una significativa diminuzione della percentuale di metilazione nel gruppo di pazienti portatori di placca non direttamente associato alla presenza di OSA a carico della regione selezionata nel promotore del gene ITGA2B. Ulteriori analisi eseguite estendendo le regioni sequenziate e prendendo in considerazione nuove citosine promotoriali hanno rivelato una significativa riduzione della percentuale di metilazione in tutti i geni di interesse. Questa riduzione è presente in maniera generalizzata in tutti i gruppi esaminati rispetto al gruppo di controllo.

Sebbene da questa analisi preliminare non sembra emergere un ruolo determinante dell'OSA nella regolazione della metilazione del DNA almeno per quanto riguarda i geni esaminati e le citosine note per la loro associazione con il processo di invecchiamento è da sottolineare che la numerosità ancora limitata del campione non ha permesso di eseguire una analisi sui diversi livelli di gravità della sleep apnea ostruttiva.

2. Programma di allenamento di resistenza;
3. Gli esercizi di resistenza nella prevenzione secondaria delle malattie cardiovascolari con particolare riferimento alle placche carotidee

Il progetto del sotto-studio 2 prevedeva di valutare l'impatto di un programma riabilitativo a medio termine (12 mesi), che comprendesse uno stretto controllo dei fattori di rischio e un intenso programma di esercizio fisico, sulle dimensioni della placca valutata alla TAC coronarica o documentata mediante coronarografia, in un gruppo di pazienti con cardiopatia ischemica cronica e stenosi delle arterie coronarie documentata da angiografia e/o TAC coronarica. Il programma è stato aggiornato con l'utilizzo di un sistema innovativo di riallenamento allo sforzo, che si basa sull'utilizzo di un biocircuito composto da dodici differenti stazioni, in grado di allenare in sequenza i diversi distretti muscolari.

Inoltre, nel corso dello studio, si è deciso di estendere il programma riabilitativo intensivo anche a soggetti con riscontro di aterosclerosi a livello periferico, in particolare a quello carotideo, integrando quindi il progetto iniziale con un sotto-studio 3 (*Gli esercizi di resistenza nella prevenzione secondaria delle malattie cardiovascolari con particolare riferimento alle placche carotidee*).

L'arruolamento dei pazienti nel protocollo è stato progressivo e pressoché in linea con il programma, compatibilmente con i fisiologici rallentamenti e le temporanee sospensioni dell'attività dovute all'andamento ciclico dell'attuale pandemia e alle disposizioni che la Direzione Sanitaria ha dovuto emanare recependo le varie direttive nazionali e regionali.

Il numero dei pazienti arruolati al 31 dicembre 2021 è di 27 soggetti nel gruppo intervento (15 con placca coronarica e 12 con placca carotidea) e 27 nel gruppo controllo (15 con placca coronarica e 12 con placca carotidea). Di questi, 26 pazienti del gruppo intervento e tutti quelli del gruppo controllo hanno terminato il follow-up a 12 mesi. Un paziente del gruppo intervento risulta perso al follow-up per quanto riguarda l'esame coronarico con TAC e il test ergometrico, mentre sono state eseguite le altre valutazioni come da protocollo. Sei pazienti (2 nel gruppo intervento e 4 nel gruppo controllo) hanno necessitato di modifiche della terapia farmacologica (riduzione dose β -bloccante per entrambi i pazienti del gruppo intervento, introduzione di flecainide in un paziente gruppo controllo per FA e incremento di antianginosi per gli altri tre).

Caratteristiche dei pazienti

SOTTOSTUDIO 2 - PLACCA CORONARICA		
	Gruppo intervento (N= 15)	Gruppo controllo (N=15)
Età (anni)	59.7 \pm 8.2	60.4 \pm 8.2
Genere (maschile)	12 (80,0%)	13 (86,6%)
BMI	27.7 \pm 3.5	27.5 \pm 3.4
Abitudine tabagica	4 (26,6%)	3(20,0%)
Diabete mellito	2 (13,3%)	3 (20,0%)
Ipercolesterolemia	13 (86,6%)	12 (80,0%)
FC	67.8 \pm 11.5	68.1 \pm 11.3
PAS	125 \pm 4.2	124 \pm 5.2
PAD	77 \pm 3.1	76 \pm 4.6

SOTTOSTUDIO 3 - PLACCA CAROTIDEA		
	Gruppo intervento (N=12)	Gruppo controllo (N=12)
Età (anni)	58.4 ± 8.4	59.3± 8.4
Genere (maschile)	10 (83.3%)	9 (75.0%)
BMI	27.3 ± 3.2	27.8 ± 3.3
Abitudine tabagica	3 (25,0%)	3 (25.0%)
Diabete mellito	2 (16.6%)	1 (8,33%)
Ipercolesterolemia	10 (83,3%)	10 (83,3%)
FC	65.7 ± 10.4	66.3 ± 10.6
PAS	122 ± 3.8	124 ± 4.3
PAD	75 ± 3.7	77 ± 4.8

Sedute di riallenamento

I pazienti arruolati nel gruppo Biocircuit sono stati sottoposti a 3 sessioni di allenamento a settimana per almeno 36 settimane della durata di 60 minuti ciascuna inclusi 5 minuti di warm-up e cool-down per un totale di 2700 sedute totali. L'allenamento eseguito su Biocircuit prevedeva lo svolgimento di esercizi di tipo aerobico (treadmill e cyclette) ed esercizi di resistenza coinvolgenti i principali gruppi muscolari del tronco e della parte inferiore del corpo secondo la seguente sequenza: Tapis Roulant, Chest Press, LowRow, Vertical Traction, Bike, Legextension, Shoulder press, Leg press.

Gli esercizi di resistenza sono stati eseguiti ad una intensità pari al 60-80% 1RM, 2 sets di 10 ripetizioni per 8 esercizi muscolari. Gli esercizi aerobici sono stati effettuati ad una intensità pari al 70% della frequenza cardiaca massima rilevata al test ergometrico.

Non è stato registrato alcun evento avverso durante le sedute di riallenamento all'esercizio fisico.

Procedure effettuate

Nel corso del 2021 sono stati effettuati:

- 20 sedute educazionali per ciascun soggetto, volte a modificare lo stile di vita o i fattori di rischio per CAD. Sono state trattati i seguenti argomenti: abitudine tabagica, dislipidemia, controllo glicemico, sedentarietà, alimentazione, obesità e anoressia, attività lavorativa, environment familiare, instabilità psicologica. La totalità degli argomenti era ripetuta almeno una volta nelle sessioni successive.
- 53 valutazioni capacità funzionale (6 min w test)
- 53 TAC coronariche (128 slices, doublebeam)
- 53 test ergometrici

BASELINE			
SOTTOSTUDIO 2 - PLACCA CORONARICA			
	Gruppo intervento (N= 15)	Gruppo controllo (N=15)	
Stenosi coronarica (%)*	55 ± 11.4	54 ± 16.7	NS
TEST ERGOMETRICO: sottoslivellamento ST massimo (mm)	1.55 ± 0.41	1.61 ± 0.47	NS
TEST ERGOMETRICO: tempo per sottoslivellamento ST (s)	331.3 ± 109.5	343.5 ± 112.1	NS
6'WT: distanza (mt)	395.8 ± 33.5	384.3 ± 35.4	NS
KCCQ	74 ± 3	77 ± 5	NS

A 12 MESI			
SOTTOSTUDIO 3 - PLACCA CORONARICA			
	Gruppo intervento (N= 15)	Gruppo controllo (N=15)	
Stenosi coronarica (%)*	56 ± 16.2	54 ± 14.1	NS
TEST ERGOMETRICO: sottoslivellamento ST massimo (mm)	1.62 ± 0.39	1.64 ± 0.45	NS
TEST ERGOMETRICO: tempo per sottoslivellamento ST (s)	422.4 ± 110.2	346.5 ± 108.8	p 0,02
6'WT: distanza (mt)	456.8 ± 38.2	388.6 ± 41.7	p 0,01
KCCQ	86 ± 3	76 ± 7	p 0,05

*le misurazioni della stenosi coronarica e carotidea sono espresse in percentuale di ostruzione del vaso interessato da parte della placca

Come si evince dalla tabella, nel gruppo di intervento i controlli delle TAC coronariche non hanno mostrato variazioni significative. Al test ergometrico si evidenzia un miglioramento nel tempo per il sotto-slivellamento ST, mentre la variazione del sotto-slivellamento massimo non risulta significativa.

Si assiste infine ad un miglioramento per quanto riguarda la capacità funzionale , misurata attraverso il test del cammino di 6 minuti e la qualità della vita, analizzata mediante il Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire (KCCQ).

BASELINE			
SOTTOSTUDIO 2 - PLACCA CAROTIDEA			
	Gruppo intervento (N= 12)	Gruppo controllo (N=12)	
Stenosi carotidea (%)*	44 ± 12.5	46 ± 16.1	NS
TEST ERGOMETRICO: tempo dell'esercizio (s)	397,6 ± 99,2	381,8 ± 102,7	NS
TEST ERGOMETRICO: intensità dell'esercizio (w)	65,8 ± 18,3	63,2 ± 21,9	NS
6'WT: distanza (mt)	398.9 ± 29.1	392.7 ± 32.6	NS
KCCQ	78 ± 2	76 ± 2	NS
A 12 MESI			
SOTTOSTUDIO 3 - PLACCA CAROTIDEA			
	Gruppo intervento (N= 12)	Gruppo controllo (N=12)	
Stenosi carotidea (%)*	42 ± 14.2	45 ± 15.6	NS
TEST ERGOMETRICO: tempo dell'esercizio (s)	653,2 ± 140,3	384,3 ± 96,7	p 0,01
TEST ERGOMETRICO: intensità dell'esercizio (w)	90,6 ± 13,4	62,4 ± 11,2	p 0,04
6'WT: distanza (mt)	442.9 ± 24.8	388.7 ± 30.7	p 0,02
KCCQ	84 ± 4	78 ± 6	p 0,03

Per quanto riguarda il sottostudio 3, nel gruppo di intervento, i controlli degli eco color-doppler carotidei mostrano un trend di riduzione in 7 pazienti, ma tale riduzione non risulta statisticamente significativa. Al test ergometrico si assiste ad un incremento significativo relativamente al tempo e all'intensità dell'esercizio.

Si evidenzia anche in questo gruppo una variazione significativa circa la capacità funzionale e la qualità della vita.

I protocolli di riallenamento adottati non sono stati in grado di ridurre le dimensioni della placca coronarica e carotidea nei 12 mesi di follow up. Tuttavia tale tipo di esercizio si è dimostrato utile nel migliorare la qualità di vita del paziente incrementandone la capacità funzionale e riducendo la sintomatologia.

Rete cardiologica:

Strategie di prevenzione primaria cardiovascolare nella popolazione italiana (CV PREVITAL)-CF.

Durante il periodo intercorso tra il kick-off del progetto ed il mese di novembre 2020 sono state effettuate tutte le procedure necessarie allo svolgimento del protocollo assegnato all'UO-14 (IRCCS San Raffaele Pisana), a partire dalla sottomissione del progetto al Comitato Etico a cui è seguita la campagna di informazione per i dipendenti del gruppo San Raffaele al fine del reclutamento, la sottoscrizione delle adesioni al programma. Tuttavia, causa epidemia Covid-19 e conseguenti deliberazioni nazionali e regionali, non è stato possibile iniziare il programma educativo e di riallenamento allo sforzo, sino al momento in cui è stato dato il via libera allo svolgimento di attività fisiche in luoghi chiusi, seppure con limitazioni come il rispetto delle distanze, che limita a circa il 50% la capienza dei locali adibiti all'attività fisica quale essa sia (la disposizione di riapertura della regione Lazio è del mese di luglio 2020).

Il Ministero della Salute ha accordato una estensione di 12 mesi del progetto.

Da ottobre 2021 è stato possibile riprendere le attività concernenti il protocollo. È stato pertanto possibile riprendere la campagna di informazione per i dipendenti del gruppo San Raffaele al fine del reclutamento, sono stati approntati corsi telematici sulla nutrizione e sul miglioramento dello stile di vita, che saranno fruibili sulla piattaforma dell'IRCCS a partire dal mese di dicembre. È stata selezionata un'applicazione per smartphone, con funzione di accelerometro, che viene fornita al momento della randomizzazione, a tutti i soggetti arruolati e, infine, sono stati approntati e messi a disposizione 5 tablet che utilizzati per la somministrazione dei questionari necessari allo studio (sezioni della eCRFRedcap concernenti nutrizione e attività fisica quotidiana, Perceived stress scale PSS, Patient Health Questionnaire 4 PHQ 4, General Self Efficacy Scale GSE, Locus of control test, RISK PROPENSITY SCALE RPS, Pittsburgh Sleep Quality Index PSQI). Il programma di allenamento allo sforzo è svolto all'interno della palestra tecnologica di riabilitazione cardiologica, dotata di un circuito di attrezzi dedicati (Biocircuit) : una piattaforma di allenamento composta da una serie di attrezzi per attività fisica di tipo aerobico e esercizi di forza/resistenza che vengono eseguiti secondo una specifica sequenza.

In particolare il circuito è composto dalle seguenti macchine :

- Treadmill (per l'esecuzione del movimento di camminata o corsa)
- Chest press (per l'allenamento dei muscoli pettorali, tricipiti e deltoidi anteriori)
- Vertical Traction (per l'allenamento dei muscoli gran dorsali e bicipiti)
- Leg Press (per l'allenamento di tutta la muscolatura degli arti inferiori)
- Stationary Bike (per l'esecuzione del movimento di pedalata)
- Shoulder press (per l'allenamento dei muscoli deltoidi)
- Legextension (per l'allenamento isolato del muscolo quadricipite)
- Lowrow (per l'allenamento dei muscoli fissatori delle scapole e del gran dorsale)

Il circuito prevede l'assegnazione di un carico di lavoro personalizzato e costantemente aggiornato, sia per quanto riguarda gli attrezzi aerobici sia per quanto concerne quelli di forza.

La procedura di identificazione del carico di lavoro avviene mediante l'esecuzione di specifici test di valutazione già proceduralizzati e presenti a bordo macchina.

L'intensità dell'esercizio svolto sugli attrezzi aerobici può essere definita gestendo le variabili di velocità/pendenza e pedalate al minuto, rispettivamente per treadmill e stationary bike.

L'intensità dello sforzo sugli attrezzi di forza può essere modificata attraverso le seguenti tipologie di esercizio:

- **Isotonica** (carico costante lungo tutto l'arco di movimento) Il carico isotonic può essere aumentato o diminuito in maniera indipendente tra le due fasi del movimento : **concentrica** (fase di andata che prevede di generare forza mediante accorciamento muscolare) o **eccentrica** (fase di ritorno che prevede di generare forza mediante allungamento muscolare).
- **Isocinetica** (velocità costante lungo tutto l'arco di movimento).
- **Viscosa** con la resistenza che aumenta con il quadrato della velocità a seconda del modulo di viscosità impostato.
- **Elastica** con la resistenza che aumenta a seconda del modulo di elasticità impostato.

Il programma di attività fisica proposto ai pazienti del gruppo di intervento comprende:

- 2 sedute settimanali di Biocircuit, della durata di 60 minuti l'una
- Almeno un'altra seduta di attività fisica, durante la settimana, a scelta tra 40 minuti di run/tapis roulant, 45 minuti di cicloergometro e 20 minuti di nuoto

Clinical and imaging biomarkers associated with plasma and cellular determinants of cardiovascular disease at the time of COVID-19

L'IRCCS San Raffaele Roma prende parte ai WP 1 e WP2:

WP1 - CARDICOVRISK- Rischio cardiovascolare ed effetti ancillary della terapia farmacologica cardiologica durante l'infezione da n-Cov-19 (registro CARDICoVRISK).

L'IRCCS San Raffaele Roma ha contribuito alla creazione di un registro multicentrico che raccolga informazioni sui pazienti con diagnosi di COVID-19 durante la degenza in merito a:

1) Dati clinici e anamnestici (con particolare attenzione a comorbilità cardiovascolari), dati antropometrici;

2) Terapia in atto prima dell'insorgenza dell'infezione, con particolare attenzione all'assunzione di ace-inibitori, antagonisti dei recettori AT1 (sartani), beta-bloccanti, anti-infiammatori, diuretici

3) Decorso clinico dell'infezione e outcome, inclusi ove disponibili:

- dati ematochimici quali: emocromo, emogasanalis, indici infiammatori (es. PCR, IL6 ecc.), indici di danno cardiaco (es. livelli plasmatici di troponina), assetto vitaminico (es. Vitamina D), assetto coagulativo e indici di funzionalità epatica.
- esami strumentali di diagnostica per immagini eseguiti durante la degenza (per es. radiografici, ecografici)

4) assistenza ventilatoria invasiva e non

Inoltre, a 3-6 mesi dalla dimissione, è stata organizzata una visita di follow-up (V1) per tutti i pazienti inclusi nel registro.

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Roma nel mese di Giugno 2021.

Nel corso del 2021 sono stati inseriti nel registro 43 di pazienti, i quali durante il ricovero hanno dato il loro consenso al trattamento dei propri dati per l'elaborazione di studi e ricerche in ambito scientifico. Di questi, 11 pazienti una volta ricontattati, hanno dato il consenso ad

effettuare la visita di follow-up in cui sono stati valutati parametri ematochimici e strumentali (ECG, Ecocardiogramma), 17 risultano persi al follow-up, 12 hanno rifiutato di effettuare tale visita e 3 risultano deceduti.

WP2 – Task 2.2 : Effetti del lock-down sull'aderenza prescrizione terapeutica in pazienti non Covid in prevenzione cardiovascolare secondaria – ELA-nCov

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Roma nel mese di Giugno 2021.

Il presente studio si propone di valutare la situazione clinica, l'aderenza alla terapia farmacologica e la situazione psicologica di soggetti che, dopo un evento acuto, sono stati dimessi a domicilio prima o durante il lock-down, trovandosi quindi ad affrontare una situazione di quarantena appena usciti dall'ospedale.

A tal fine si prevede di eseguire una visita di follow-up a pazienti con pregresso evento acuto cardiovascolare e ricoverati presso il reparto di cardiologia riabilitativa dell'IRCCS San Raffaele Roma nel periodo compreso tra il 1 dicembre 2019 e il 31 marzo 2020.

A partire dalla data di avvio del progetto (16/7/2020) , attraverso il database sono stati individuati 200 pazienti ricoverati presso il reparto di cardiologia riabilitativa dell'IRCCS San Raffaele Roma nel periodo di interesse. I pazienti sono quindi stati suddivisi in due fasce d'età: > 70 anni e < 70 anni.

Ne sono stati pre-screenati 50 che, tramite contatto telefonico, hanno acconsentito a partecipare allo studio e di conseguenza gli è stato inviato il consenso informato da restituire firmato prima o durante la visita di follow-up in presenza.

Si è proceduto quindi con la compilazione della eCRF, utilizzando i dati provenienti dalle cartelle cliniche degli stessi, relative al periodo di degenza. Tali dati sono stati considerati basali.

Al 31 dicembre 2021, 54 pazienti (di cui 4 screening failure) hanno svolto la visita di follow-up che è consistita nella raccolta di:

- Anamnesi per eventi, ospedalizzazioni, visite specialistiche effettuate dopo la dimissione
- Parametri ematologici (emocromo, creatinina, transaminasi, glicemia, colesterolo LDL)
- Parametri emodinamici (pressione arteriosa, frequenza cardiaca, saturazione)
- Elettrocardiogramma
- Ecocardiogramma
- Test del cammino (6MWT)
- Valutazione psicologica
- Valutazione della aderenza terapeutica.

I risultati sono basati sulle variazioni rispetto ai dati basali dei seguenti parametri:

Pazienti N=50			
	Migliorato	Peggiorato	Invariato
Frequenza cardiaca	0, 0,0%	4, 8,0%	46, 92,0%
Pressione arteriosa	0, 0,0%	11, 22,0%	39, 78,0%
Saturazione ossigeno	3, 6,0%	9, 18,0%	38, 76,0%
ECG	4, 8,0%	4, 8,0%	42, 84,0%
Ecocardiogramma	4, 8,0%	19, 38,0%	27, 54,0%
6'WT	8, 16,0%	19, 38,0%	23, 46,0%

Frequenza cardiaca: variazione negativa se minore di 50 bpm o maggiore di 80 bpm

Pressione arteriosa: variazione negativa se minore di 100/60 mmHg o maggiore di 140/80 mmHg

Saturazione ossigeno: variazione negativa se minore di 95%

Elettrocardiogramma: variazione valutata in base alla presenza o meno di ritmo sinusale, di aritmie sopraventricolari, di aritmie ventricolari e di blocco atrio-ventricolare di grado avanzato
Ecocardiogramma: variazione valutata in base alla percentuale di frazione di eiezione e al grado di steno-insufficienza della valvola aortica e della valvola mitralica
Six minute walking test: viene considerata la distanza percorsa durata il test, con una variazione positiva o negativa se la differenza è maggiore di 100 metri

Pazienti N=50				
ANALISI EMATICHE				
	Migliorato	Peggiorato	Invariato	Non valutabile
Emocromo	42, 84,0%	4, 8,0%	4, 8,0%	0, 0,0%
Creatinina	4, 8,0%	11, 22,0%	35, 70,0%	0, 0,0%
Transaminasi	0, 0,0%	0, 0,0%	0, 0,0%	50, 100,0%
Glicemia	4, 8,0%	11, 22,0%	8, 16,0%	27, 54,0%
Colesterolo LDL	4, 8,0%	4, 8,0%	15, 30,0%	27, 54,0%

Analisi ematiche: variazione positiva se al baseline risultano fuori dal range e al follow up in range, variazione negativa in caso contrario. Il dato non è valutabile se alla dimissione dal ricovero di interesse il parametro non è stato analizzato e non risulta quindi disponibile.

Pazienti N=50	
MORISKY TEST	
Punteggio	Pazienti
0	0, 0,0%
1	0, 0,0%
2	0, 0,0%
3	12, 24,0%
4	31, 62,0%
invalido	3, 6,0%
non eseguito	4, 8,0%

Il test Morisky: è un test per la valutazione dell'aderenza alla terapia farmacologica, composto da 4 domande, in cui si può ottenere un punteggio da 0 a 4.

I punteggi 0, 1 e 2 indicano cattiva aderenza.

I punteggi 3 e 4 indicano buona aderenza.

Il test è considerato invalido se il paziente, in seguito a colloquio psicologico, risulta non essere attendibile nelle risposte date.

Il test non viene eseguito se prima o durante il colloquio, viene rilevata una decadenza cognitiva o una scarsa consapevolezza.

I risultati indicano che la condizione di quarantena non ha influito negativamente sulla compliance nella maggior parte dei soggetti valutati. Al Morisky test nessun paziente ha ottenuto punteggi indicatori di cattiva aderenza e, in base ai parametri analizzati, si è rilevato un buon mantenimento delle condizioni cliniche generali rispetto alla data di dimissione del ricovero di interesse.

LABORATORIO DI ENDOCRINOLOGIA CARDIOVASCOLARE

Mechanism of early atherosclerosis and/or plaque instability in Coronary Artery disease - PREMEDI-CAD - on Cardiovascular Diseases - Grant number 01KL1807

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 si conoscono i numerosi fattori di rischio e biomarkers di malattie cardiovascolari (CAD), i mezzi a disposizione ancora non consentono di identificare adeguatamente i soggetti a rischio "short term". Per questi motivi risulta necessario individuare approcci innovativi che 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 sono validati in modelli murini prone all'aterosclerosi e in coorti di pazienti. Una volta ottenuta la validazione, questi biomarkers sono traslati e utilizzati in un "clinical trial" di prevenzione già in corso, che prevede l'arruolamento di 3000 pazienti con ischemia subclinica. PREMEDI-CAD ci consente 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, 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 morbidità 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 presenta sintomi che possano essere ricondotti a ischemia miocardica non acuta, si aggira intorno ai 2 milioni. Pertanto, un'identificazione precoce di tali soggetti a rischio è divenuta necessaria per predisporre trattamenti immediati ed efficaci e in una visione più ampia, per ridurre i problemi di salute pubblica e socioeconomici legati alle malattie cardiovascolari.

Circa 3.5 milioni di persone in Europa ogni anno sono soggette a un evento ischemico acuto. Più di due terzi di questi pazienti afferiscono al pronto soccorso almeno una volta nei dodici mesi precedenti l'evento acuto, ma i mezzi clinici a disposizione ad oggi, non consentono di identificare adeguatamente questi soggetti che necessiterebbero di interventi farmacologici o procedure interventistiche a breve termine. Molti di questi pazienti "a rischio" vengono dimessi come sani, anche se biomarkers come la troponina sembrerebbero indicare ischemia

miocardica. Nella pratica clinica, questi pazienti non vengono sostenuti dalla terapia che sarebbe loro necessaria. E' divenuto pertanto necessario tentare di diminuire la mortalità e morbilità di questi pazienti a rischio somministrando terapie preventive quali gli anticoagulanti o il trattamento volto alla diminuzione del colesterolo LDL, o procedure di intervento quali la coronarografia. Fondamentale al fine di mettere in atto tali propositi è l'individuazione precoce dei soggetti a rischio.

Questo progetto si basa sull'ipotesi che l'individuazione di uno specifico profilo di biomarkers potrebbe consentire di evidenziare potenziali soggetti a rischio di eventi ischemici coronarici a breve termine. Inoltre l'utilizzo di tali biomarkers in uno studio clinico potrebbe consentire di ridurre mortalità e morbilità.

Al fine di raggiungere gli ambiziosi traguardi che 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.

A oggi non sono noti approcci sistemici interdisciplinari su larga scala di predizione del rischio. L'approccio di validazione che verrà utilizzato nel PREMEDI-CAD consentirà di individuare esclusivamente quei biomarcatori che si evidenziano unicamente in presenza di patologie ischemiche e che con esse correlano dal punto di vista fisiopatologico. L'applicazione immediata allo studio clinico GREYZONE, rappresenta il primo approccio traslazionale per la valutazione clinica su larga scala di un profilo di biomarcatori dell'ischemia miocardica, scrupolosamente identificati come finora descritto.

WP2A: Modelli murini di aterosclerosi e infarto del miocardio e misurazione dei biomarcatori.

Al fine di promuovere lo sviluppo di aterosclerosi nel gruppo sperimentale (definito "ATH"), sono stati sottoposti per 4 settimane 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 aterogenica è stato trattato ciascuno dei due gruppi con Aldosterone (ALDO, 6 µg/Kg al giorno) tramite minipompa, o con soluzione di controllo. Oltre al gruppo sperimentale ApoE KO ALDO o ApoE KO (gruppo di controllo), 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 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 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, viene effettuata la procedura chirurgica di legatura dell'arteria coronarica ("Ligation of the left anterior descending coronary artery") per indurre infarto del miocardio in topi maschi e femmine C57BL6 wild type di 8 settimane di età (gruppo sperimentale denominato "MIF1"). In tale gruppo sperimentale, i topi vengono sacrificati 20 minuti dopo la conclusione dell'operazione chirurgica. In un altro gruppo sperimentale, composto da topi maschi e femmine C57BL6 wild type (gruppo sperimentale denominato "MIF2"), gli animali vengono sacrificati 6 ore dopo la conclusione legatura coronarica. Infine in un terzo gruppo sperimentale composto da topi maschi e femmine C57BL6 wild type (gruppo sperimentale denominato "MIF3") il sacrificio degli animali avviene 24 ore dopo la legatura coronarica. Come controlli si utilizza un quarto gruppo di topi C57BL6 wild type maschi e femmine di 8 settimane di età, che rappresentano topi di controllo e saranno 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, verranno 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 per valutare l'espressione tissutale degli stessi marcatori analizzati nel plasma.

Relativamente al task WP2A, da effettuarsi presso l'IRCCS San Raffaele Roma, i topi ApoE KO del gruppo ATH, nel numero previsto per gli esperimenti e descritto nel progetto, sono stati trattati 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 .

Il progetto è in fase di svolgimento e si stanno ultimando gli 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, di pertinenza dell'unità operativa del laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare, e il

plasma e i tessuti ricavati dagli animali sono stati inviati in Germania dove sono in fase di analisi da parte dall'unità tedesca del progetto PREMEDI-CAD.

Responder/non-responder in clinical trials of medication treatment for CVD, Omics analyses in these subjects, Bioinformatical analyses to derive signature, validation in additional cohorts/Trials and animal models, final molecular signature by bioinformatics – MATCH - Reference Number ERAPERMED2018-226

Le malattie cardiovascolari rappresentano la causa principale di mortalità e morbidità nella Comunità Europea, e ciò determina un impatto socioeconomico enorme poiché comportano un aumento della 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 consentirà 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) servirci 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 morbidità associate a eventi coronarici, e per ridurre a lungo termine, i problemi socioeconomici e di salute pubblica originati dalle malattie cardiovascolari.

Dei 3.5 milioni di persone in Europa soggette a un evento ischemico acuto, i due terzi di questi soggetti sono soggetti a eventi coronarici secondari nei 10 anni di follow up successivi. La

maggior parte degli studi clinici su larga scala, effettuati nell'ultimo decennio, sono risultati scarsamente efficaci nel ridurre in modo rilevante il rischio residuo. Perciò sono divenuti necessari approcci innovativi che consentano di superare questo andamento e di promuovere quindi una farmacoterapia individualizzata nel trattamento delle malattie coronariche. La nostra rete traslazionale ha arruolato forze che possono servirsi efficientemente di tutti i dati e le conoscenze finora disponibili in grado 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 nostro 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 consentirci di aumentare le potenzialità di applicazioni ad ampio raggio degli studi interdisciplinari.

Per raggiungere i gli obiettivi i ricercatori hanno organizzato 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.

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 è 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 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 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 si stanno ultimando le analisi per valutare l'espressione dei marcatori identificati attraverso gli studi di bioinformatica, nel modello animale.

LINEA 5

COVID 19

Maggi F, Rosellini A, Spezia PG, Focosi D, Macera L, Lai M, Pistello M, de Iure A, Tomino C, Bonassi S, Russo P.

Nicotine upregulates ACE2 expression and increases competence for SARS-CoV-2 in human pneumocytes.

ERJ Open Res. 2021 Apr 12;7(2):00713-2020.

The coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic has a variable degree of severity according to underlying comorbidities and life-style. Several research groups have reported an association between cigarette smoking and increased severity of COVID-19. The exact mechanism of action is largely unclear. We exposed low angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)-expressing human pulmonary adenocarcinoma A549 epithelial cells to nicotine and assessed ACE2 expression at different times. We further used the nicotine-exposed cells in a virus neutralisation assay. Nicotine exposure induces rapid and long-lasting increases in gene and protein expression of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) receptor ACE2, which in turn translates into increased competence for SARS-CoV-2 replication and cytopathic effect. These findings show that nicotine worsens SARS-CoV-2 pulmonary infection and have implications for public health policies.

Pagnesi M, Inciardi RM, Lombardi CM, Agostoni P, Ameri P, Barbieri L, Bellasi A, Camporotondo R, Canale C, Carubelli V, Carugo S, Catagnano F, Vecchia LAD, Danzi GB, Di Pasquale M, Gaudenzi M, Giovinazzo S, Gnechi 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, Sarullo F, Sinagra G, Tedino C, Tomasoni D, Volterrani M, Zaccone G, Senni M, Metra M.

Determinants of the protective effect of glucocorticoids on mortality in hospitalized patients with COVID-19: Insights from the Cardio-COVID-Italy multicenter study.

Int J Infect Dis. 2021 May 27;108:270–273.

Glucocorticoid therapy has emerged as an effective therapeutic option in hospitalized patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). This study aimed to focus on the impact of relevant clinical and laboratory factors on the protective effect of glucocorticoids on mortality.

A sub-analysis was performed of the multicenter Cardio-COVID-Italy registry, enrolling consecutive patients with COVID-19 admitted to 13 Italian cardiology units between 01 March 2020 and 09 April 2020. The primary endpoint was in-hospital mortality.

A total of 706 COVID-19 patients were included (349 treated with glucocorticoids, 357 not treated with glucocorticoids). After adjustment for relevant covariates, use of glucocorticoids was associated with a lower risk of in-hospital mortality (adjusted HR 0.44; 95% CI 0.26-0.72; $p = 0.001$). A significant interaction was observed between the protective effect of glucocorticoids on mortality and PaO₂/FiO₂ ratio on admission ($p = 0.042$), oxygen saturation on admission ($p = 0.017$), and peak CRP (0.023). Such protective effects of glucocorticoids were mainly observed in patients with lower PaO₂/FiO₂ ratio (<300), lower oxygen saturation (<90%), and higher CRP (>100 mg/L).

The protective effects of glucocorticoids on mortality in COVID-19 were more evident among patients with worse respiratory parameters and higher systemic inflammation.

Ricerca Finalizzata

Clinical relevance of miR-142-3p as potential biomarker of synaptopathy in Multiple Sclerosis

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/ Glutamate Aspartate Transporter (miR-142-3p/GLAST). Il gruppo ha 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 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, si aspetta di migliorare la prognosi della SM e le terapie personalizzate. L'unità operativa dell'IRCCS San Raffaele Roma, in stretta collaborazione con il PI, ha condotto la quantificazione dei livelli di miR-142-3p nel CSF di 150 pazienti SM reclutati al Neuromed 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, è stato osservato che pazienti trattati con dimetil fumarato (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

Interleukin-9 and multiple sclerosis: biomarker and potential therapy.

La sclerosi multipla (SM) è una malattia autoimmune infiammatoria e neurodegenerativa. L'interleuchina (IL) -9 è una citochina che svolge un ruolo immunoregolatorio importante nella SM e nell'encefalomielite autoimmune sperimentale (EAE): i livelli di IL-9 nel liquido cerebrospinale, misurati nei pazienti con SM al momento della diagnosi, sono inversamente

correlati agli indici di infiammazione, neurodegenerazione, progressione della disabilità e risposta alla terapia di prima linea. In EAE, la neutralizzazione di IL-9 prima dell'inizio della malattia aggrava la malattia. Recentemente è stato dimostrato che IL-9 inibisce le cellule immunitarie proinfiammatorie nella periferia.

L'obiettivo del progetto è di studiare l'effetto neuroprotettivo dell'IL-9 dipendente da un'azione diretta sulle cellule residenti nel cervello, con l'intento di fornire le basi per la progettazione di nuovi efficaci approcci terapeutici per la SM.

Vengono condotti vari esperimenti condotti sul modello murino di malattia, EAE. I dati ottenuti mostrano un effetto protettivo dell'IL-9 sul decorso clinico della malattia. Tale effetto è stato ottenuto sia con un trattamento sistemico di tipo preventivo (iniziato quindi lo stesso giorno dell'induzione della malattia) che terapeutico (ovvero alla comparsa dei sintomi). Nello specifico è stato eseguito un trattamento intraperitoneale (ip) ad un dosaggio giornaliero di 200ng per topo. L'effetto benefico sullo score motorio era accompagnato anche da un ripristino di una corretta funzionalità sinaptica e da una significativa riduzione dei parametri neuroinfiammatori. Nello specifico, le correnti glutammatergiche risultavano significativamente diverse da quelle di un topo EAE trattato con veicolo e paragonabili a quelle di un topo di controllo. Parallelamente, tramite esperimenti di immunofluorescenza è stato dimostrato che il trattamento in vivo riduce l'attivazione microgliale e astrogliale. Infine, è stato dimostrato che l'IL-9 promuove un'azione diretta all'interno del SNC, sufficiente a mitigare i deficit motori e le alterazioni sinaitiche tipiche della malattia. Quest'ultimo risultato è stato ottenuto analizzando l'effetto della citochina somministrata in vivo in topi EAE tramite iniezioni locali intracerebroventricolari (icv). Sono in corso esperimenti di real time sul cervello degli animali al fine di validare e quantificare il differente stato neuro infiammatorio indotto dal trattamento IL-9 nei topi EAE. I risultati di questo progetto pongono delle basi solide per la progettazione di nuovi ed efficaci farmaci per il trattamento della SM.

Specialized pro-resolving lipid mediators in the resolution of multiple sclerosis.

La Sclerosi Multipla (SM) è una patologia infiammatoria cronica neurodegenerativa caratterizzata da eventi infiammatori e fenomeni autoimmunitari incontrollati e per la quale la ricerca di nuovi metodi diagnostici e terapeutici rappresenta una costante necessità, specialmente nell'ambito delle forme progressive della malattia. Studi di recente pubblicazione suggeriscono che l'infiammazione cronica e l'autoimmunità siano causate dall'incapacità dei sistemi omeostatici di improntare in modo adeguato i meccanismi di risoluzione dell'infiammazione, un processo che viene iniziato e orchestrato da un genere di lipidi anti-infiammatori di recente identificazione e derivati metabolicamente dagli acidi grassi omega-3, definiti lipidi specializzati pro-risolutivi (specialized pro-resolving lipid mediators, SPMs).

In questo progetto, 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 vengono coordinati una serie di esperimenti nel modello EAE per testare il ruolo benefico di resolvine potenzialmente coinvolte nella SM.

Nell'ultimo anno è stato testato il ruolo della resolvina PD1 nel trattamento dell'EAE mediante due specifici approcci. Nel primo i ricercatori hanno testato la resolvina PD1 iniziando il trattamento intraperitoneale giornaliero in concerto con l'induzione dell'EAE, al fine di valutare un suo effetto preventivo sullo sviluppo dei deficit motori ed elettrofisiologici normalmente indotti nel corso dell'encefalopatia. In questo set sperimentale non sono stati osservati dei

miglioramenti motori ed elettrofisiologici nei topi trattati, permettendoci di escludere un'efficacia della resolvina PD1 mediante un trattamento preventivo.

Partendo da questi dati i ricercatori hanno poi eseguito un secondo approccio temporale, iniziando a trattare gli animali con la resolvina PD1 dopo l'esordio dei sintomi motori (15 dpi).

Mediante questo metodo si è riusciti ad osservare un miglioramento dei deficit clinici degli animali trattati a partire da 22 dpi, corroborati attraverso degli specifici test motori in grado di mostrare un miglioramento nei topi EAE trattati con la PD1 in termini di forza (a 25 dpi mediante il *Grip Strength test*) e di resistenza (a 28 dpi mediante il *Grid test*) muscolare. Seguendo lo stesso approccio sperimentale, in una diversa coorte di animali è stata poi studiata l'attività fisiologica striatale durante la fase cronica della malattia, dimostrando un recupero significativo delle frequenze della trasmissione GABAergica e dell'attività del sistema endocannabinoide nei topi EAE trattati con la resolvina PD1.

Insieme questi risultati indicano che la resolvina PD1 è in grado di migliorare i sintomi clinici e ripristinare la corretta comunicazione elettrofisiologica inibitoria striatale unicamente quando il trattamento ha inizio in fase di attività di malattia, ponendo delle forti basi sperimentali e traslazionali nel trattamento di pazienti affetti da sclerosi multipla.

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, ci 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, consente di svelare i meccanismi alla base degli effetti benefici dell'esercizio fisico nella SM.

Vengono coordinati gli esperimenti di esercizio fisico e vagotomia nei topi con encefalomyelitis autoimmune sperimentale (EAE) e tutte le attività previste in collaborazione con le altre unità coinvolte nello studio.

Per quanto riguarda lo studio clinico, dall'inizio dello studio sono stati reclutati 22 pazienti, di cui 17 hanno completato le valutazioni al t1 e 10 hanno completato le valutazioni sia al t1 che al t2. In totale 6 pazienti sono usciti dallo studio, di cui 4 per motivi personali e 2 a causa dei disagi causati dalla pandemia.

I pazienti SM in forma progressiva 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. I dati acquisiti finora suggeriscono che la riabilitazione motoria ha un effetto di significativo miglioramento sull'ansia, sia di tratto che di stato, migliora la qualità della vita, valutata attraverso il Multiple Sclerosis Quality of Life (MSQoL-54), nella sottoscala fisica, nelle sotto-componenti relative al funzionamento fisico, all'energia e alla fatica percepita e la percezione degli effetti della SM sulla vita quotidiana e sui

sintomi da un punto di vista psicologico. Gli esperimenti chimerici mostrano che l'esercizio fisico è in grado di attenuare gli effetti sinaptici dei linfociti sulle frequenze della trasmissione glutammatergica nel modello chimerico linfociti umani-sezioni cerebrali murine. Infine, pur non alterando la frequenza ed il numero assoluto delle principali classi linfocitarie, l'esercizio fisico modula l'assetto metabolico linfocitario, favorendo la risposta glicolitica e la respirazione mitocondriale.

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 microgliosi e con una specifica riduzione dell'espressione di citochine proinfiammatorie come TNF- α e IL-1 β nel cervello. Ciò si associa all'aumentata sopravvivenza degli interneuroni GABAergici. Inoltre, è stato dimostrato che l'esercizio attenua l'eccitotossicità glutammatergica, determinata da aumentato rilascio di glutammato nel nucleo striato. Da un punto di vista immunitario, i ricercatori hanno osservato che l'esercizio fisico riduce a livello periferico (milza) la frequenza di linfociti B e la proliferazione antigene-specifica e l'attivazione di linfociti T CD3. L'esercizio fisico inoltre migliora l'attivazione delle cellule T regolatorie (CD4+Foxp3+), suggerendo un miglior controllo dei cloni autoreattivi. Infine, l'esercizio modula l'assetto metabolico dei linfociti T CD3, inibendo in maniera particolare l'attivazione del processo glicolitico (Rizzo et al., 2021).

Al fine di valutare il ruolo del nervo vago nella risposta immunitaria dell'EAE e negli effetti dell'esercizio, sono stati effettuati i primi esperimenti di vagotomia cervicale in topi controllo, di cui è stato valutato il successo, tramite valutazione dei livelli periferici di TNF a seguito di stimolazione con lipopolisaccaride batterico (LPS). Sono in corso esperimenti di immunizzazione su animali vagotomizzati per valutare la risposta immunitaria e di score clinico.

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, indicando che esiste un nesso di causalità tra l'obesità e la perdita di massa muscolare (sarcopenia).

Considerato il ruolo fondamentale del muscolo scheletrico nel mantenimento della funzione motoria e della funzione metabolica dell'organismo, appare evidente che il deterioramento del sistema muscolare incide in modo negativo sulla salute dell'organismo. Inoltre, l'invecchiamento è spesso associato con l'obesità e l'osteoporosi e alcuni studi suggeriscono che il tessuto adiposo disfunzionale di individui obesi può portare allo sviluppo di osteoporosi, indotto dal rilascio di molecole biologicamente attive che potrebbero influenzare il metabolismo osseo.

È stato dimostrato che l'aumento dell'attività del recettore mineralcorticoido (MR) nell'obesità promuove l'espressione di adipochine pro infiammatorie (TNF α , 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. È 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. È 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.

Obiettivi dello studio:

Aim 1. È 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 3 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.

Aim 2. Studio dell'azione delle adipochine trascrizionalmente regolate da MR sulla funzione ossea in una linea umana di osteoblasti, in presenza di mezzi condizionati ottenuti da colture di adipociti primari, derivanti da biopsie di topi MRKO e con agonisti e antagonisti di MR. Valutazione dell'espressione di markers del differenziamento, dell'apoptosi, della proteolisi e dell'autofagia in cellule muscolari murine C2C12 e dell'espressione di markers del differenziamento osteoblastico in cellule Saos-2, trattate sia con agonisti/antagonisti di MR, sia con siero prelevato da pazienti obesi e obesi/sarcopenici.

Aim 3. Allo scopo di valutare se le osservazioni condotte su animali e cellule, sul ruolo di MR nell'obesità sarcopenica, possano essere applicate all'uomo, pazienti obesi e obesi/sarcopenici sono stati sottoposti ad analisi di composizione corporea. In particolare, 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, sono state esplorate le possibili correlazioni tra i livelli circolanti di aldosterone, renina, obesità e composizione corporea. Il siero dei pazienti arruolati è stato altresì utilizzato per studiare il potenziale effetto del siero di soggetti obesi obesi/sarcopenici sul differenziamento cellulare (obiettivo 2).

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 sovranatanti delle colture di adipociti primari da topi MRKO contenessero livelli ridotti di adipochine proinfiammatorie rispetto ai sovranatanti di adipociti primari da topi wild type, causando un danno minore a livello delle colture cellulari

Ci si aspettava altresì 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, induca un danno a livello del muscolo scheletrico e del tessuto osseo.

Il progetto utilizza 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. Lo studio può dare un contributo sostanziale alla comprensione del ruolo di MR nell'adipocita e può suggerire nuovi target potenziali da utilizzare nella terapia farmacologica dell'obesità sarcopenica e delle patologie ad essa correlate.

Aim 1: Lo studio preclinico *in vivo* ha impiegato topi maschi C57BL/6 knockout per il gene MR nel tessuto adiposo (topi Adipo MRKO), sottoposti a dieta normale o obesogena (45% di energia derivante da grassi) per 4 mesi insieme al relativo gruppo di controllo. Real-time PCR e tecniche di immunoistochimica sono state impiegate per valutare, nel tessuto adiposo dei topi, l'espressione dei geni coinvolti nel processo di adipogenesi, morfologia e localizzazione di specifiche proteine. Il test di tolleranza al glucosio e il test di tolleranza all'insulina sono stati effettuati nei topi tramite iniezione intraperitoneale rispettivamente di glucosio e insulina e successiva misura dei livelli di glucosio circolanti usando un glucometro. Sono stati altresì misurati i livelli plasmatici di colesterolo totale, trigliceridi e acidi grassi liberi. Inoltre sono state preparate colture di adipociti primari dal tessuto adiposo di topi MRKO e topi wild type ed è stata valutata la capacità differenziativa di tali colture analizzando l'espressione di geni coinvolti nel differenziamento adipogenico tramite real-time RT-PCR.

Alla luce dei dati, (assenza di fenotipo), ottenuti dallo studio di questo modello murino è stato effettuato un altro studio *in vivo* impiegando topi wild type sottoposti a dieta obesogena e trattati con un antagonista di MR. Oltre alla valutazione dello stato metabolico, 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 muscolare. Infine i muscoli isolati dai topi in esperimento sono stati utilizzati per effettuare una caratterizzazione dei marcatori di infiammazione al citofluorimetro.

Aim 2: Per lo studio *in vitro* sul ruolo di MR nell'osso in questa prima fase del progetto è stata impiegata una linea umana di osteoblasti (Saos-2) trattati con aldosterone o con l'antagonista di MR, spironolattone. Lo studio ha previsto la valutazione dell'espressione genica dei principali marker funzionali degli osteoblasti e l'analisi tramite western blot dei livelli proteici di MR, in presenza o in assenza di trattamento. Sulla base di questi primi risultati e dei dati presenti in letteratura è stato valutato l'effetto del siero di soggetti normopeso (NW), soggetti affetti da obesità (OB), e soggetti affetti da obesità sarcopenica (OBS), nei quali spesso è presente

un'alterazione dei livelli di mineralcorticoidi (aldosterone) circolanti, sul differenziamento di diversi tipi cellulari. Sono stati inizialmente valutati i potenziali effetti del siero dei soggetti NW, OB e OBS sul differenziamento delle staminali mesenchimali (Human Mesenchymal Stem Cell, HMSC) a confronto con cellule indifferenziate (T0) e cellule di controllo (CTL) esposte ad un terreno di differenziamento osteoblastico.

Al fine di caratterizzare i processi alla base dell'alterata omeostasi del muscolo scheletrico nell'obesità, è stata utilizzata, come modello sperimentale di mioblasti, una linea cellulare di muscolo murino C2C12, al fine di valutare se l'esposizione delle cellule al siero dei soggetti OB e OBS, potesse indurre alterazioni del processo di differenziamento a confronto con cellule esposte al siero dei soggetti NW.

Il grado di differenziamento delle colture cellulari (Saos-2, C2C12) è stato valutato mediante un'analisi di espressione genica per i principali markers del differenziamento muscolare (MyoD, myogenin) e osseo (alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin (OCN), COL1A1, osteopontin (OPN)).

Aim 3: Criteri di inclusione: età > 18 anni; indice di massa corporea, BMI > 30 Kg/m²; sottoscrizione del Consenso Informato. Criteri di esclusione: ipertensione arteriosa in trattamento farmacologico; insufficienza cardiaca; pregressa cardiopatia ischemica; diabete mellito in trattamento farmacologico e/o diabete mellito scompensato; endocrinopatie in fase di scompenso; disturbi elettrolitici severi; insufficienza renale grave; insufficienza epatica grave; neoplasie pregresse o in trattamento; malattie ematologiche; terapie antineoplastiche in atto; malattie neurologiche severe; demenza o presenza di inabilità psico-comportamentali; patologie psichiatriche; storia di abuso di alcol o droghe; presenza di eventuali condizioni in grado di precludere una sicura inclusione nello studio.

I soggetti arruolati 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 Absorptiometry (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) = $(0,75 \times peso\ ideale) + (0,25 \times eccesso\ di\ peso)$; $peso\ ideale = altezza^2$ (espressa in metri) $\times 25$; $eccesso\ di\ peso = peso\ reale - peso\ ideale$. 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 e muscolari nel corso degli esperimenti effettuati presso l'UO Foro Italico.

Analisi statistica: i valori sono presentati come media \pm deviazione standard (DS). Nell'ambito del gruppo di studio è stato effettuato uno studio di correlazione lineare tra variabili continue, di tipo quantitativo, mediante Correlazione di Pearson, utilizzando il software statistico SPSS – IBM International, Chicago, IL, USA, Versione n.23. Il coefficiente di correlazione r di Pearson < 0 esprime una correlazione di tipo negativo (discordante) tra le due variabili quantitative considerate; il coefficiente di correlazione r di Pearson > 0 esprime una correlazione di tipo positivo (concordante) tra le due variabili quantitative considerate; la correlazione è considerata significativa per valori di $p < 0,05$.

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.

Alla luce dei dati ottenuti e considerando l'assenza di fenotipo nel modello studiato, rispetto a quanto atteso, si è reso necessario ipotizzare un nuovo studio *in vivo* impiegando un modello di obesità dieta-indotta (topi wild type sottoposti a dieta obesogena, HFD, 60% kcal da grassi, per 12 settimane con o senza blocco farmacologico di MR). Al termine del trattamento i topi obesi trattati con spironolattone mostravano un miglioramento della tolleranza al glucosio pur mantenendo un peso paragonabile a quello dei controlli obesi.

Contrariamente a quanto già osservato dal gruppo di ricerca dell'IRCCS San Raffaele Roma, in studi precedenti sull'espressione di MR nel tessuto adiposo di topi obesi, l'analisi in real-time e western blot del muscolo scheletrico (gastrocnemio) ha mostrato una riduzione dei livelli di MR, nei topi sottoposti ad HFD rispetto ai controlli magri, mentre il blocco sistemico del recettore, mediante somministrazione di spironolattone nella dieta, induceva un aumento dei livelli della proteina nel muscolo.

Al fine di investigare il ruolo di MR nel muscolo scheletrico, nel modello di obesità proposto, è stata inoltre valutata l'espressione genica di SGK-1, un noto target di MR in altri tessuti, inclusi il tessuto adiposo e di alcune miochine coinvolte nel metabolismo muscolare. In accordo con i dati sull'espressione proteica di MR, è stata osservata una regolazione negativa dei livelli di mRNA di SGK-1 nei topi obesi, con una reversione significativa dell'effetto nel gastrocnemio dei topi trattati con Spiro.

Per quanto riguarda le miochine analizzate è stato osservato un aumento significativo dell'espressione genica di IL-6 e irisina, ormone prodotto dal tessuto muscolare durante attività fisica coinvolto anche nel meccanismo del "browning", indotto da Spiro rispetto al gruppo in HFD. L'analisi del pathway di atrofia non ha mostrato variazioni significative nell'espressione genica di Atrogin e MURF-1 nei topi trattati con Spiro. La valutazione del segnale insulinico nel muscolo scheletrico è stata effettuata mediante analisi della fosforilazione di Akt e di IRS-1 nel gastrocnemio di topi in esperimento, stimolati con iniezione intraperitoneale di insulina per 15 min prima del sacrificio. L'analisi tramite western blot non ha rivelato differenze significative nell'attivazione del segnale insulinico nei topi obesi trattati con Spiro.

La deposizione ectopica di lipidi è stata valutata nel tibialis anterior mediante colorazione OilRed che ha mostrato una tendenza alla riduzione dell'accumulo di lipidi nel muscolo dei topi trattati con Spiro rispetto al gruppo HFD.

Vista la mancanza di dati in letteratura inerenti l'espressione di MR nelle cellule ossee, uno degli obiettivi dello studio preclinico è stato quello di valutare la presenza e il ruolo di MR negli osteoblasti, cellule di derivazione mesenchimale, deputate alla formazione scheletrica mediante la produzione di proteine collageniche e non collageniche della matrice. Inizialmente è stata valutata l'espressione di MR nel modello sperimentale *in vitro* di cellule osteoblastiche umane immortalizzate (Saos-2). Da una prima valutazione dell'espressione proteica di MR negli osteoblasti, è emerso che le cellule Saos-2 esprimono MR, ma la proteina non viene modulata

dal trattamento con aldosterone e spironolattone. Successivamente, è stata determinata anche l'espressione genica di MR, ma in contrasto con quanto osservato, il livello di espressione genica del recettore è molto basso di MR, inoltre non sono state riscontrate modulazioni di MR dopo trattamento con aldosterone o spironolattone. Il passo successivo è stato quello di analizzare l'effetto della stimolazione di aldosterone e spironolattone sull'attività biologica delle Saos-2 valutando i principali markers del differenziamento e dell'attività delle cellule osteoblastiche, quali il collagene (Coll), l'osteocalcina (OCN) e la fosfatasi alcalina (ALP). Contrariamente a quanto atteso, gli esperimenti effettuati non hanno mostrato nessuno effetto significativo e nessuna modulazione dell'espressione di questi indicatori di attività osteoblastica dopo esposizione a aldosterone e spironolattone. Sono stati anche valutati i potenziali effetti del siero dei soggetti NW, OB e OBS, (reclutati nell'ambito dell'aim3), nei quali spesso è presente un'alterazione dei livelli di aldosterone circolante, sul differenziamento di staminali mesenchimali esposte ad un terreno di differenziamento osteoblastico (contenente: dexametasone, ascorbato, penicillina/streptomina, β -glicerofosfato). In particolare, il modello sperimentale cellulare scelto è rappresentato da cellule mesenchimali umane derivanti da midollo osseo (Human Mesenchymal Stem Cell, HMSC). Le cellule mesenchimali sono state trattate coltivate in presenza del siero dei soggetti reclutati.

Al fine di indagare i meccanismi alla base dell'alterazione metabolica a carico del muscolo scheletrico nell'obesità sarcopenica, il siero dei soggetti arruolati è stato utilizzato per trattare colture di mioblasti (C2C12) indotti a differenziare. È stata valutata l'espressione genica dei principali marker del differenziamento (miogenina, MyoD, MycH300) e del marker di atrofia (atrogen) a diversi tempi (24h, D1 e 72h, D3), osservando un incremento statisticamente significativo dei livelli di espressione di miogenina e MycH300 nelle cellule dopo 3 giorni di differenziamento (D3) rispetto a D1. Inoltre, le cellule condizionate con il siero dei soggetti OB e OBS mostrano un trend di diminuzione statisticamente non significativo dell'espressione di miogenina e MycH300 rispetto alle cellule condizionate con il siero dei soggetti NW, dopo 3 giorni di differenziamento (D3).

La modulazione dei marker analizzati in real-time PCR è stata valutata anche a livello proteico. Come mostrato in figura 16 si nota un trend, statisticamente non significativo, di diminuzione della miogenina nelle cellule condizionate con il siero dei soggetti OB e OBS rispetto alle cellule condizionate con il siero dei soggetti NW dopo 1 giorno di differenziamento. Inoltre, vi è una diminuzione di MyoD nelle cellule condizionate con il siero dei soggetti OB e OBS rispetto alle cellule condizionate con il siero dei soggetti NW dopo 3 giorni di differenziamento. I risultati in vitro ottenuti indicano complessivamente come le cellule muscolari esposte al siero dei soggetti OB e OBS mostrino un'alterazione del differenziamento con un rallentamento dei processi differenziativi a confronto con le cellule esposte al siero dei soggetti NW, suggerendo la possibile presenza di un milieu alterato nei soggetti affetti da OBS rispetto ai soggetti di controllo normopeso, che potrebbe inficiare l'omeostasi del tessuto muscolo-scheletrico.

Nel corso della fase attiva di studio sono stati arruolati 39 soggetti adulti (età media=47 \pm 16,85 anni), 31 soggetti di sesso femminile e 8 soggetti di sesso maschile, affetti da obesità (BMI medio=44,5 \pm 7,94 Kg/m²), afferenti 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.

Come atteso, nella popolazione studiata si è osservata una correlazione positiva ($r=0,555$) statisticamente significativa ($p=0,011$) tra BMI vs circonferenza vita (CV).

A conferma del dato, noto in letteratura, dell'associazione tra obesità e stato infiammatorio cronico, anche nella popolazione in studio abbiamo osservato: una correlazione positiva

($r=0,354$) statisticamente non significativa ($p=0,106$) tra BMI vs PCR, una correlazione positiva ($r=0,277$) statisticamente non significativa ($p=0,299$) tra BMI vs VES e una correlazione positiva ($r=0,533$) statisticamente significativa ($p=0,034$) tra CV vs PCR; al contrario abbiamo osservato una correlazione negativa ($r=-0,262$) statisticamente non significativa ($p=0,437$) tra CV vs VES.

Considerando la nota associazione tra obesità, ridotta sensibilità insulinica (condizione valutata mediante l'utilizzo dell'indice HOMA, HOMA-I) e deficit di vitamina D (vitD), i ricercatori hanno effettuato analisi di correlazione tra i suddetti parametri anche nella popolazione dello studio e i ricercatori hanno osservato, come atteso, questo andamento, seppur con risultati statisticamente non significativi, nello specifico: una correlazione positiva ($r=0,344$) statisticamente non significativa ($p=0,108$) tra BMI vs HOMA-I, una correlazione negativa ($r=-0,316$) statisticamente non significativa ($p=0,133$) tra BMI vs vitD, una correlazione positiva ($r=0,356$) statisticamente non significativa ($p=0,161$) tra CV vs HOMA-I, mentre è stata osservata una correlazione positiva ($r=0,037$) statisticamente non significativa ($p=0,886$) tra CV vs vitD.

Andando a valutare, inoltre, la nota associazione tra ridotta sensibilità insulinica, stato infiammatorio e deficit di vitD, è stato confermato il dato anche nella popolazione dello studio, tuttavia con risultati statisticamente non significativi, precisamente sono state osservate: una correlazione positiva ($r=0,278$) statisticamente non significativa ($p=0,235$) tra HOMA-I vs PCR, una correlazione positiva ($r=0,131$) statisticamente non significativa ($p=0,641$) tra HOMA-I vs VES, una correlazione negativa ($r=0,398$) statisticamente non significativa ($p=0,060$) tra HOMA-I vs vitD.

Concentrandosi sulle possibili correlazioni tra i livelli circolanti di aldosterone (ALDO), renina, il loro rapporto (ALDO/renina) e il BMI i ricercatori hanno osservato: una correlazione negativa ($r=-0,445$) statisticamente significativa ($p=0,023$) tra ALDO vs BMI, una correlazione negativa ($r=-0,254$) statisticamente non significativa tra ALDO/renina vs BMI, mentre abbiamo riscontrato una correlazione positiva ($r=0,172$) statisticamente non significativa ($p=0,401$) tra renina vs BMI.

Andando a valutare le possibili correlazioni tra i livelli circolanti di ALDO, renina, ALDO/renina e la composizione corporea, si è ottenuto: una correlazione negativa ($r=-0,396$) statisticamente non significativa ($p=0,076$) tra ALDO vs massa grassa espressa in valore percentuale (FM%), una correlazione positiva ($r=0,070$) statisticamente non significativa ($p=0,763$) tra renina vs FM% e una correlazione positiva ($r=0,024$) statisticamente non significativa ($p=0,917$) tra il rapporto ALDO/renina vs FM%; una correlazione negativa ($r=-0,396$) statisticamente non significativa ($p=0,076$) tra ALDO vs FM espressa in Kg, una correlazione positiva ($r=0,141$) statisticamente non significativa ($p=0,544$) tra renina vs FM espressa in Kg e una correlazione negativa ($r=-0,197$) statisticamente non significativa ($p=0,393$) tra ALDO/renina vs FM espressa in Kg; una correlazione positiva ($r=0,194$) statisticamente non significativa ($p=0,47$) tra ALDO vs massa magra (FFM) espressa in Kg, una correlazione positiva ($r=0,148$) statisticamente non significativa ($p=0,585$) tra renina vs FFM espressa in Kg e una correlazione negativa ($r=-0,197$) statisticamente non significativa ($p=0,464$) tra ALDO/renina vs FFM espressa in Kg; una correlazione positiva ($r=0,301$) statisticamente non significativa ($p=0,257$) tra ALDO vs massa magra appendicolare (ALM), una correlazione positiva ($r=0,243$) statisticamente non significativa ($p=0,364$) tra renina vs ALM, una correlazione negativa ($r=-0,080$) statisticamente non significativa ($p=0,769$) tra ALDO/renina vs ALM.

La valutazione di possibili correlazioni tra livelli circolanti di ALDO, renina, ALDO/renina e densità minerale ossea ha evidenziato: una correlazione positiva ($r=0,437$) statisticamente non significativa ($p=0,1$) tra ALDO vs T-score lombare medio, una correlazione negativa ($r=-0,566$) statisticamente significativa ($p=0,028$) tra renina vs T-score lombare medio e una correlazione positiva ($r=0,437$) statisticamente significativa ($p=0,013$) tra ALDO/renina vs T-score lombare

medio; una correlazione positiva ($r=0,391$) statisticamente non significativa ($p=0,16$) tra ALDO vs T-score collo femore, una correlazione negativa ($r=-0,677$) statisticamente significativa ($p=0,008$) tra renina vs T-score collo femore e una correlazione positiva ($r=0,323$) statisticamente non significativa ($p=0,26$) tra ALDO/renina vs T-score collo femore.

Lo studio delle possibili correlazioni tra livelli circolanti di ALDO, renina, ALDO/renina, CV, HOMA-I e indici infiammatori, ha evidenziato: una correlazione negativa ($r=-0,302$) statisticamente non significativa ($p=0,209$) tra ALDO vs CV e una correlazione positiva ($r=0,017$) statisticamente non significativa ($p=0,945$) tra renina vs CV; una correlazione negativa ($r=-0,146$) statisticamente non significativa ($p=0,507$) tra ALDO vs HOMA-I e una correlazione positiva ($r=0,139$) statisticamente non significativa ($p=0,526$) tra renina vs HOMA-I; una correlazione negativa ($r=-0,337$) statisticamente non significativa ($p=0,135$) tra ALDO vs proteina C reattiva (PCR) e una correlazione positiva ($r=0,099$) statisticamente non significativa ($p=0,716$) tra ALDO vs VES; una correlazione positiva ($r=-0,537$) statisticamente significativa ($p=0,012$) tra renina vs PCR e una correlazione positiva ($r=0,644$) statisticamente significativa ($p=0,007$) tra renina vs VES.

Infine, andando a valutare le possibili correlazioni tra ALDO, renina e livelli circolanti di vitD, abbiamo osservato: una correlazione negativa ($r=-0,023$) statisticamente non significativa ($p=0,915$) tra ALDO vs vitD e una correlazione negativa ($r=-0,349$) statisticamente non significativa ($p=0,095$) tra renina vs vitD.

Il progetto si è concluso.

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

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 intende effettuare una valutazione basata su EEG degli effetti corticali di diverse categorie di video per l'ottimizzazione dell'AOT nell'ictus cronico.

Lo studio intende:

Specific Aims

- 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. La Fase 0 e 1 sono concluse e la fase 3, è in corso, ma, a causa dell'emergenza COVID-19 è stata soggetta ad un rallentamento e alla necessità di reclutare e di nuovo i soggetti partecipanti.

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 del laboratorio, 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 l'IRCCS San Raffaele di 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 μ e β significativamente maggiore.

I risultati di questo studio potrebbero aiutare i medici a definire i 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 MICROBIOLOGIA DELLE PATOLOGIE CRONICO-DEGENERATIVE

Ricerca Finalizzata 2018- Starting Grant

A more accurate risk biomarkers recognition for progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) caused by Polyomavirus JC in patients with multiple sclerosis during treatment with disease-modifying therapies (DMTs): an ongoing clinical challenge

Al tempo T0 (basale), corrispondente alla pre-somministrazione di Natalizumab, il DNA di JCPyV è stato rilevato in 9 dei 33 pazienti arruolati tra gennaio e giugno 2020. Nello specifico, il DNA virale è stato rilevato nelle urine (viruria) di 4 pazienti con un valore medio di 3×10^4 gEq/mL e nel plasma di 3 pazienti (viremia), con un valore medio di $3,5 \times 10^3$ gEq/mL. In 2 pazienti, il DNA di JCPyV è stato trovato nei PBMC con un valore medio di 8×10^2 gEq/106 cellule. Solo in un paziente veniva rilevato DNA virale nel plasma (1×10^3 gEq/mL) e contemporaneamente nei PBMC (3×10^2 gEq/106 cellule).

Al T1 (4 mesi dall'inizio della terapia), in 15 pazienti trattati con Natalizumab veniva rilevato il DNA di JCPyV: 10 pazienti presentavano viruria (valore medio: $7,5 \times 10^4$ gEq/mL), 3 presentavano viremia (valore medio: 4×10^3 gEq/mL), mentre, 2 pazienti risultavano positivi la ricerca del DNA di virale nei PBMC (valore medio: 1×10^3 gEq/106 cellule). L'unico paziente positivo al DNA di JCPyV sia nel plasma che nei PBMC al tempo T0, si confermava positivo anche al tempo T1 (plasma: $7,5 \times 10^3$ gEq/mL; PBMC: $4,5 \times 10^2$ gEq/106 cellule).

Dopo 8 mesi dall'inizio della terapia (T2), 23/33 pazienti presentavano DNA di JCPyV: 16 nelle urine (valore medio: $9,5 \times 10^4$ gEq/mL), 7 pazienti erano viremici (valore medio: $6,5 \times 10^3$ gEq/mL), 5 risultavano positivi nei PBMC (valore medio: $1,5 \times 10^3$ gEq/106 cellule). La presenza del DNA di JCPyV riscontrata a T0 e T1 nell'unico paziente positivo alla ricerca del DNA virale sia nel plasma che nei PBMC veniva confermata anche al tempo T2 e con un aumento della carica virale plasmatica ($9,5 \times 10^3$ gEq/mL) e nei PBMC ($8,5 \times 10^2$ gEq/106).

Al T3 (12 mesi dall'inizio della terapia), tutti i pazienti presentavano il DNA di JCPyV: 21 pazienti presentavano viruria (valore medio: $2,5 \times 10^5$ gEq/mL), 10 viremia (valore medio: 7×10^3 gEq/mL), 7 risultavano positivi nei PBMC (valore medio: $1,7 \times 10^3$ gEq/106 cellule), mentre il paziente, precedentemente positivo nel plasma e nei PBMC, confermava l'infezione solo nel plasma (carica virale plasmatica 1×10^4 gEq/mL).

L'analisi effettuata dopo 16 mesi dall'inizio del trattamento (T4) ha mostrato che 33/33 pazienti mostravano viruria (valore medio: $5,5 \times 10^5$ gEq/mL), 15 viremia (valore medio: 4×10^4 gEq/mL) e 9 erano positivi alla ricerca del JCPyV DNA nei PBMC (valore medio: 3×10^3 gEq/106 cellule). Il paziente positivo nel plasma al T3 è tornato ad essere positivo sia nel plasma che nei PBMC al T4, con un valore medio di $1,5 \times 10^4$ gEq/mL e 1×10^3 gEq/106 cellule, rispettivamente.

I risultati sottolineano che all'aumentare del numero di infusioni di Natalizumab (follow-up T0-T4) aumenta il numero di pazienti che si "viro-convertono" (JCPyV DNA da non rilevato a rilevato) ed il valore medio di JCPyV-DNA nei campioni biologici analizzati (urine, plasma e PBMC). L'analisi statistica dei risultati della Q-PCR indica inoltre che il valore medio della carica virale di JCPyV rilevata nei campioni di urina è significativamente più alta di quella osservata nel plasma e nei PBMC ($p < 0,05$).

Prima di iniziare il trattamento con Natalizumab (T0) e dopo 12 infusioni di farmaco (T3), è stato eseguito un test di seconda generazione ELISA (STRATIFY JCV[®] DxSelect™), sul siero dei 33 soggetti con SM arruolati e trattati con Natalizumab.

Al T0, sono stati osservati anticorpi specifici per JCPyV nel siero di 3 pazienti (STRATIFY JCV[®]-positivi), mentre 30 presentavano un test STRATIFY JCV[®] negativo. Contestualmente all'analisi degli anticorpi anti-JCPyV, è stata valutata la presenza del DNA di JCPyV nei campioni analizzati. Come precedentemente riportato, al T0, 9/33 pazienti presentavano una positività alla ricerca del JCPyV-DNA (4 pazienti JCPyV DNA nelle urine, 3 pazienti JCPyV DNA nel plasma, 2 pazienti JCPyV DNA nei PBMC).

Dei 3 pazienti STRATIFY JCV[®]-positivi, 1 paziente presentava il DNA virale sia nel plasma che nei PBMC mentre i 2 pazienti rimanenti (STRATIFY JCV[®]-positivi) presentavano DNA virale uno nelle urine e uno nel plasma. Tra i 30 pazienti STRATIFY JCV[®]-negativi, 3 presentavano viruria, 1 era viremico e 1 presentava JCPyV DNA nei PBMC.

Al T3 (12 mesi di trattamento con natalizumab), il numero di pazienti STRATIFY JCV[®]-positivi aumentava da 3 a 8, mentre tutti i pazienti presentavano JCPyV DNA (21 pazienti JCPyV DNA nelle urine, 10 pazienti JCPyV DNA nel plasma, 7 pazienti JCPyV DNA nei PBMC). Nello specifico, tra gli 8 pazienti STRATIFY JCV[®]-positivi, 5 presentavano viruria e 3 viremia. Tra i restanti 25 pazienti STRATIFY JCV[®]-negativi, il rilevamento di JCPyV-DNA ha evidenziato risultati positivi in tutti i pazienti analizzati.

L'analisi dei risultati ha evidenziato che la rilevazione del DNA virale risulta precocemente diagnosticabile rispetto alla determinazione anticorpale e, sembrerebbe utile nell'identificare i pazienti JCPyV-positivi ma con risposta umorale non ancora rilevabile.

In 33 pazienti affetti da SM ed in terapia con Fingolimod, al basale (T0: pre-trattamento), il DNA di JCPyV è stato rilevato nelle urine di 4 pazienti arruolati tra gennaio 2020 e giugno 2021, con un valore medio di $5,5 \times 10^2$ gEq/mL. Al fine di descrivere il follow-up completo relativo ai primi 16 mesi di trattamento (T1-T4), sono stati considerati i pazienti trattati con Fingolimod e arruolati fino a giugno 2020 (14/33). Di questi 14 pazienti, al T0 il DNA virale veniva rilevato nelle urine di 2 pazienti con un valore medio di $1,5 \times 10^2$ gEq/mL. Il numero di pazienti a presentare il DNA di JCPyV rimaneva costante fino a raggiungere il numero di 4 al tempo T4 (16 mesi dall'inizio della terapia). Nello specifico, tutti i pazienti presentavano il DNA virale nelle urine e, 1 paziente, presentava il DNA di JCPyV concomitantamente nelle urine e nel plasma. Il valore medio di JCPyV nelle urine era di: $6,5 \times 10^2$ gEq/mL; il valore medio di JCPyV nel plasma era di: $3,5 \times 10^2$ gEq/mL. La ricerca del DNA virale nei PBMC restituiva risultati negativi a tutti i tempi di follow-up (T0-T4). L'anti-JCV-index, valutato al basale (T0) e nell'arco dei 16 mesi dall'inizio del trattamento con Fingolimod (T1-T4) rimaneva costante in tutti i pazienti analizzati e con un valore di rischio medio $\leq 0,9$ (anti-JCV index $\leq 0,9$). L'anti-JCV-index, esaminato nell'unico paziente risultato positivo dopo 16 mesi di trattamento con Fingolimod (T4) nel

plasma, ha evidenziato un aumento del livello di rischio da basso (anti-JCV index ≤ 0.9) ad intermedio ($0.9 < \text{JCV index} > 1.5$).

Al T0, il DNA di JCPyV è stato rilevato nelle urine di 2 dei 33 pazienti arruolati tra gennaio 2020 e giugno 2021 e trattati con Dimetil-fumarato. Al fine di descrivere il follow-up completo relativo ai primi 16 mesi di trattamento (T1-T4), sono stati considerati i pazienti trattati con Dimetil-fumarato e arruolati fino a giugno 2020 (10/33). Di questi 10 pazienti al T0 solo 1 presentava il DNA di JCPyV nelle urine con una media della carica virale di $6,0 \times 10^2$ gEq/mL. Dal tempo T1 (4 mesi dall'inizio della terapia) al tempo T4 (16 mesi dall'inizio della terapia) il numero dei pazienti presentanti viruria rimaneva costante ma la media della carica virale aumentava in modo statisticamente significativo ($p < 0,05$) da $6,0 \times 10^2$ gEq/mL (valore medio) a $2,8 \times 10^4$ gEq/mL (valore medio). Al tempo T3 il paziente presentante viruria presentava una positività alla ricerca del DNA di JCPyV anche nel plasma. Nello specifico, la carica virale plasmatica era di $1,5 \times 10^2$ gEq/mL. La valutazione dell'indice di JCPyV (anti-JCV index), valutato al basale (T0) e nell'arco dei 16 mesi dall'inizio del trattamento con Dimetil-fumarato (T1-T4) rimaneva costante in tutti i pazienti analizzati e con un valore di rischio medio ≤ 0.9 (anti-JCV index ≤ 0.9). L'anti-JCV-index, esaminato nell'unico paziente risultato positivo dopo 12 mesi di trattamento con Dimetil-fumarato (T3) nel plasma, ha evidenziato un aumento del livello di rischio da basso (anti-JCV index ≤ 0.9) ad intermedio ($0.9 < \text{JCV index} > 1.5$).

Al tempo T0, l'analisi della NCCR di JCPyV isolata dai campioni risultati positivi alla ricerca del DNA virale e appartenenti ai pazienti trattati con Natalizumab, Fingolimod e Dimetil-fumarato, ha mostrato un'organizzazione strutturale simile all'archetipo in tutti i campioni analizzati (urine, plasma e PBMC).

Durante il follow-up < 12 mesi (T1-T3), sono state identificate mutazioni puntiformi nel plasma di un paziente trattato con Natalizumab e risultato, ai tempi T0-T3, STRATIFY JCV®-negativo. Nello specifico la mutazione corrispondeva alla transizione nucleotidica 208A→G all'interno del box F, coinvolgente il sito di legame NF-1. Nei campioni di plasma e PBMC di due diversi pazienti trattati con Natalizumab e T0-T3 STRATIFY JCV®-negativo, l'analisi della sequenza NCCR mostrava in entrambi una trasversione 37T→G nel box B, corrispondente al sito di legame per il fattore di trascrizione cellulare Spi-B. Infine, una sequenza ottenuta dal plasma e dai PBMC, dell'unico paziente trattato con Natalizumab e T0-T3 STRATIFY JCV®-positivo, mostrava la transizione 217G→A nel box F.

L'analisi della NCCR isolata dai pazienti trattati con Fingolimod e Dimetil-fumarato durante il follow-up < 12 mesi (T1-T3), confermava un'organizzazione NCCR archetipa.

Nel caso dei pazienti trattati con Natalizumab, l'analisi della NCCR al tempo T4, riportava mutazioni puntiformi identiche a quelle osservate nel plasma e nei PBMC durante il primo anno di trattamento con Natalizumab, negli stessi pazienti. Sorprendentemente, il plasma del paziente T0-T3 STRATIFY JCV®-negativo, che riportava nella NCCR la trasversione 37T→G nel sito di legame Spi-B (box B), mostrava, dopo 16 infusioni di Natalizumab (T4), una NCCR caratterizzata da una duplicazione del sito di legame del fattore di trascrizione cellulare NF-1 (box F) e da un box D composto solo da 10 basi di 65 (nucleotidi da 117 a 126). L'analisi dei PBMC, appartenenti al paziente T0-T3 STRATIFY JCV®-negativo e con una trasversione 37T→G nel sito di legame Spi-B (box B), mostrava, dopo 16 mesi di trattamento (T4), una NCCR caratterizzata dalla duplicazione del box C e dalla delezione dei nucleotidi da 117 a 180, corrispondenti al box D. Questa delezione ha conferito la seguente organizzazione alla NCCR: A-B*-C-C-E-F.

I risultati dell'analisi della sequenza JCPyV VP1 evidenziavano che i genotipi 1A e 1B erano i genotipi circolanti tra i pazienti arruolati nello studio. Dopo 12 mesi di infusioni di Natalizumab, in due diversi pazienti STRATIFY JCV®-negativi al tempo T4, sono state osservate le mutazioni degli aminoacidi S269F nel plasma e S267L nei PBMC, che coinvolgevano la regione di legame

del recettore di VP1. In dettaglio, S267L corrispondeva al genotipo 1A mentre S269F era correlato al genotipo 2B.

Al tempo T4, l'analisi della NCCR isolata dal plasma del paziente trattato con Fingolimod confermava una struttura canonica della NCCR.

Il paziente trattato con Dimetil-fumarato per 12 mesi e positivo alla ricerca del DNA virale al tempo T3 nel plasma evidenziava, la trasversione nucleotidica T a G in posizione 37 nel box B, in corrispondenza del sito di legame Spi-B.

La regione codificante la VP1 evidenziava un'organizzazione prototipo senza alcuna mutazione sia nei pazienti trattati con Fingolimod che nei pazienti trattati con Dimetil-fumarato.

La quantificazione di 48 citochine/chemochine è stata eseguita al fine di valutarne il profilo di espressione in risposta al trattamento con Natalizumab, Fingolimod e Dimetil-fumarato ai tempi T0 (prima dell'inizio del trattamento) e T3 (12 mesi di trattamento).

Nei pazienti trattati con Natalizumab, alcune proteine, tra cui IL-2, IL-15, IL-1a, TNF- β e IFN- α , hanno mostrato una concentrazione inferiore alla rilevazione limite, pertanto, non sono state considerate nell'analisi dei risultati.

La concentrazione di alcune citochine/chemochine è risultata diminuita come nel caso dell'IL-7 e dell'IL-10.

I rapporti Th2/Th1 non hanno mostrato differenze nei punti temporali analizzati.

Dal tempo T0 al tempo T3, il trattamento con Fingolimod e Dimetil-fumarato, non ha modificato il profilo delle citochine nel sangue, sebbene sia stato osservato un aumento di alcune citochine pro-infiammatorie e antinfiammatorie (IFN- γ , IL-4, IL-10, IL-5 e IL-13).

I profili delle citochine dei pazienti con viruria JCPyV sono stati confrontati con quelli dei pazienti senza viruria JCPyV. Non sono state osservate differenze significative per le citochine considerate in nessun gruppo di pazienti arruolato.

LABORATORIO DI BRAIN CONNECTIVITY

Giovani Ricercatori

Prediction of conversion from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's disease based on TMS-EEG biomarkers

Il decadimento cognitivo lieve (MCI) descrive una condizione clinica in cui le funzioni cognitive non sono normali, ma l'entità della loro compromissione non soddisfa i criteri clinici per la demenza. Questa condizione è comune, ma anche critica poiché il tasso di progressione a demenza è significativamente più alto rispetto ai soggetti cognitivamente normali e può o meno sottendere i meccanismi patofisiologici della malattia di Alzheimer (AD). Utilizzando un innovativo strumento neurofisiologico, ovvero la co-registrazione TMS-EEG (Stimolazione Magnetica Transcranica - Elettroencefalografia), ed avendo già descritto le caratteristiche TMS-EEG dell'AD (Ferreri et al., 2016), gli obiettivi di questo studio sono:

Obiettivo 1: studiare l'eccitabilità, la connettività e la plasticità cerebrali in una coorte di soggetti MCI. Raccogliere un'ampia coorte di dati TMS-EEG, analizzandoli alla luce di quanto è stato già osservato in pazienti AD (Ferreri et al., 2016), con l'obiettivo di identificare un sottogruppo di soggetti sospetti di essere, alla prima osservazione neurofisiologica (T0), MCI dovuti ad AD, in base al loro specifico modello neurofisiologico.

Obiettivo 2: monitorare nel tempo i soggetti MCI attraverso successive valutazioni cliniche e neurofisiologiche per valutare se il pattern elettrofisiologico individuato in T0 possa predire o meno un peggioramento neuropsicologico e/o una conversione clinica in AD.

Obiettivo 3: seguire nel tempo le caratteristiche TMS-EEG dell'eccitabilità, connettività e plasticità cerebrali nei soggetti MCI arruolati per verificare se esiste una correlazione significativa tra profili

neurofisiologici e neuropsicologici, mirando a testare il potenziale di TMS-EEG per il monitoraggio di progressione della malattia.

Sono stati organizzati un incontro in presenza a Roma e diversi incontri periodici online tra le unità partecipanti al progetto con lo scopo di coordinare l'attività di ricerca, sia in termini di pianificazione delle attività che di analisi dei dati, che di pubblicazione degli stessi.

L'attività di ricerca -necessariamente rallentata in maniera significativa dalle concomitanze secondarie alla pandemia che ha avuto gravissime ripercussioni sul funzionamento degli ospedali pubblici come l'Azienda Ospedale Università di Padova- ha perseguito i seguenti risultati complessivi.

Attraverso una forte interazione tra le unità operative, sono stati analizzati i dati elettrofisiologici (TMS-EEG) e clinici di 17 soggetti affetti da Mild Cognitive Impairment di tipo amnestico e 15 soggetti anziani sani di controllo. Sono stati inoltre scritti diversi articoli scientifici.

Analizzando le caratteristiche dei segnali elettrofisiologici alla luce dei parametri clinici si è osservato che i soggetti MCI presentano una ridotta eccitabilità cerebrale rispetto ai soggetti anziani sani di controllo, nonché una diversa connettività della corteccia motoria stimolata ed all'interno di tale gruppo sono identificabili almeno due pattern di risposta elettrofisiologica TMS-EEG in termini di connettività cerebrale e stabilità del segnale (obiettivo sperimentale 1).

Questi dati sono ben promettenti per il prosieguo del progetto. In particolare, i soggetti verranno seguiti nel tempo per valutare, attraverso opportuni test, la loro conversione a demenza di Alzheimer.

Ogni singola Unità Operativa ha perseguito specifici risultati:

1) Clinica Neurologica, Azienda Ospedale Università di Padova

L'Unità Operativa 1 è responsabile dell'arruolamento dei soggetti, dell'esecuzione delle valutazioni cliniche preliminari e di follow-up e della somministrazione del protocollo elettrofisiologico.

L'Unità Operativa ha analizzato i dati clinici e pre-processato i dati elettrofisiologici (TMS-EEG) di 17 soggetti affetti da amnesic Mild Cognitive Impairment e 15 soggetti anziani sani di controllo. L'obiettivo è stato identificare, alla luce delle evidenze nei pazienti Alzheimer, l'esistenza di pattern diversi di risposte elettrofisiologiche TMS-EEG nel gruppo MCI rispetto al gruppo di controllo ed all'interno del gruppo di MCI.

Nella seguente Tabella 1 riassuntiva si riportano i **dati clinici e neuropsicofisiologici** delle popolazioni sperimentali di cui sopra:

Table 1. Demographic, clinical and neurophysiological characteristics of participants

	Controls (n=15)	aMCI (n=17)	aMCI vs. Controls
Age, y (mean ± SD)	67.5 ± 7.0	70.9 ± 5.6	p=0.12
Gender (F; M)	7; 8	7; 10	p=0.99
Education, y (mean ± SD)	9.0 ± 4.2	7.6 ± 3.7	p=0.31
MMSE baseline (mean ± SD)	29.7 ± 0.6	26.7 ± 1.7	p<0.01
RAVLT immediate recall (mean ± SD)	-	26.8 ± 4.8	-
RAVLT delayed recall (mean ± SD)	-	3.5 ± 2.0	-
Neuropsychological profile	-	7 aMCI-SD; 10 aMCI-MD	-
RMT, % (mean ± SD)	57.2 ± 5.3	58.6 ± 8.6	p=0.87
MEP amplitude, μV (mean ± SD)	579 ± 328	726 ± 548	p=0.11

aMCI: patients with amnesic Mild Cognitive Impairment; MMSE: Mini Mental State Examination score; RAVLT: Rey's Auditory Verbal Learning Test score; aMCI-SD: amnesic MCI single domain, i.e. deficit on at least 1 of the memory tests with no deficit in other domains; aMCI-MD: amnesic MCI multiple domains, i.e. at least 1 deficit in memory plus at least 1 additional deficit in another domain; RMT: resting motor threshold; MEP: motor evoked potential; SD: standard deviation; F: female; M: male; y: years.

Il pre-processamento dei segnali TMS-EEG ha permesso di identificare l'esistenza di una significativa ipoeccitabilità della corteccia motoria dei soggetti appartenenti al gruppo degli MCI rispetto ai soggetti di controllo, come rappresentato nella Figura 1, che riporta il Global Mean Field Power (GMFP), cioè la media tra tutti i canali EEG in risposta ad ogni singolo stimolo TMS. E' stato possibile osservare come la differente eccitabilità corticale nei due gruppi sia ristretta ad una specifica finestra temporale dopo lo stimolo TMS (30-90 ms) e che nella stessa finestra si possano osservare un numero diverso di picchi nei due gruppi sperimentali.

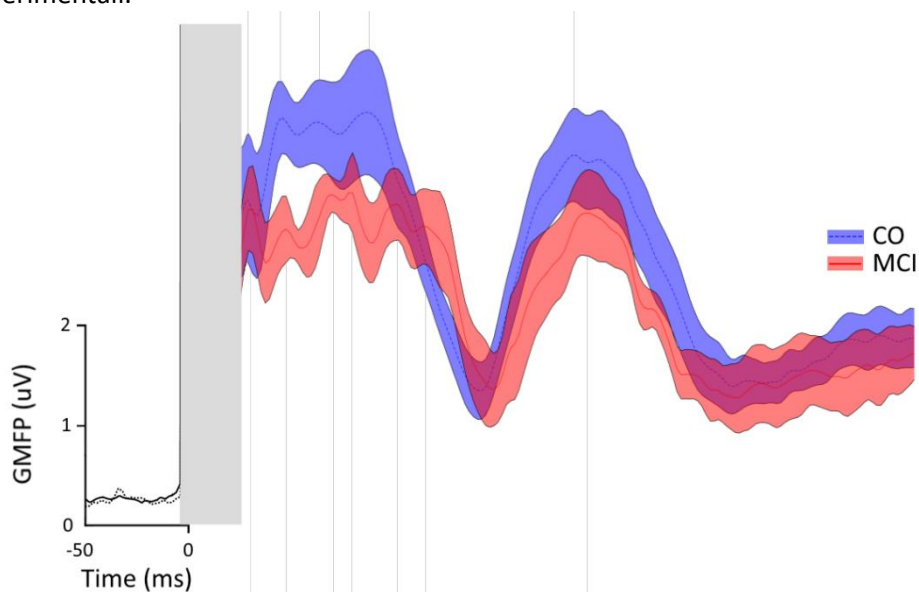


Figura 1: Global mean field power (GMFP), ossia la media tra tutti i canali EEG in risposta ad ogni singolo stimolo TMS e suo standard error, nei due gruppi sperimentali in esame.

È stato inoltre possibile identificare, come previsto (obiettivo 1), l'esistenza di almeno due pattern diversi di risposte elettrofisiologiche TMS-EEG in relazione alla stabilità del segnale evocato, come visualizzabile nella Figura 2.

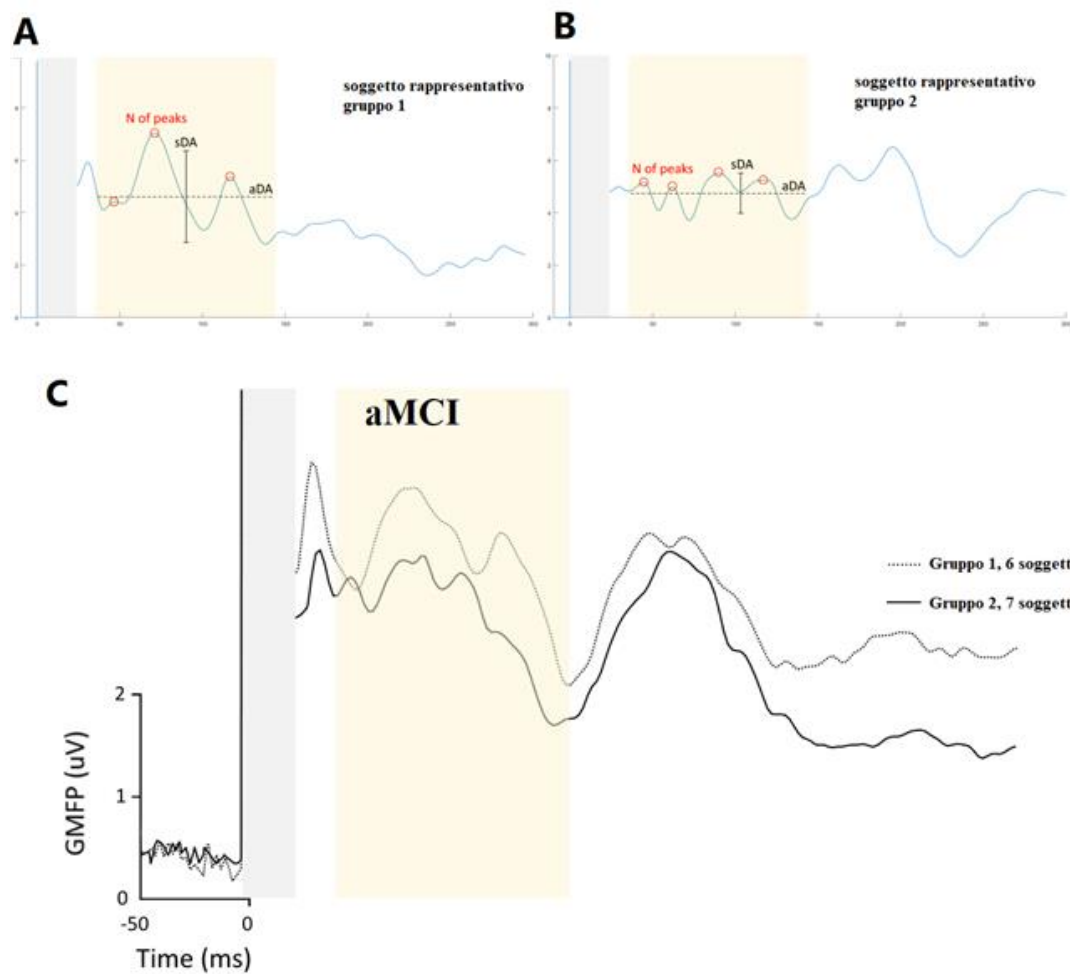


Figura 2: A e B mostrano i GMFP di due diversi soggetti MCI in cui si apprezzano una serie di differenze in termini di stabilità del segnale e numero di picchi. Il soggetto in A presenta un segnale TMS-EEG più ampio, meglio definito e caratterizzato da un ridotto numero di picchi che si stagliano chiaramente. Il soggetto in B presenta un segnale meno ampio e definito, con un numero di picchi maggiore. In C il GMFP medio degli MCI raggruppati in due sottogruppi sulla base della stabilità e del numero dei picchi del loro GMFP.

2 e 3) Brain Connectivity Laboratory, IRCCS San Raffaele e Fondazione Fatebenefratelli per la Ricerca e la formazione sanitaria e sociale, Divisione AFaR (Ricerca)

L'Unità Operativa 2 è responsabile delle analisi dei dati elettroencefalografici per lo studio della connettività funzionale attraverso avanzate tecniche di esplorazioni dell'architettura delle reti neurali basate anche sulla teoria dei grafi.

L'Unità Operativa 3 è responsabile delle analisi statistiche dei dati.

Grazie alla perfetta integrazione delle due unità 2 e 3 sono state effettuate le analisi avanzate dei segnali elettrofisiologici TMS-EEG e le analisi statistiche di questi e delle variabili neuropsicologiche disponibili, come da programma per tutti i soggetti a disposizione fino ad ora.

I risultati sono rappresentati nelle seguenti immagini.

In particolare, nella Figura 3 sono riportate le rappresentazioni allo scalpo e sulle sorgenti corticali (ottenute attraverso l'uso di software innovativi) delle attività cerebrali a determinate latenze (indicate in millisecondi nella immagine) a partire dallo stimolo TMS.

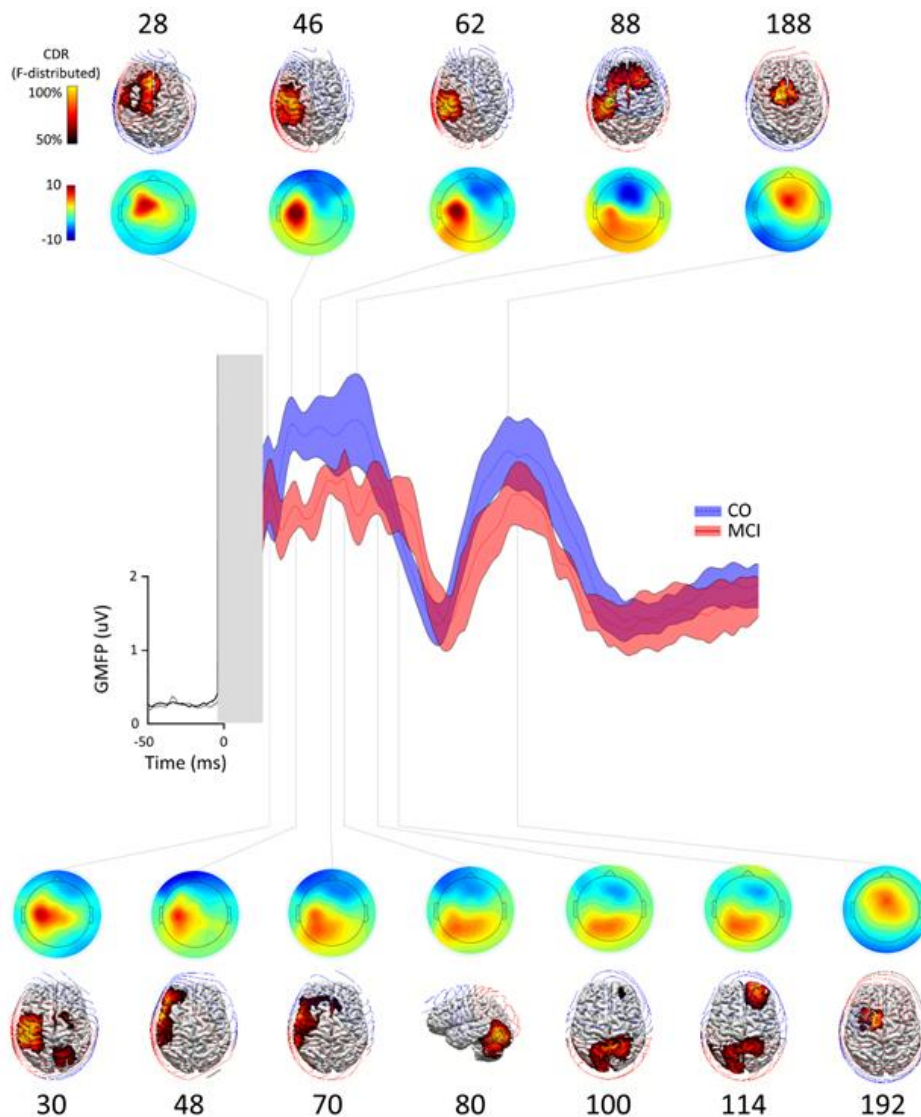


Figura 3: Mappe di distribuzione dell'attività elettrica sullo scalpo e localizzazione delle sorgenti del Global Mean Field Power (GMFP), ottenute con TMS su M1 sinistra nei soggetti di controllo (CO, linea blu \pm SE) e nei soggetti MCI (linea rossa \pm SE). Nei CO, la massima corrente (che riflette la massima attività neuronale) si sposta dall'area stimolata M1 alla corteccia ipsilaterale premotoria/prefrontale (28 ms), alla corteccia ipsilaterale sensori-motoria (46 ms), diventando più focalizzata sulla corteccia sensoriale (62 ms), diffondendo alle regioni premotorie bilaterali e aree prefrontali dorsali (88 ms), infine localizzando alla linea centrale mediana (188 ms). Nei soggetti MCI, la massima corrente a 30 ms dopo la stimolazione risulta ancora localizzata nella corteccia ipsilaterale motoria sensoriale, espandendo alla regione ipsilaterale premotoria e parietale, e nell'area motoria supplementare (SMA) e regioni contro laterali premotorie e parietali, per poi spostarsi alle regioni ipsilatero laterali sensori motorie e premotorie laterali e prefrontali (48 e 70 ms), alla giunzione ipsilaterale occipito-cerebrale, bilateralmente ai lobuli parietali superiori (100 ms), alla corteccia prefrontale contro laterale (114 ms) ed infine alla regione ipsilaterale premotoria/pre-SMA.

Infine, la Figura 4 rappresenta una prima analisi (sia osservazionale che statistica) di connettività fatta sui dati EEG nei soggetti sottoposti al protocollo TMS-EEG.

E' stato valutato un indice, l'Inter Trial Coherence, che permette di valutare la connettività sullo scalpo grazie alla valutazione delle variazioni tra i vari trial (cioè tra le singole stimolazioni TMS) in specifiche bande di frequenza. È stata considerata anche la variazione standardizzata dividendo la differenza tra MCI e CO per la deviazione standard massima osservata.

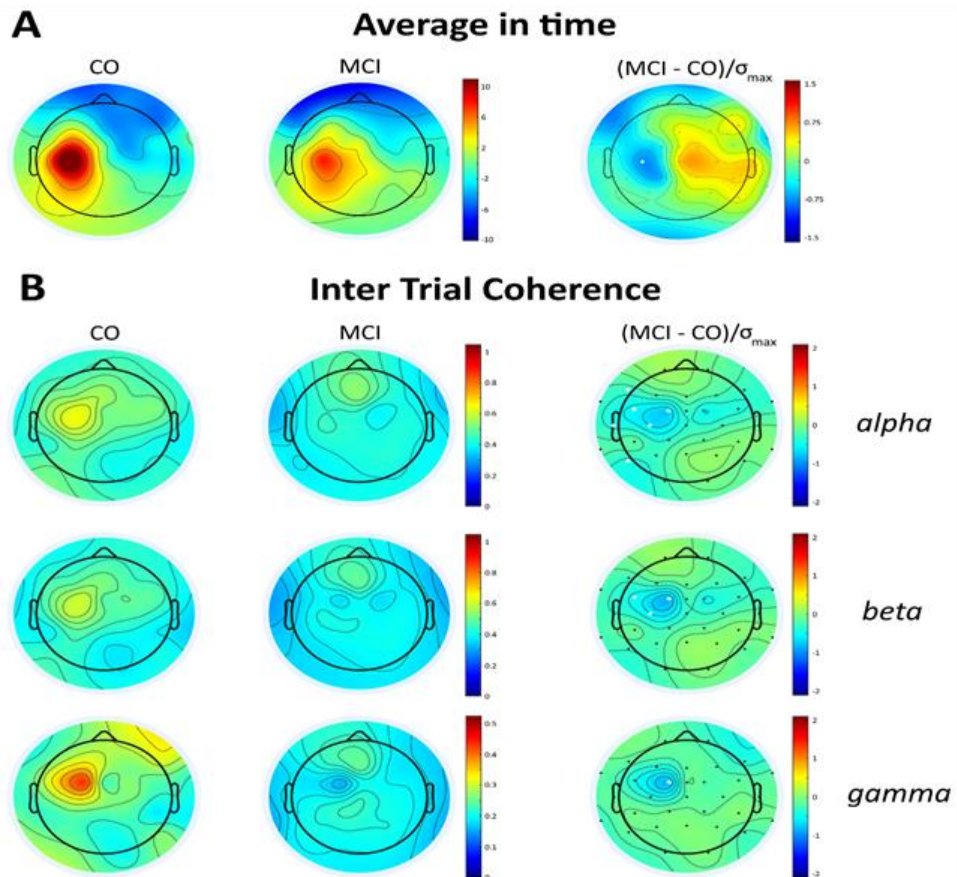


Figura 4: Mappe topografiche dell'attività media TMS evocata e intertrial coherence (ITC) nei soggetti di controllo ed MCI. (A) Distribuzione topografica della media delle risposte evocate nei soggetti di controllo (CO) e nei soggetti MCI nella finestra temporale 45–55 ms dopo TMS su M1 sinistra; il punto bianco rappresenta la posizione dello scalpo (C3) dove l'eccitabilità cerebrale risulta significativamente diminuita nei soggetti MCI. (B) ITC nelle bande alpha, beta e gamma nella finestra temporale 35–145 ms post-TMS nei CO e MCI e mappe di differenza (colonna a destra). Nelle mappe di differenza, i punti bianchi rappresentano la posizione dello scalpo dove ITC diminuisce significativamente nei soggetti MCI.

AREA DI RICERCA NEUROMOTORIA

Rete IRCCS delle Neuroscienze e della Neuroriabilitazione - RIN

Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale in pazienti neurologici: studio pilota multicentrico

L'incremento della popolazione anziana fragile, l'aumentata incidenza di condizioni cliniche croniche e le crescenti richieste di cure più personalizzate, richiedono nuovi approcci nell'erogazione dell'assistenza sanitaria. I Servizi Sanitari di numerosi Paesi chiedono una limitazione delle degenze ospedaliere per motivi clinici ed economici. Pertanto, i servizi sanitari territoriali hanno un ruolo sempre più preponderante nella gestione del paziente cronico. Tuttavia, tanti pazienti ancora non usufruiscono di un adeguato trattamento riabilitativo territoriale a causa degli eccessivi costi del trattamento domiciliare e delle difficoltà logistiche per raggiungere le sedi dei servizi ambulatoriali. In questo scenario, la Teleriabilitazione potrebbe aiutare a superare molte difficoltà, tramite l'erogazione di trattamenti riabilitativi domiciliari (senza lo spostamento di operatori o di pazienti) e potrebbe divenire la chiave operativa per garantire la continuità assistenziale ospedale-territorio con un equo accesso ai servizi di sanità territoriale. Obiettivo di questo progetto in rete 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.

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 Roma. 19) - Istituto Clinico Humanitas – IRCCS – Milano.

Nel 2021, l'attività svolta dall'IRCCS San Raffaele Roma per il progetto ha riguardato la conclusione del reclutamento, valutazione e trattamento dei pazienti con malattia di Parkinson e Ictus.

Tale studio proseguirà nel 2022 per un'analisi dell'efficacia della teleriabilitazione con serious game e tdc. I dati dalle persone con malattia di Parkinson sono in analisi e nel 2022 è prevista la sottomissione di una pubblicazione.

Progetto di Rete Teleriabilitazione domiciliare del paziente neurologico: valutazione di fattibilità ed efficacia. Fase III del progetto complessivo

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. 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 Roma. 19) - Istituto Clinico Humanitas – IRCCS – Milano.

Nel 2021, l'attività svolta dall'IRCCS San Raffaele Roma per il progetto ha riguardato la conclusione del progetto e l'analisi dei dati, in attesa di indicazioni da parte del coordinatore riguardo i prossimi passi da compiere.

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.

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.

Nel 2021 lo studio si è concluso: il sistema è stato messo a punto e collaudato.

Attività di ricerca in rete

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

La Rete composta da 18 IRCCS diffusi sul territorio nazionale si è dedicata allo sviluppo ed implementazione di un Network Italiano di Teleneuroriabilitazione per la continuità assistenziale del paziente neurologico. Tale progetto è basato su un innovativo sistema per la riabilitazione domiciliare con controllo remoto. Lo studio ha come obiettivo la valutazione della fattibilità e dell'efficacia di un sistema di teleriabilitazione domiciliare in differenti contesti territoriali su soggetti con le seguenti patologie neurologiche: Ictus, Malattia di Parkinson e Sclerosi multipla. Lo studio ha avuto inizio nel 2018 ed è stato approvato dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele il 13/06/2018 (cod: 20/18). Nel 2021, l'attività svolta dall'IRCCS San Raffaele Roma per il progetto ha riguardato il reclutamento, la valutazione ed il trattamento di

pazienti come da protocollo. Nel 2022 il progetto proseguirà con il trattamento di pazienti con sclerosi multipla in teleriabilitazione e tdcs.

Progetto spontaneo multicentrico “TREADSTROKE - Studio RCT (con randomizzazione per ogni centro) sull’efficacia dell’esercizio robotico su treadmill associato a riabilitazione convenzionale per il recupero del cammino negli esiti di stroke”

Gli obiettivi di questo studio Randomizzato Controllato (RCT) e multicentrico, che coinvolge 18 centri di riabilitazione italiani, sono: verificare l’efficacia del trattamento robotico end effector ed esoscheletro versus il trattamento riabilitativo convenzionale nel recupero del cammino dopo stroke; verificare la eventuale diversa efficacia dei sistemi end effector ed esoscheletro nei diversi quadri di disabilità post ictus. Lo studio ha avuto inizio nel 2017 ed è stato approvato dal Comitato Etico dell’IRCCS San Raffaele Roma il 17/01/2018 (cod: 19/17). Inoltre, è stato registrato al sito internazionale “clinicaltrials.com” con n° NCT03688165 - Unique Protocol ID: 01/2018. Ad oggi il numero totale dei soggetti (subacuti e cronici) reclutati da tutti i centri partecipanti allo studio è pari a 123. Nel 2021, l’attività svolta dall’IRCCS San Raffaele Roma per il progetto ha riguardato la raccolta dei dati anonimizzati nel rispetto della privacy sui pazienti reclutati da tutti i centri partecipanti, analisi statistica dei dati, l’interpretazione dei risultati ottenuti e la stesura del report finale come articolo scientifico per la disseminazione dei risultati da sottoporre sulle riviste impattate internazionali.

Progetto spontaneo multicentrico “ROBOTAS - Studio multicentrico osservazionale aperto di confronto fra dispositivi robotici (end-effector e esoscheletrici) per il recupero funzionale dell’arto superiore negli esiti di stroke”

Lo studio multicentrico, che coinvolge 18 centri di riabilitazione italiani, ha come obiettivo la valutazione comparata della terapia robotica utilizzando robot esoscheletrici e robot end-effector, che tipicamente sono impiegati in clinica. Lo studio riguarda sia pazienti post stroke subacuti che cronici e ha come obiettivo lo studio di come differenti tipologie di interazione tra robot e paziente possano influenzare l’efficacia della terapia robotica dell’arto superiore. Ad oggi il numero totale dei soggetti (subacuti e cronici) reclutati da tutti i centri partecipanti allo studio è pari a 105 pazienti. Nel 2021, l’attività svolta dall’IRCCS San Raffaele Roma per il progetto ha riguardato la raccolta dei dati anonimizzati nel rispetto della privacy sui pazienti reclutati da tutti i centri partecipanti, analisi statistica dei dati, l’interpretazione dei risultati ottenuti e la stesura del report finale pubblicato come articolo scientifico.

Progetto spontaneo multicentrico “Training riabilitativo con realtà virtuale semi-immersiva (Nirvana) in pazienti con artroprotesi di ginocchio: effetti clinici e funzionali”

Lo studio coinvolge i seguenti centri di ricerca italiani: IRCCS San Raffaele Roma (capofila); IRCCS LAM INRCA (Ancona); Azienda per l’Assistenza Sanitaria n.2 “Bassa Friulana - Isontina”, Gorizia; Nova Salus srl, Gorizia; ASST Centro Specialistico Ortopedico Gaetano Pini – CTO, Milano.

Obiettivo dello studio è l’analisi comparata tra pazienti che eseguono esercizi riabilitativi in terapia di gruppo tradizionale, in gruppo con realtà virtuale (idrochinesiterapia virtuale) e con esercizi in acqua (idrochinesiterapia) con lo scopo di dimostrare l’equivalenza e/o una eventuale superiorità di una tecnica rispetto all’altra. Obiettivo più generale è quello di evidenziare eventualmente se l’attività effettuata in realtà virtuale mimando gli esercizi in acqua possa produrre gli stessi effetti dell’idrochinesiterapia. I parametri presi in considerazione sono: aumento del rom articolare; aumento della forza muscolare; riduzione dell’edema peri-articolare e articolare; miglioramento della qualità di vita del paziente;

soddisfazione del paziente verso la terapia. Nel 2021, purtroppo, a seguito della pandemia da covid-19, l'attività riabilitativa di gruppo è stata sospesa.

Progetto spontaneo multicentrico "Studio multicentrico randomizzato e controllato sull'efficacia della riabilitazione dell'arto superiore con esoscheletro in pazienti con ictus subacute"

Lo studio coinvolge i seguenti centri di ricerca italiani: IRCCS San Raffaele Roma (capofila); Azienda Ospedaliero Universitaria Ospedali Riuniti, Foggia; Azienda Ospedaliero-Universitaria di Ferrara; Fondazione "Gli Angeli di Padre Pio", San Giovanni Rotondo (FG); 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. Lo studio è volto a 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 viene valutata in termini di miglioramento della performance motoria mediante il Fugl-Meyer Assessment Upper Limb (FM-UL) motoria. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Roma in data 24/03/2020 (codice: RP 20/08). Successivamente il protocollo di studio è stato registrato sul data-base internazionale di clinicalTRIALS.gov (id: NCT04697368). Nel 2021, l'attività svolta dall'IRCCS San Raffaele Roma per il progetto ha riguardato il reclutamento, la valutazione ed il trattamento di pazienti come da protocollo e riunioni organizzate in tele-conferenza con tutti i centri partecipanti per il coordinamento e il monitoraggio dello stato dello studio in ogni centro.

Tale studio proseguirà nel 2022 con il reclutamento di nuovi soggetti per raggiungere il sample size calcolato per il protocollo di studio. I dati raccolti dei pazienti reclutati presso tutti i centri partecipanti saranno raccolti ed analizzati. I risultati saranno interpretati e preparati per essere pubblicati.

Bando Conto Capitale 2016-2017

Tipologia C: Analisi avanzata dell'equilibrio e nuovi modelli teleriAbilitativi per l'ApreveNzione 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. Il progetto è coordinato dall'IRCCS Fondazione Ospedale San Camillo e vede la collaborazione in rete tra i seguenti IRCCS: IRCCS San Raffaele Roma; IRCCS ICS Maugeri Spa SB; IRCCS Fondazione Mondino e IRCCS Fondazione Santa Lucia.

Lo studio ha avuto inizio nel 2020 e l'attività sperimentale è proseguita nel 2021, seppur a rilento a causa della pandemia covid-19. Nel 2021, è stata avviata l'attività sperimentale di reclutamento, valutazione e trattamento di 3 soggetti con malattia di Parkinson, 5 con Sclerosi Multipla e 1 con Ictus. L'attività di ricerca proseguirà nel 2022 con il reclutamento di ulteriori pazienti.

Bando Conto capitale 2015

La riabilitazione con Realtà Virtuale Khymeia in pazienti con sostituzione totale di ginocchio: valutazione clinica e strumentale

Il deficit propriocettivo potrebbe rappresentare un fattore peggiorativo per quanto concerne la deambulazione dei pazienti con gonartrosi, anche dopo sostituzione protesica totale. Recenti studi sull'utilizzo della Realtà Virtuale (RV) in riabilitazione, mostrano la sua efficacia nel recupero delle abilità propriocettive, del controllo posturale e del cammino. Tuttavia, la letteratura è oggi carente di tali studi su pazienti con protesi totale di ginocchio (PTG).

La RV potrebbe intensificare un training propriocettivo e dell'equilibrio nei pazienti con la PTG comportando un miglioramento di gestione del cammino.

Lo studio si propone di:

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 RV 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 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.

È stato condotto un RCT 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 era 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 ($p \leq 0,05$). La durata della fase di

appoggio dell'arto operato ha rivelato differenze significative tra i gruppi ($p=0,022$): l'analisi post-hoc ha rivelato differenze all'interno del gruppo nel VRG ($p=0,002$) ma non nel CG ($p=0,834$). Nessuna differenza significativa tra i gruppi è stata registrata negli altri outcome. 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.

Call Horizon 2020 EUROBENCH (H2020-779963)

Progetto della FSTP-2

ExoSkeleton-assisted Community AmbuLAtion of healthy and sTroKе subjects (ESCALATE)

Circa il 74% dei sopravvissuti all'ictus cerebrale soffre di una disabilità nelle attività di vita quotidiana (ADL) [Miller et al., 2010]. Alla dimissione da un centro ospedaliero di neuroriabilitazione, l'indipendenza della persona nel muoversi a casa o in comunità può essere significativamente compromessa, inducendo depressione e bassa qualità della vita (QoL), con un importante impatto economico sul benessere e sulla società. Il cammino in comunità è un'attività complessa che può essere definita come "mobilità autonoma fuori casa, che include la capacità di affrontare con sicurezza terreni irregolari, strade private, strade rurali, centri commerciali e trasporti pubblici" [Perry et al., 1995]. Camminare all'aperto richiede non solo buone capacità di controllo motorio ma anche una buona capacità cognitiva in grado di adattare il controllo motorio a vari stimoli ambientali uditivi e visivi (es. il tipo di terreno, la presenza di ostacoli improvvisi, la capacità di gestire più attività contemporaneamente...). Per raggiungere un buon livello di QoL alla dimissione, i medici sono chiamati a pianificare un programma di riabilitazione appropriato e personalizzato che dovrebbe includere una terapia fisica intensiva [Pollock et al., 2014].

Gli esoscheletri indossabili overground (Wearable Powered Exoskeletons WPEs) consentono di eseguire terapia riabilitativa aggiuntiva, che porta a risultati positivi e tempi di recupero più brevi [Molteni et al., 2018]. Inoltre, alcuni WPE commerciali consentono ai pazienti di utilizzare il dispositivo non solo per la riabilitazione ma anche come tecnologia assistiva da impiegare in ambito comunitario o domiciliare [Raab et al., 2016]. Sebbene siano stati pubblicati studi recenti sulla riabilitazione del cammino assistita da WPE, con incoraggianti risultati preliminari [Goffredo et al., 2019], l'uso personale di WPE è stato raramente valutato in termini di prestazioni di deambulazione a casa e in comunità in diversi scenari di vita reale. Per questi motivi, sono necessari test sperimentali in condizioni di vita reale in un contesto di benchmarking standardizzato [Torricelli et al., 2020].

Lo studio ESCALATE ha come obiettivo la valutazione delle prestazioni di attività motorie in comunità assistite da WPE di soggetti sani e colpiti da ictus. Il WPE è testato in un ambiente di vita reale utilizzando gli strumenti e gli scenari di benchmarking definiti nei progetti EUROBENCH Call 1, con l'obiettivo di: studiare il cammino (con e senza WPE) su terreni irregolari e salite/discese; misurare l'assistenza delle stampelle durante l'andatura assistita da

WPE; e analizzare le capacità di manipolazione di oggetti in condizioni di stabilità posturale assistita da WPE.

Obiettivo secondario dello studio è caratterizzare l'esperienza dell'utente durante l'utilizzo del WPE in ambiente di vita reale.

Lo studio ESCALATE valuta l'uso di un WPE nella deambulazione in comunità: vengono reclutati soggetti sani e soggetti con ictus per valutare le prestazioni e la tollerabilità durante i movimenti assistiti dal WPE in scenari di vita reale. I risultati dello studio consentiranno di quantificare in che modo la soluzione robotica soddisfa le esigenze dell'utente, in termini di assistenza fornita, indicatori di prestazioni, sicurezza e accettabilità. Questi dati aiuteranno i medici, le associazioni di pazienti e la società a comprendere la fattibilità dell'uso di un WPE a casa e nella comunità.

La strutturazione del progetto e lo stretto collegamento fra clinica e bioingegneria permetteranno di ottimizzare la valutazione dei soggetti e quindi la trasferibilità dei risultati nell'ambito clinico e socioeconomico. L'inclusione dei soggetti nel presente studio clinico può fornire benefici in termini di una più accurata gestione del trattamento riabilitativo. Non sono previsti rischi noti per i soggetti che parteciperanno allo studio.

Sono reclutati 8 soggetti (5 sani; 3 ictus) se soddisfano i seguenti criteri:

- Criteri di inclusione: età compresa tra 18 e 80 anni; misure antropometriche adatte per l'utilizzo del WPE (altezza tra 155-195 cm; peso \leq 113 kg; larghezza dell'anca \leq 46 cm).
- Criteri di esclusione: contratture articolari persistenti; lesioni ortopediche; dolore; osteoporosi grave; problemi dermatologici; gravidanza.

Inoltre, i soggetti con ictus devono soddisfare questi criteri aggiuntivi:

- Criteri di inclusione dell'ictus: distanza dall'evento acuto \geq 2 mesi; Classificazione della deambulazione funzionale (Functional Ambulation Classification - FAC \geq 2); Modified Ashworth Scale di ciascun muscolo \leq 2; capacità di mantenere una posizione eretta per almeno 60 secondi; condizioni cardiovascolari e respiratorie stabili; capacità di dare il consenso scritto e rispettare le procedure dello studio.
- Criteri di esclusione dell'ictus: deficit cognitivi o linguistici gravi (incapacità di comprendere e rispettare le procedure dello studio).

Lo studio ha una durata di 9 mesi e si svolge presso gli ambienti interni ed esterni dell'IRCCS San Raffaele Roma, che è equipaggiata del WPE oggetto dello studio (Indego Therapy® - Parker Hannifin Corp., Cleveland, OH, US), e della strumentazione necessaria per la valutazione biomeccanica dei task motori: sistema inerziale per l'analisi del movimento Movit G1-3D (Captiks, Italia); sistema stereofotogrammetrico per l'analisi del movimento BTS SMART DX (BTS Bioengineering, Italy). Il reclutamento dei soggetti, l'acquisizione e l'elaborazione dei dati avviene presso l'IRCCS San Raffaele Roma.

L'attività del 2021 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. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico. Nel 2021, due soggetti hanno completato la valutazione prevista dallo studio. Non si sono verificati eventi avversi. L'attività per il 2022 riguarderà il completamento dello studio in termini di reclutamento dei soggetti e di acquisizione ed elaborazione dei dati.

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 saranno 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, 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.

Lo studio si prefigge 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 misureranno la spasticità e l'ipertono (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 verranno valutate le correlazioni tra misure biomeccaniche e cliniche per validare la capacità di valutazione funzionale attraverso i sensori aptici integrati nel robot riabilitativo.

NET4HEALTH - NETWORK for HEALTH management

*Ministero dello Sviluppo Economico (MISE) - Direzione Generale per gli Incentivi alle Imprese;
Divisione VII – Interventi per ricerca e sviluppo F/050383/01-03/X32*

Il progetto si è concluso positivamente il 3 luglio 2021. Nella fase conclusiva del progetto, è stata effettuata una estrazione dati mediante tecniche di natural language processing (NLP) al fine di arricchire il contesto informativo contenuto nei campi di testo dei diari clinici dei pazienti arruolati nello studio. L'analisi, effettuata su un totale di 287 cartelle cliniche di pazienti ricoverati presso gli Hospice residenziale e domiciliare del gruppo San Raffaele, ha consentito di identificare entità e concetti utili alla classificazione dei pazienti, ad analisi statistiche e all'information fusion clinico, con un impatto tecnologico innovativo legato all'implementazione delle metodologie e strumenti di data management. In particolare, è stata implementata una pipeline semantica atta alla comprensione e alla disambiguazione del testo, calata nel dominio clinico. La componente principale della soluzione prescelta – composta, tra l'altro, dalla lemmatizzazione, tokenizzazione ed eliminazione delle stopwords – è stata basata su un modello di apprendimento automatico addestrato per l'estrazione dal testo non strutturato delle cartelle di entità nominali cliniche (NER – Named Entity Recognition) di varia natura: malattie, sintomi, medicinali, posologie, dati sensibili. A scopo esemplificativo, si cita la valutazione dell'impatto di tali tecniche di estrazione dati in uno "use case" condotto per definire un modello panel fixed effects per individuare l'effetto delle terapie di nutrizione artificiale sul livello dello stato di salute dei pazienti ricoverati presso gli Hospice San Raffaele. A tale scopo, è stata avviata un'estrazione delle informazioni sulla nutrizione artificiale enterale o parenterale (dato contenuto in forma testuale nel diario clinico) e la loro correlazione con l'indice di Karnofsky (una scala numerica di performance clinica indicativa dello stato di salute del paziente) il cui dato strutturato è presente in una sezione dedicata nella cartella clinica. I risultati ottenuti hanno confermato la possibilità: a) di estrarre – mediante le tecniche sopra riportate – dati testuali dal diario clinico delle cartelle Hospice e b) di mettere in correlazione la somministrazione di varie tipologie di nutrizione artificiale con l'indice di Karnofsky. Tale risultato è stato successivamente confermato in differenti "use cases" condotti sulla valutazione dello stato di ansia/depressione in relazione alla terapia farmacologica specifica, che sono stati oggetto di una pubblicazione scientifica attualmente in fase di sottomissione. Infine, a completamento del progetto, sono stati effettuati i test di funzionalità per la validazione tecnico/scientifica del prototipo della piattaforma oloHEALTH-NET4HEALTH frutto delle attività condotte nel corso del progetto. Il software eredita la configurazione della versione precedentemente installata presso gli Hospice del San Raffaele, che accoglieva tutte le personalizzazioni maturate nel corso degli anni, integrata con gli avanzamenti tecnologici raggiunti nel corso del progetto. Sul fronte della interoperabilità, il software è integrato con la piattaforma NET4HEALTH territoriale, sviluppata da BV-TECH ed è in grado di far transitare i dati di cura registrati presso gli HOSPICE verso la piattaforma informatica territoriale e viceversa, e di aggiornarsi con eventuali nuovi dati provenienti dal territorio. La collaborazione tra San Raffaele, Olomedia e l'Unità Operativa di Oncologia Medica dell'Università di Roma Tor Vergata ha prodotto inoltre specifiche funzionalità relative ai PDTA/PAI che sono diventate patrimonio del software.

H2020-SC1-2019-Two-Stage-RTD

REVERT – taRgeted thErapy for adVanced colorEctal canceR paTients

Topic: SC1-BHC-02-2019 – Systems approaches for the discovery of combinatorial therapies for complex disorders – GRANT AGREEMENT n. 848098 — Directorate-General for Research and Innovation People Healthy Lives

Durante il periodo in esame, che ha risentito pesantemente della situazione pandemica in tutta Europa, il Coordinatore – con il contributo dell'Assemblea Generale e del Consiglio Direttivo – ha avuto il compito di vigilare sulla continuità delle attività del progetto e di rilevare eventuali ritardi imputabili all'epidemia di COVID-19. È stata realizzata l'infrastruttura virtuale del DataBase REVERT (RDB) secondo i principi di Privacy-by-Design e Privacy-by-Default, che ha visto la partecipazione di tutti i partner attraverso l'inserimento delle informazioni cliniche, istologiche e molecolari e che ha fornito una prima base per gli esperti ICT per la ricerca di modelli predittivi basati sull'apprendimento automatico. Attualmente sono stati implementati sei algoritmi [Naive Bayes Classifier, Random Forest Classifier, Decision Tree Classifier, Gradient Boosted Trees, Logistic Regression and Support Vector Machines (SVM)]. I risultati migliori sono stati ottenuti con il Naive Bayes Classifier. Inoltre, il partner UCAM ha sviluppato un codice basato principalmente su TensorFlow e Scikit-learn in grado di utilizzare molti dei modelli ML sopra menzionati. Per quanto riguarda lo studio retrospettivo, nel periodo di rendicontazione sono state svolte diverse attività in linea con i compiti programmati. In particolare, i partner sono progrediti nell'identificazione di alterazioni dei geni coinvolti nel cancro del colon-retto (CRC) e nella valutazione dell'effetto dei loro livelli di espressione sulla sopravvivenza globale. Nel complesso, i risultati ottenuti hanno dimostrato che i geni identificati hanno il potenziale per essere utilizzati come biomarcatori per programmi di apprendimento automatico di intelligenza artificiale (IA) per la costruzione di modelli predittivi, come ipotizzato nella proposta di progetto REVERT. Attualmente, è stato implementato un protocollo per esplorare biomarcatori innovativi per il CRC utilizzando il sequenziamento di nuova generazione (Next generation sequencing, NGS) e un profilo preliminare del trascrittoma MACE-Seq (Massive Analysis of cDNA Ends). Infine, è stato messo a punto il protocollo per la creazione di organoidi derivati da pazienti con CRC. Nel corso del progetto REVERT, sono state pubblicate in totale 6 pubblicazioni su riviste open access.

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 Campania BIOCAM SCARL.

Il progetto RARE.PLAT.NET ha visto 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 20387:2019 “"Biobanking" - Requisiti generali per il "biobanking". Tale norma 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 assicurare la riproducibilità e la comparabilità dei risultati della

ricerca. Nel corso delle attività è stato sviluppato e validato un sistema software per la verifica e il controllo dell'implementazione delle procedure innovative di certificazione dei servizi e delle competenze codificate sulla base di requisiti: i) generali, ii) strutturali, iii) relativi alle risorse, iv) di processo, v) del sistema di gestione per la qualità. L'applicazione, validata presso la BioBIM, consente di:

- verificare i requisiti da soddisfare, mediante checklist dettagliate con i passaggi da completare per la certificazione
- segnalare tutti i passaggi ancora mancanti (gap analysis)
- utilizzare un workflow che organizzi la sequenza delle operazioni da eseguire
- disporre di un repository contenente tutti i dati e i documenti necessari alla certificazione (realizzati o in corso di realizzazione), come ad esempio le procedure operative, i manuali, o i moduli utilizzati per le varie attività della biobanca.

The screenshot displays the RAREPLATNET web application interface. At the top, the user is identified as 'MARIO ROSSI' (RUOLO: Operatore) from 'UNITA': Biobim - Amministrazione. The main navigation bar includes 'HOME', 'CHECK LIST', 'ADEMPIMENTI VERSO TERZI', 'CONFIGURAZIONI', 'ITALIANO', and 'ACCOUNT'. The central content area, titled 'DETTAGLIO', shows accreditation details for 'Ente Accreditante/Certificatore: Accredia' and 'Norma di riferimento: UNI ISO 20387 "Biobanking - Requisiti generali per il biobanking"'. It also lists 'Data inizio validità: 28 Febbraio 2019', 'Data fine validità: 17 Dicembre 2020', and 'Data Sorveglianza:'. Below this, a 'STATO COMPILAZIONE' section features a progress bar with five categories: 4. REQUISITI GENERALI (green), 5. REQUISITI STRUTTURALI (yellow), 6. REQUISITI RELATIVI ALLE RISORSE (yellow), 7. REQUISITI DEL PROCESSO (green), and 8. REQUISITI DEL SISTEMA DI GESTIONE PER LA QUALITA' (red). A blue 'Indietro' button is located at the bottom left of the detail view. The footer contains the Neatec logo and project information: 'RAREPLATNET | Project by Neatec S.p.A.' and 'Progetto finanziato | POR FESR 2014-2020' with logos for FESR, the European Union, and the Italian Government.

Il progetto è stato positivamente concluso nel dicembre 2021.

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"

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 Roma per lo svolgimento di attività sperimentali tramite la Biobanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM).

Il progetto ha come obiettivo principale lo studio della capacità di alcune sostanze nutraceutiche (tra cui baicalina e curcumina) di ridurre la severità dell'infiammazione cronica e

migliorare lo stato antiossidante attraverso la valutazione dell'inibizione del fattore di trascrizione NF-kB. In tale contesto, si deve sottolineare l'importanza della BioBIM che, durante l'intera durata del progetto garantirà 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.

Le attività svolte dalla BioBIM nell'ambito del progetto NUVACAL hanno, tuttavia, riguardato non solo la fornitura di campioni biologici, ma anche lo studio sperimentale delle qualità nutraceutiche di tali sostanze. In questa fase iniziale, sono state analizzate le proprietà probiotiche di un estratto di foglie di Orobanche crenata (OCLE), una pianta parassitaria commestibile, nota nella medicina popolare per i suoi numerosi effetti benefici sulla salute umana. Sulla base dei promettenti risultati ottenuti in precedenza, abbiamo deciso di utilizzare questa specie nota per la messa a punto delle condizioni sperimentali da utilizzare negli studi specifici. In particolare, abbiamo testato la possibile azione riepitelizzante di OCLE su cellule dell'epitelio pigmentato retinico (ARPE-19) infettate da Candida, e la sua associazione con il contenuto totale di fenoli e il profilo fitochimico. I risultati ottenuti sono stati oggetto di pubblicazione sulla rivista Open Access Antibiotics.

AREA DI RICERCA RIABILITAZIONE CARDIOVASCOLARE, TELEMEDICINA, E-HEALTH

Conto capitale

Piattaforma sperimentale e clinico-sanitaria per la prevenzione, diagnosi e cura dello scompenso cardiaco nell'ambito del progetto di rete dal titolo: "Studio di fattibilità, sicurezza ed efficacia di un programma di riabilitazione mediante esercizio fisico telemonitorato a domicilio, in pazienti anziani già sottoposti a chirurgia cardiaca, con scompenso cardiaco".

I membri del Consiglio Direttivo ITAHFA hanno avuto degli incontri con rappresentanti delle industrie farmaceutiche e di dispositivi medicali e diagnostici. Alla luce della crescente prevalenza di scompenso cardiaco e dell'insufficiente preparazione dei pazienti, delle loro famiglie e di coloro che li assistono, la discussione si è incentrata sull'importanza di fornire un strumento facilmente disponibile che dia informazioni user-friendly. La proposta emersa concerne lo sviluppo di una piattaforma web che dia informazioni su come vivere e gestire lo scompenso cardiaco con un linguaggio semplice, facilmente comprensibile e corredato da ausili audiovisivi. Considerando la complessa natura dello scompenso cardiaco con le sue diverse cause insieme alla varietà di stili di vita e di cure possibili, è sembrato logico utilizzare Internet per la diffusione delle informazioni. La sfida è quella di creare e diffondere una piattaforma web user-friendly indirizzata ad una vasta ed eterogenea popolazione che in genere ha poca dimestichezza con Internet.

Lo studio intende fornire un valido e utile mezzo di informazione e supporto per le persone che convivono con lo scompenso cardiaco, i propri familiari, il personale sanitario e tutto il pubblico interessato.

Un gruppo composto da cardiologi specializzati in Scompenso Cardiaco (SC), medici di base, infermieri specializzati in SC, pazienti con SC, farmacisti e persone provenienti da tutta Italia si è costituito per sviluppare i contenuti ed il design della piattaforma. È stato scelto un URL (Uniform Resource Locator) denominato UNIVERSO SCOMPENSO (US). ITAHFA ha finanziato il progetto insieme ad alcune aziende sponsor. Inoltre per la creazione del sito è stata selezionata un'agenzia professionale specializzata nella costruzione di siti web di educazione sanitaria da affiancare al gruppo ITAHFA.

Le principali informazioni presenti nella piattaforma UNIVERSO SCOMPENSO riguardano indicazioni pratiche sul processo fisiopatologico, diagnosi, stili di vita, cura della persona, farmaci e dispositivi. Tali informazioni vengono fornite con un linguaggio semplice, facilmente comprensibile e sono articolate in diversi format (ad es. testo, animazioni, filmati, strumenti scaricabili) che mirano a soddisfare le preferenze degli utenti.

La homepage presenta informazioni di carattere generale sullo SC e l'avatar del paziente guiderà verbalmente ciascun utente nell'uso della piattaforma. Ogni sottopagina fornisce una ulteriore suddivisione in altre pagine con maggiori dettagli su ciascun argomento. E' previsto un pulsante virtuale per gli "strumenti utili" come una versione stampabile della "monitoring chart" (per registrare il peso corporeo, la pressione arteriosa e la terapia corrente). Inoltre sono presenti animazioni originali in formato video o testo che spieghino lo SC ai pazienti, ai loro familiari ed ai caregivers.

Sono inoltre previste nell' homepage due funzionalità:

- 1) un sondaggio per raccogliere le opinioni degli utenti della piattaforma UNIVERSO SCOMPENSO su un determinato argomento (che cambia ogni mese);
- 2) un invito a collegarsi ad una pagina FB, per condividere esperienze personali con altri pazienti, familiari e caregivers.

Sono inoltre rese disponibili applicazioni scaricabili (app) dedicate all'automonitoraggio e alla gestione del proprio stato di salute. In particolare i valori dei parametri vitali (frequenza cardiaca, pressione arteriosa, temperatura e peso corporeo, saturazione di O₂), ma anche programmi dedicati al riallenamento, allo sforzo attraverso esercizi calistenici o sedute al ciclo ergometro, tapis roulant/walking/swimming.

La piattaforma può inoltre fornire un sistema di gestione personalizzata della terapia del paziente con applicazione facilmente utilizzabile su qualsiasi smartphone, con lo scopo di migliorare la aderenza al trattamento farmacologico del paziente.

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 riabilitativi 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 comorbidità.
- 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. Test, in un gruppo pilota, della possibile efficacia del suddetto approccio in confronto al tradizionale;
5. Quantificazione delle 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 determinano alterazioni funzionali dell'AT e favoriscono lo sviluppo di obesità e patologie ad essa correlate. A questo scopo si effettua un'analisi di fattori coinvolti nello sviluppo di infiammazione, ipossia, attivazione della lipolisi e della termogenesi nell'AT. Viene valutata 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 prone a sviluppare obesità e steatoepatite non alcolica. In particolare, delle cinque unità di ricerca partecipanti al progetto, l'unità coordinata dell'Università telematica San Raffaele Roma, analizzerà 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.

Obiettivi dello studio:

Aim 1: i ricercatori analizzano il ruolo di MR nel regolare infiammazione e ipossia nell'AT di topi WT maschi a cui viene somministrata dieta obesogena contenente l'antagonista di MR Spironolattone. Si analizza 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-κB e l'espressione di adipochine infiammatorie nell'AT.

E' inoltre analizzata l'espressione della lipase ATGL, nota per regolare la lipolisi e l'infiammazione locale nell'AT.

Aim 2: l'espressione di HIF-1, VEGF, NF-κB, 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 dal laboratorio hanno mostrato che il trattamento con CORT118335 è efficace nel contrastare lo sviluppo di obesità e insulino-resistenza. Queste analisi mostrano 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.

Aim 3: è 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 chiariranno il contributo di MR nei macrofagi all' infiammazione e all' ipossia dell'AT.

Precedenti studi preclinici effettuati dal laboratorio di endocrinologia cardiovascolare 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-κB, FOXO1 e ATGL (coinvolti in "pathway" correlate a infiammazione e ipossia) nell'AT dei topi trattati con Spironolattone o CORT118335. Analogamente i ricercatori si aspettano di osservare una ridotta espressione di marker infiammatori e di ipossia nell'AT dei topi KO per MR specifico del macrofago.

Nello studio sono stati utilizzati topi maschi WT sottoposti a dieta obesogena (HFD) e trattati in parallelo con antagonisti del recettore mineralcorticoidi di (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 immunistochemical per analizzare la morfologia del tessuto (presenza di grasso ectopico) e la localizzazione di specifiche proteine.

L'obiettivo della ricerca della unità operativa è di analizzare in particolare il ruolo di MR nella regolazione della funzione dell'adiposa 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 Atglistatin, 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) esprimenti 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 attivi 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

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'emicrania. 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 α , PPAR γ e COX2, la riduzione della traslocazione nucleare di NF κ 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'emicrania. Considerando inoltre l'effetto negativo dell'obesità sull'emicrania, un regime dietetico che preveda un basso introito calorico giornaliero, può dimostrarsi utile sia nel controllo del peso corporeo che nel miglioramento dell'emicrania. In particolare potrebbe ridurre la frequenza degli eventi emicranici grazie alla restrizione calorica e alla chetosi metabolica controllata. Lo scopo dello studio è valutare l'impatto di uno schema nutrizionale VLCKD rispetto ad una dieta bilanciata ipocalorica non chetogenica (HBD), sull'andamento dell'emicrania 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 a un'augmentata produzione energetica.

In questo studio randomizzato controllato si intende investigare come influisca il regime alimentare della VLCKD rispetto alla dieta di controllo, sull'andamento dell'emicrania ad alta frequenza nei pazienti arruolati, valutando primariamente la variazione del numero dei giorni di emicrania e della durata degli attacchi (espressa in ore)

Si valuteranno 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.

Primary outcome:

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.

Secondary outcomes:

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 sarà 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 saranno 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, Roma sono stati arruolati 57 soggetti con i 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 verranno randomizzati in due gruppi paralleli che riceveranno per 3 mesi due regimi dietetici differenti: lo schema nutrizionale VLCKD o la la dieta ipocalorica bilanciata non chetogenica HBD con pasti convenzionali.

Lo schema nutrizionale per la terapia chetogenica controllata sarà diviso nei tre step seguenti:

1° step: VLCKD della durata di 4 settimane in cui verranno 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 verranno assunti un pasto proteico convenzionale, 3 prodotti masticabili ed un prodotto liofilizzato. 2b) in cui verranno 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 sono sottoposti ad esami ematici per la valutazione della funzionalità renale ed epatica, il quadro metabolico, elettrolitico, ormonale ed immunofenotipico.

Presso gli ambulatori dell'IRCCS San Raffaele, Roma sono stati arruolati 57 pazienti che hanno concluso il clinical trial.

Effetti della dieta chetogenica sullo sviluppo di aterosclerosi in topi Knockout per l'apolipoproteina E

L'obesità è una malattia cronica multifattoriale caratterizzata da un accumulo di grasso viscerale e sottocutaneo, che determina una predisposizione alle malattie cardiometaboliche. Si ritiene che molteplici meccanismi, tra cui anomalie nel metabolismo dei lipidi, insulino-resistenza, infiammazione, disfunzione endoteliale, squilibrio nella secrezione di adipochine e

attivazione dell'inflammasoma, siano alla base della relazione tra obesità e aterosclerosi. L'aterosclerosi è la principale causa alla base delle malattie cardiovascolari (CVD). L'aterosclerosi rappresenta una delle principali cause di mortalità e morbilità a livello mondiale ed è caratterizzata da uno stato infiammatorio cronico in cui i vasi sanguigni sono infiltrati da lipidi e leucociti che determinano la formazione di placche aterosclerotiche. La maggior parte degli eventi cardiaci acuti è associata a eventi trombotici dovuti alla rottura della placca. Comprendere come i nutrienti possano influenzare la funzione cellulare, il metabolismo e lo stato di salute generale in un modello animale, fornisce una base scientifica rigorosa per identificare un approccio dietetico che potrebbe ridurre e possibilmente aiutare a far regredire la CVD contribuendo al mantenimento di un corretto e salutare stile di vita. I modelli animali di CVD, comprese le malattie cardiache e aterotrombotiche, forniscono importanti informazioni sulla progressione e fisiopatologia delle CVD e sono diventati strumenti essenziali per valutare nuove strategie terapeutiche, per prevedere o prevenire le complicanze. Sebbene abbiano dei limiti, i topi con modificazioni genetiche che esacerbano i fenotipi CVD indotti dalla dieta, sono la scelta più comune per simulare la malattia umana. I topi mancanti di apolipoproteina E (ApoE^{-/-}) sviluppano lesioni in qualsiasi stadio dell'aterosclerosi e sono paragonabili a quelle che si osservano nell'uomo. Generalmente, i topi ApoE^{-/-}, sviluppano spontaneamente l'aterosclerosi e questo processo è accelerato con una dieta aterogena (ricca di grassi e colesterolo). La severità dell'aterosclerosi può essere valutata a livello delle arterie carotide, polmonare, femorale e brachiocefalica e anche della radice aortica. In particolare, la radice aortica rappresenta un sito anatomico soggetto a sviluppare lesioni aterosclerotiche nei topi. Per questo motivo è prassi comune valutare la formazione di placche aterosclerotiche in questa regione. Diversi studi hanno dimostrato che l'aldosterone (aldo), il ligando naturale del recettore dei mineralcorticoidi (MR), è implicato nello sviluppo dell'aterosclerosi. Studi effettuati nel nostro laboratorio hanno dimostrato che l'infusione di aldosterone in topi ApoE^{-/-} alimentati con una dieta aterogena, accelera lo sviluppo di lesioni aterosclerotiche della radice aortica inducendo la formazione di placche infiammate e ricche di lipidi.

Nell'uomo, la composizione dei regimi dietetici, l'apporto calorico e i modelli di alimentazione, sono da considerarsi tra i principali fattori che influenzano l'invecchiamento e le malattie croniche. Le scelte nutrizionali da sole, o in combinazione con altri fattori legati allo stile di vita, possono influire sul rischio di sviluppare CVD, in parte, influenzando l'infiammazione cronica di basso grado legata alla salute cardiovascolare. Il consumo di un basso contenuto di grassi saturi e ad alto contenuto di grassi insaturi, ad esempio, determina una minore incidenza di CVD. Negli ultimi anni l'attenzione si è puntata il dito sui carboidrati come corresponsabili nell'insorgenza di CVD e altre malattie metaboliche. Infatti, un elevato consumo di carboidrati insieme a regimi alimentari ad alto indice glicemico o carico glicemico è costantemente associato ad un alto rischio di CVD. Sulla base di queste evidenze, gli interventi dietetici si stanno affermando come terapie potenzialmente efficaci nei confronti dell'insorgenza di alcune malattie cardiovascolari. Il potenziale vantaggio delle terapie nutrizionali risiede nel fatto che sono in grado di ridurre l'infiammazione e il danno ossidativo e potenzialmente anche ridurre il rischio di sviluppare malattie cardiovascolari. Le diete a basso contenuto di carboidrati, comprese le diete chetogeniche (KD), che sono definite da un basso o molto basso di carboidrati (di solito <50 g/giorno), vengono adottate allo scopo di revertire i disturbi metabolici e potenzialmente anche l'insorgenza delle malattie cardiovascolari. In seguito al costante aumento dei tassi di obesità a livello mondiale, le diete chetogeniche a bassissimo contenuto calorico (VLCKD) sono diventate molto popolari. I moderni piani VLCKD forniscono un pasto sostitutivo nutrizionalmente equilibrato. Un'importante restrizione calorica porta a rapide riduzioni del grasso epatico, determinate dalla lipolisi epatica e dalla riduzione della deposizione ectopica di trigliceridi. Ciò consente una più efficiente ossidazione degli acidi grassi

(FA) e una migliore sensibilità all'insulina a breve termine. A medio termine, le VLCKD possono ridurre il grasso pancreatico e aumentare la secrezione di insulina, oltre a migliorare la sensibilità all'insulina del muscolo scheletrico. La migliore sensibilità all'insulina combinata alla perdita di peso, dovrebbe apportare benefici al sistema cardiovascolare. Nell'uomo, le terapie a base di KD sono efficaci nell'indurre la perdita di peso (media $\leq 5\%$ del peso corporeo a 6 mesi). Il principio alla base delle KD è rappresentato dall'esaurimento delle riserve di glicogeno e dall'attivazione dell'utilizzo degli acidi grassi per produrre corpi chetonici come fonti di energia. Gli effetti delle diete chetogeniche sulla funzione miocardica e vascolare non sono ancora stati evidenziati.

L'ipotesi del progetto è che la KD possa proteggere dallo sviluppo dell'aterosclerosi attraverso l'azione dei corpi chetonici sul sistema cardiovascolare, in termini di ridotta formazione di placca aterosclerotica, effetto antinfiammatorio all'interno della placca. Che possa ridurre la proliferazione delle cellule muscolari lisce e migliorare la disfunzione endoteliale. La KD può rappresentare un valido approccio terapeutico non farmacologico nel trattamento delle malattie cardiovascolari legate all'obesità.

È noto che l'infiammazione vascolare e lo stress ossidativo svolgono un ruolo cruciale nel favorire l'insorgenza di CVD. Studi preclinici sulle diete chetogeniche hanno rivelato che i corpi chetonici esercitano proprietà antinfiammatorie e antiossidanti che possono preservare la funzione dei vasi e attenuare lo sviluppo dell'aterosclerosi. Si ipotizza che un intervento precoce con un programma VLCKD possa rappresentare un valido approccio non farmacologico per prevenire l'aterosclerosi e le malattie cardiovascolari in soggetti con obesità.

Questo studio consentirà di:

- ottenere nuove intuizioni sugli effetti della KD sul processo aterogenico utilizzando un modello murino pronò all'aterogenesi;
- caratterizzare il ruolo dei corpi chetonici nella regolazione della funzione vascolare caratterizzando il loro impatto sull'immunofenotipo;
- convalidare la VLCKD come una strategia nutrizionale efficace in grado di contrastare lo sviluppo di aterosclerosi.

Tramite l'analisi del modello sperimentale aterogeno rappresentato da topi ApoE^{-/-} trattati con aldosterone e alimentati con dieta chetogenica ci si aspetta di osservare:

- Una riduzione della formazione di placche aterosclerotiche e dell'infiammazione;
- Un miglioramento della disfunzione endoteliale;
- Una riduzione del livello di citochine pro-infiammatorie circolanti.

L'obesità è una malattia cronica multifattoriale che determina la predisposizione a malattie cardiometaboliche aumentando il rischio di sviluppare aterosclerosi e malattie cardiovascolari (CV). Modificare lo stile di vita, compresa l'alimentazione e l'attività fisica, rappresenta una prima linea di terapia. Le prove attuali suggeriscono che le diete chetogeniche (KD) contrastano l'insorgenza di sindrome metabolica e malattie cardiovascolari migliorando la composizione corporea, la pressione sanguigna, il controllo della glicemia e il metabolismo dei lipidi. Tuttavia, gli studi volti a valutare gli effetti benefici delle KD sulla funzionalità del sistema cardiovascolare, sono ancora agli albori. Questo progetto mira a valutare le azioni della KD sulla funzione cardiovascolare e sullo sviluppo della placca in un modello murino soggetto ad aterosclerosi. Il progetto potrebbe rivelare se le diete chetogeniche possono essere utilizzate come approccio non farmacologico per prevenire disfunzioni e complicanze cardiometaboliche in soggetti a rischio di sviluppare patologie cardiovascolari.

In topi ApoE^{-/-} maschi di otto settimane, viene impiantata una minipompa osmotica (modello Alzet 1004) contenente un veicolo per via sottocutanea (etanolo/soluzione salina) o aldosterone (6 μg /topo/giorno) per 4 settimane. Al momento dell'impianto della minipompa, i topi sono sottoposti a dieta chetogenica (90,5 % kcal da grasso (grasso anidro), 0,4 % kcal da

carboidrati e 9,1 % da proteine; n = 12) o dieta aterogena (AD) (42 % kcal da grasso (grasso di latte anidro), 42,8 % da carboidrati, 15,2 % kcal da proteine; n = 12). Dopo 4 settimane, sono raccolti campioni di sangue periferico che vengono utilizzati per quantificare i livelli di beta-idrossibutirrato e per valutare l'infiammazione sistemica, una caratteristica chiave associata all'aterosclerosi, utilizzando un pannello di citochine infiammatorie. All'endpoint, i topi sono sottoposti a eutanasia e quindi perfusi con soluzione salina tamponata con fosfato, e vengono espuntati i seguenti tessuti: cuore, aorta, depositi adiposi bruni e bianchi e milza. La valvola aortica è incorporata in OCT. Le criosezioni di radici aortiche incorporate verranno utilizzate per la colorazione con Oil-Red O, picrosirius red e con anticorpi anti-Mac3 al fine di quantificare lipidi, core necrotico, contenuto di collagene e cellule infiammatorie attivate nella radice aortica a livello della valvola aortica. La colorazione in pixel che è positiva per il componente di interesse, è normalizzata sull'area complessiva della placca. Le immagini vengono raccolte e analizzate utilizzando il software ImagePro Premier (Media Cybernetics). Gli effetti della dieta chetogenica sulle funzioni vascolari (vasocostrizione, vasodilatazione e funzione endoteliale) sono valutati nell'arteria mesenterica dei topi ApoE -/- alimentati con KD o dieta aterogena, mediante miografia a filo (wire myography). Durante la miografia, gli anelli mesenterici (derivati da tutti i gruppi sperimentali) sono inoltre incubati con beta-idrossibutirrato (il corpo chetonico più abbondante nei mammiferi) per studiare l'effetto vascolare diretto dei corpi chetonici. Inoltre, si caratterizza la milza e gli archi aortici (regione anatomica ricca di placche aterosclerotiche) al fine di valutare l'infiammazione sistemica e della placca e aterosclerotica. Gli splenociti sono ottenuti mediante rottura meccanica della milza, seguita da diverse procedure di purificazione, mentre gli archi aortici saranno separati dalla porzione apicale del cuore e sono digeriti con collagenasi per ottenere un pool di cellule immunitarie. Le cellule immunitarie, ottenute con queste procedure, sono utilizzate per l'analisi citofluorimetrica attraverso un pannello completo di anticorpi. Si analizzano diverse sottopopolazioni di linfociti, cellule T helper (Th), cellule T citotossiche/soppressorie, cellule natural killer, cellule B. Inoltre, si analizza l'abbondanza delle cellule T regolatorie anti-infiammatorie (Treg) e delle cellule pro-infiammatorie Th1 e Th17. I campioni di aorta vengono utilizzati per valutare i marker di disfunzione endoteliale e di infiammazione attraverso l'analisi qRT-PCR.

LABORATORIO DI FISILOGIA E FARMACOLOGIA DEL DOLORE

Contributo della Fondazione ISAL e collaborazione scientifica con la Fondazione

I markers Bio-Psico- Sociali nel dolore cronico

Il dolore cronico rappresenta una condizione difficile, poiché, essendo disabilitante e intrattabile, è causa di stress e sofferenza. Ogni anno, i sistemi sanitari nazionali europei spendono risorse economiche su farmaci e terapie, spesso senza alcun risultato chiaro e permanente (Wooden SR. et al 2017; Ruhe AK et al. 2017). Le linee guida terapeutiche standard non sono abbastanza chiare nella definizione di una strategia adeguata da seguire in condizioni di dolore. Analgesici oppiacei come la morfina sono i pilastri della gestione del dolore, in condizioni che vanno dal dolore acuto a quello cronico, con oltre 300 milioni di prescrizioni per oppiacei scritte annualmente in tutto il mondo. Inoltre, la loro utilità clinica è spesso ostacolata dallo sviluppo della tolleranza analgesica e dall'ipersensibilità dolorosa, nota anche come 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. Con un trattamento prolungato, lo sviluppo dell'ipersensibilità indotta dalla morfina contrasta l'effetto

terapeutico di tali aumenti di dose (Mao et al. 1995). Inoltre, pur mantenendo il controllo del dolore cronico, il trattamento con oppioidi porta a effetti collaterali debilitanti come un over-sedazione, ridotta attività fisica, depressione respiratoria, stitichezza e persino dipendenza. Una migliore comprensione dei meccanismi molecolari e cellulari alla base della patogenesi della "malattia da stato del dolore" è cruciale per lo sviluppo di efficaci strategie terapeutiche, per mantenere l'efficacia degli oppiacei durante il dosaggio cronico senza generare tolleranza o effetti collaterali inaccettabili. Ad ogni modo, si può pensare che il problema risieda anche nella mancanza di dati statistici sulla dose giusta per l'utilizzo del farmaco e l'efficacia a lungo termine. L'assenza di test oggettivi e marker biologici, per monitorare i fattori di rischio e lo sviluppo del dolore, porta a una considerazione ingannevole e negativa del consumo di oppioidi. È stato studiato che un'eccessiva risposta infiammatoria svolge un ruolo chiave nella patofisiologia del dolore cronico e diversi oppioidi o la diversa somministrazione di oppioidi mostra vari effetti sul sistema immunitario come la stimolazione immunitaria o l'immunosoppressione, o entrambi. Questa evidenza permette alla ricerca di studiare un approccio innovativo per controllare lo sviluppo e la progressione della malattia (Morgan et al. 2011). Al giorno d'oggi nessuno ha studiato se l'uso di farmaci analgesici oppioidi 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.

L'obiettivo di questo studio consiste nell'analizzare i recettori oppioidi espressi sulle membrane dei linfociti di sangue periferico, per valutare se possono essere identificati come marker idonei per lo sviluppo del dolore cronico di diversa eziologia al fine di identificare una terapia standard.

Per lo studio sono stati arruolati pazienti con osteoartrite, fibromialgici e controlli sani (arruolati presso l'Università degli studi di Roma "La Sapienza" - Policlinico Umberto I, firmando un modulo di consenso informato specifico, in seguito ad approvazione del comitato etico della Sapienza). Ad ogni paziente è stato prelevato un campione di sangue. L'espressione dei recettori oppioidi è stata determinata tramite FACS e western blotting.

Una parte del sangue periferico è stato incubato con specifici anticorpi coniugati con fluorocromo, in combinazione con anticorpi che riconoscono i recettori oppioidi. Dopo l'incubazione, i campioni sono stati lisati utilizzando la BD FACS Lysing Solution per 15 minuti a temperatura ambiente e centrifugati a 1500 RPM per 5 minuti. Il pellet risultante è stato acquisito e analizzato attraverso l'utilizzo del citofluorimetro LSR Fortessa X-20 (BD Science) utilizzando il software CellQuest.

L'espressione dei recettori oppioidi attraverso western blotting, è stata valutata, utilizzando cellule periferiche mononucleari (PBMCs), separate dal sangue attraverso il Ficoll e incubate con anticorpi specifici per i recettori μ e κ .

I dati preliminari hanno evidenziato una diminuzione significativa della percentuale dei recettori oppioidi μ sulla superficie dei linfociti B e NK in pazienti con fibromialgia e osteoartrite rispetto ai pazienti sani. Nessuna variazione invece è stata osservata nella percentuale dell'espressione dei recettori κ su queste cellule. Analizzando, invece, l'espressione dei recettori μ e κ in cellule T totali, T citotossiche e T helper, non abbiamo osservato nessuna

variazione nella percentuale di espressione di questi recettori, rispetto ai pazienti sani. In questo ultimo anno, grazie alla collaborazione tra ISAL e San Raffaele, è stata inoltre studiata la percentuale di linfociti esprimenti il recettore μ , sulle cellule B e NK, osservata nei pazienti fibromialgici arruolati nel follow up ad un anno dallo studio pilota. Abbiamo osservato che i risultati sono paragonabili a quelli precedenti: diminuita percentuale dell'espressione dei recettori Mu nelle cellule B e NK. Saranno necessari studi futuri per confermare i dati ottenuti e, in particolare, valutare quale sotto-popolazione dei linfociti B sia coinvolta maggiormente nel dolore cronico e studiare il ruolo delle cellule NK.

Questa ricerca clinica ha lo scopo di documentare se la realizzazione degli obiettivi citati sia concreta e se i recettori oppioidi situati sulle membrane cellulari scostituiscono marker biologici idonei per il trattamento farmacologico. E' stato proposto un metodo per analizzare se l'oppioide possa modulare i linfociti suggerendo i recettori oppioidi come marcatori biologici per prevenire il dolore cronico.

LABORATORIO DI IMMUNOPATOLOGIA SINAPTICA

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 dimostrato 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 (Mechelli et al. 2015).

Oltre a EBNA2, altri loci del complesso genoma virale possono influire sulla patofisiologia della malattia. In uno studio esplorativo, dove sono stati interamente sequenziati i genomi di EBV derivati da linee cellulari linfoblastoidi spontanee (spLCL) ottenute da persone con SM e da donatori sani (HD), sono state individuate altre varianti virali che potrebbero essere correlate con l'insorgenza della malattia (Chaira et al. 2016).

L'obiettivo del progetto è 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. Sono state arruolate 300 persone con SM e 180 controlli, sottoposti a prelievo ematico da cui sono state isolate le cellule B (potenzialmente infettate dal virus). Il DNA estratto dalle cellule B di 282 persone con SM e da 144 controlli è stato analizzato tramite digital droplet PCR (ddPCR) che permette l'identificazione di varianti del genoma virale utilizzando specifiche sonde fluorescenti. Questo sistema è veloce, preciso ed accurato, e particolarmente adatto per le analisi genotipiche condotte su grandi popolazioni. L'analisi dei dati ha confermato l'associazione statisticamente rilevante tra l'allele 1.2 e la SM ($p=0.0002$) e una maggiore frequenza di co-infezioni di diversi alleli di EBV nel sangue di persone con SM rispetto ai controlli ($p=0.015$). Inoltre, è stato rilevato un maggior numero di campioni in cui non è stato possibile identificare gli alleli di EBNA2 nel gruppo dei controlli rispetto al gruppo SM ($p=0.0002$), suggerendo che il numero di copie virali presenti nei controlli sia ridotto rispetto alle persone con SM e confermando dati di letteratura che mostrano un'alterazione nella capacità di controllare l'infezione da parte di persone con SM.

L'analisi di altre varianti singole selezionate su altri 4 geni del genoma virale, non hanno evidenziato una diversa distribuzione tra persone con SM e controlli.

Per poter identificare il possibile ruolo funzionale delle varianti di EBNA2, sono stati valutati i livelli di espressione sia dei geni virali che di quelli cellulari in linee linfoblastoidi spontanee ottenute da persone con SM ed infettate dall'allele di rischio (1.2) e da altri alleli non predisponenti ed identificati nella popolazione generale (1.3B e B95-8). E' stato utilizzato il sistema NextSeq 500 (Illumina) per sequenziare gli RNA messaggeri di 5 linee infettate dal tipo 1.2, 4 infettate dal tipo 1.3B e 4 dal virus di laboratorio B95-8. Dal confronto tra i vari gruppi è stata individuata una serie di geni che risultano differenzialmente espressi tra le varie condizioni. Attraverso una validazione con ddPCR su una popolazione indipendente di linee spLCLs, è stato possibile dimostrare che le varianti trovate sul gene EBNA2 sono in grado di modulare l'espressione di geni cellulari che partecipano a funzioni importanti nella patogenesi della malattia, come la presentazione dell'antigene e la migrazione delle cellule B.

LABORATORIO DI CITOFUORIMETRIA

Studio EoAG

Analisi citofluorimetrica dell'attività eosinofila mediata dall'espressione dei marcatori di membrana cellulare in soggetti con asma grave: caratterizzazione basale e verifica dei cambiamenti indotti dalla terapia con farmaci biologici

In collaborazione con Campus Universitario Biomedico,
e con un finanziamento erogato da Glaxo Smith Kline.

Lo studio EoAG nasce dall'idea di valutare lo stato di attivazione degli eosinofili in pazienti asmatici, per verificare possibili correlazioni tra il fenotipo espresso dagli eosinofili e un particolare endotipo asmatico; inoltre si propone di verificare il valore prognostico dell'analisi fenotipica degli eosinofili e la possibile modificazione del fenotipo degli eosinofili in seguito a trattamento con farmaci biologici.

Il laboratorio di citofluorimetria partecipa allo studio avendo il ruolo di analizzare il fenotipo degli eosinofili; a questo scopo, i prelievi di sangue di pazienti afferenti al Campus Biomedico sono marcati con anticorpi diretti verso le principali molecole di attivazione ed identificazione degli eosinofili. I pazienti sono sottoposti a prelievo un mese prima dell'inizio del trattamento, all'inizio del trattamento, a tre mesi e a un anno. Lo studio è in cieco per quanto riguarda l'analisi e la raccolta dati da parte del laboratorio di citofluorimetria.

Al 31/12/2021 sono stati reclutati 79 pazienti. I primi dati raccolti mostrano che nei soggetti con asma grave che mostrano una più alta frequenza di episodi di esacerbazione si osserva un aumento dell'espressione del CD294 (CRTH2, recettore associato con la risposta infiammatoria di tipo 2) e di CCR3 (recettore per la chemochina eotassina, che indirizza gli eosinofili verso i siti infiammati).

Si prevede un reclutamento di 160 pazienti, dei quali 80 saranno trattati con farmaco biologico e 80 con terapie convenzionali.

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 compito del Comitato Etico è garantire la correttezza formale, metodologica ed etica delle sperimentazioni, la fattibilità delle stesse e, secondo la normativa italiana, l'adeguatezza degli accordi economico-organizzativi, tutelando i diritti delle persone che vi partecipano. Il Comitato Etico ha, inoltre, il compito di verificare che l'impostazione formale e metodologica delle sperimentazioni cliniche sia in linea con la normativa vigente. Il Comitato Etico verifica che i soggetti coinvolti nella sperimentazione non siano sottoposti a indagini o terapie non necessarie per la loro patologia, o che le indagini o terapie previste arrechino danno, o sofferenza, o non comportino dei rischi. I trial clinici comprendono sia studi sponsorizzati da aziende farmaceutiche e/o da associazioni scientifiche sia studi spontanei interni mirati al miglioramento dell'assistenza.

Il comitato Etico dell'IRCCS San Raffaele Roma è stato 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 è attualmente composto da 18 membri effettivi e da 3 membri a chiamata la cui competenza e qualifica professionale corrisponde a quanto richiesto dalla normativa vigente e alle esigenze dell'IRCCS San Raffaele Roma, 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.

Le riunioni plenarie si svolgono, di norma, con cadenza mensile. In casi in cui sia provata l'urgenza del parere da parte del Comitato Etico, sono previste riunioni telematiche che possono avvenire con tempistiche differenti da quelle delle riunioni plenarie.

Sul portale istituzionale, nella pagina dedicata, sono riportati l'elenco dei nomi e delle qualifiche dei componenti e i dati del Comitato Etico. E' inoltre possibile scaricare i file che riguardano: a) le indicazioni per il pagamento degli oneri; b) gli indicatori di performance ; c) le indicazioni per la sottomissione della documentazione; d) indicazioni per la sottomissione della convenzione.

Area di Ricerca Disabilità dello Sviluppo e Riabilitazione

IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù
Policlinico Gemelli dell'Università Cattolica del Sacro Cuore

per ciò che concerne la neuroriabilitazione post-acuzie in bambini e giovani dopo interventi di chirurgia ortopedica funzionale e di neurochirurgia che necessitino di riabilitazione e recupero post-operatori, in relazione alla condizione clinica di base o per esiti degli interventi eseguiti.

Clinica ortopedica dell'Università di Basilea per la riabilitazione post-operatoria di giovani italiani operati lì.

Per l'area psicologica sono attive Convenzioni per tirocini pre-laurea, post-laurea e di specializzazione in Riabilitazione Pediatrica con le seguenti scuole:

- ITRI Istituto di Terapia Relazionale Integrata
- PTS Scuola di Psicoterapia "Training School" – tirocinio per allievi iscritti alla scuola di psicoterapia cognitivo-comportamentale dell'adulto e dell'età evolutiva
- Università Europea di Roma – tirocini psicologi
- Centro per la Ricerca in Psicoterapia (CRP) – tirocinio ai fini della specializzazione in psicoterapia
- Sapienza Università, Policlinico Umberto I – tirocinio terapia occupazionale
- Università Europea di Roma – tirocini psicologi
- IIRIS Istituto Integrato di Ricerca ed Intervento Strategico – scuola di specializzazione in psicoterapia strategica – tirocinio di psicoterapia
- SICC Scuola Italiana di Cognitivismo Clinico – tirocinio ai fini della specializzazione in psicoterapia
- Istituto Skinner – tirocinio in neuropsicologia clinica
- Scuola di Specializzazione in Psicoanalitica dell'Età Evolutiva ASNE SIPsIA– tirocinio di formazione ed orientamento per la specializzazione in psicoterapia
- Università degli studi di Roma "La Sapienza" Facoltà di Medicina e Psicologia – tirocinio in terapia occupazionale
- SFPID – Scuola di Formazione di Psicoterapia ad Indirizzo Dinamico Tirocinio per la Specializzazione di Psicologi
- Istituto Walden - Laboratorio di scienze comportamentali. Associazione Italiana di Psicologia e Terapia Cognitivo Comportamentale
- Istituto A.T. Beck, Scuola di Specializzazione in Psicoterapia Cognitivo- Comportamentale

Area di Ricerca Biobanca – Biotecnologie Avanzate e Biomarker Discovery

- UO di Oncologia Medica del Dipartimento di Medicina dei Sistemi dell'Università di Roma "Tor Vergata",
- Dipartimento di Ingegneria dell'Impresa "Mario Lucentini" dell'Università di Roma Tor Vergata
- Università di Palermo
- Sapienza Università di Roma
- ISBER (The International Society for Biological and Environmental Repositories) una rete di gruppi internazionali operanti nel settore delle biobanche
- Laboratory of Tumor Immunology and Biology (diretto dal Dr. Jeffrey Schlom) del National Cancer Institute,
- National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

Area di Ricerca Parkinson e Disturbi del Movimento

- Università di Padova, Dipartimento di Neuroscienze per la creazione di un DATABASE specifico per la malattia di Parkinson (REDCAP)

Area di Ricerca Riabilitazione Cardiovascolare, Telemedicina, e-health

- Università di Berlino, Prof. Wolfram Dohner, Prof. Stefan Anker
- University Heart Center di Amburgo, Prof. Mahir Karakas
- Policlinico Umberto I, Prof. Francesco Fedele e Prof. Carlo Gaudio
- St. George's Hospital, London, Prof. Juan-Carlos Kaski
- Brompton Hospital, London, Prof. Peter Collins
- IRCCS Clinica del Lavoro e della Riabilitazione - Fondazione Salvatore Maugeri, Dott.ssa Simonetta Scalvini, Dott. Michele Vitacca
- IRCCS S. Donato Milanese, Dott. Roberto Tramarin
- IRCCS San Raffaele Milano, Prof. Alberto Margonato e Prof. Alberto Cappelletti

Laboratorio di Brain Connectivity

- NIH Bethesda, Hallett M.
- UCL London, Rothwell J.
- University Magdeburgo, Germany, B. Sabel
- University of Lausanne, Switzerland, S. Micera
- Univ. Brescia, IRCCS Fatebenefratelli Brescia, C. Miniussi
- Sapienza Università, L. De Gennaro
- Università di Siena, S. Rossi
- Scuola Superiore S. Anna, Pisa, M.C. Carrozza
- Università. Barcellona, Spain, X. Navarro
- F. Ferreri (Univ. Padova)
- Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, C. Marra
- IRCCS Fatebenefratelli - Brescia
- IRCCS Centro Neurolesi "Bonino Pulejo" - Messina
- IRCCS Associazione Oasi Maria SS. ONLUS – Troina
- Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma
- IRCCS Fondazione Policlinico Agostino Gemelli, Roma
- CNR
- Istituto Superiore di Sanità
- Università di Roma "Sapienza"
- Università di Roma "Tor Vergata"
- Università di Roma "Campus Biomedico"
- AFaR (Associazione Fatebenefratelli per la ricerca biomedica)
- Casa Cura Policlinico, Milano.
- eCampus University, Novedrate (Como)
- Università degli Studi di Padova

Laboratorio di Biochimica dell'Invecchiamento

Istituto di Scienze Neurologiche di Bologna – Dr. Fabio Ciccarone

Collaborazione per il progetto GR2019 per lo sviluppo del progetto mirato all'identificazione di biomarcatori predittivi dello sviluppo di malattia di Alzheimer in individui con Sindrome di Down.

Laboratorio di Bioingegneria della Riabilitazione

Casa di Cura del Policlinico di Milano

Laboratorio di Neurofisiologia Sperimentale

IRCCS Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli - Prof. Paolo Calabresi

Gli studi in modelli in vitro degli effetti di aggregati di α -sinucleina, nei processi di neurodegenerazione, in corso di MP, è lo scopo di questa collaborazione con il gruppo del Prof. Calabresi, con il fine ultimo di cercare nuovi target terapeutici, per il trattamento di questa malattia, cercando di ottenere un recupero delle attività cognitive e motorie dei pazienti.

Nell'ambito dell'istituzione degli Istituti Virtuali IRCCS Nazionali, la prof.ssa Barbara Picconi ha partecipato attivamente in qualità di Task Leader dell'Istituto Virtuale Parkinson organizzando le attività di ricerca preclinica di 12 tra i più importanti IRCCS Nazionali Italiani nell'ambito delle malattie neurodegenerative e in particolare per la raccolta dati dai principali modelli sperimentali in vitro ed in vivo di malattia di Parkinson.

Laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare

Hudson Institute of Medical Research, Clayton, Victoria, Australia, Laboratorio di Morag Young esperta della funzione del Recettore Mineralcorticoide (MR) nel sistema cardiovascolare. Il laboratorio del Dr. Young supporta gli studi del Prof. Caprio nel caratterizzare gli effetti metabolici dell'antagonismo di MR impiegando modelli murini transgenici knockout per MR e metodiche di analisi del metabolismo. Laboratorio di Iris Jaffe (Tufts Medical Center, Boston, USA), massima esperta mondiale sugli effetti vascolari di MR, in studi sul ruolo di MR nell'ipertensione arteriosa e nell'invecchiamento vascolare.

Centre de Recherche des Cordeliers, Parigi, Francia, gruppo del Prof. Frederic Jaisser esperto del ruolo di MR a livello renale.

Università degli Studi di Padova, Prof. Antonio Paoli esperto di nutrizione e terapia chetogenica

Gruppo di ricercatori partecipanti ai progetti ERA-NET e MATCH: University Heart Centre, Amburgo, Prof.ssa Tanja Zeller e il Dott. Mahir Karakas con INSERM, Parigi, Dott. David-Alexandre Tregouet e University Medical Center Göttingen, Prof. Tim Beißbarth.

Laboratorio di Neurobiologia Molecolare e Cellulare

- Istituto Superiore di Sanità, Roma: D. Merlo, M.R. Domenici, A. Martire,
- Università Sapienza, Roma, Italia, Dip.to di Ingegneria Meccanica e Aereospaziale: C.M.Casciola
- CNR, Istituto di Farmacologia Traslazionale: C. Mollinari, M. Cozzolino, G. De Chiara
- ENEA, Laboratory of Radiation Biology and Biomedicine, Roma, Italia: S. Pazzaglia
- Department of Life Sciences, Imperial College London, UK: W. Wisden
- Department of Neurobiology, University of Heidelberg, Germany: H. Bading
- Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences and Collaborative Innovation Center for Brain Science, School of Life Science and Technology, Tongji University, Shanghai, China: G. Pei
- Shanghai Institute for Advanced Immunochemical Studies, ShanghaiTech University, Shanghai, China: J. Zhao
- Istituto Italiano di Tecnologia, D. Caprini
- Università di Pisa, Pisa, Italia, Dipartimento di Ricerca Traslazionale: M. Pistello, L. Macera
- Università dell'Insubria di Varese, Italia, Dipartimento di Medicina e Chirurgia: F. Maggi
- Università degli Studi dell'Aquila, L'Aquila, Italia, Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica Scienze della Vita e dell'Ambiente: F. Brancati
- IRCCS Istituto Giannina Gaslini di Genova, F. Zara
- ENEA: studio del ruolo delle proteine coinvolte nella riparazione del DNA, nella plasticità sinaptica e nelle malattie neurodegenerative.

- University of Heidelberg: messa a punto dell'utilizzo di virus adenoassociati ricombinanti che rappresentano un potente sistema per il trasferimento di geni nel cervello al fine di curare le malattie neurologiche e studiare le funzioni del SNC.
- Imperial College London: generazione di modelli animali transgenici ed in particolare lo sviluppo di modelli preclinici innovativi per l'identificazione e la validazione di potenziali target terapeutici da perseguire in trial clinici.
- Chinese Academy of Sciences e la Tongji University di Shanghai: è stato sviluppato un nuovo modello per studi di patogenesi e test farmacologici basato sulla produzione di neuroni umani derivanti da fibroblasti di pazienti con diverse patologie neurologiche (chemical-induced neurons), inoltre abbiamo messo a punto il sistema di transdifferenziamento in di microfluidica.
- Istituto Italiano di Tecnologia: messa a punto di chip con micro canali per il transdifferenziamento in microfluidica.
- Università di Pisa e dell'Università dell'Insubria di Varese per lo studio e comprensione degli effetti dell'infezione da SARS-CoV-2 nel sistema nervoso, così da verificare eventuali ripercussioni del virus a livello di meccanismi molecolari e cellulari di apprendimento e memoria a livello sinaptico.
- Università degli studi dell'Aquila per lo studio comparato degli effetti della amplificazione pente nucleotidica identificata in pazienti affetti dall'epilessia mioclonica familiare benigna dell'adulto una malattia genetica rara, attraverso l'utilizzo della tecnica del transdifferenziamento.

Laboratorio di Immunopatologia Sinaptica

- Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Diego Centonze, Professore Ordinario di Neurologia,
- Unità di Neurologia dell'IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed, Pozzilli (IS)
- IRCCS-Fondazione Santa Lucia (Roma), Dott.ssa Elisabetta Volpe
- IRCCS di San Martino (Genova), Dott.ssa A. Laroni
- Università Campus Bio-Medico di Roma, Facoltà dipartimentale di Medicina e Lab e Responsabile del Laboratorio di Neurochimica dei Lipidi Valerio Chiurchiù, Professore presso l'IRCCS-Fondazione Santa Lucia di Roma,
- Laboratorio di Neurofarmacologia, Università di Genova, Prof. Anna Pittaluga
- Università di Bari e CNR di Bari, Prof. Graziano Pesole
- Università Sapienza, Prof. Marco Salvetti, Prof. Giovanni Ristori,
- Dana-Farber Cancer Institute, Boston, MA, USA, Dott. Renato Umeton, Department of Informatics and Analytics

Laboratorio di Elettrofisiologia

- Università di Lund (Prof. Merab Kokaia),
- "University Medical Centre" (UMC) di Amsterdam, Prof.ssa Eleonora Aronica
- Instituto de Medicina Molecular" (IMM) di Lisbona (Prof.ssa Ana Sebastiao).

Laboratorio di Neurofisiologia Sperimentale

- IRCCS Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli - P.I. Prof. Paolo Calabresi

UNIVERSITÀ TELEMATICA SAN RAFFAELE ROMA

L'Università Telematica San Raffaele Roma, istituita con decreto del Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca dell'8 maggio 2006, è un Ateneo non statale, legalmente riconosciuto, che rilascia titoli di studio equipollenti e con il medesimo valore legale di quelli rilasciati dalle Università tradizionali.

L'offerta didattica è erogata in modalità E-Learning, attraverso l'utilizzo di internet e delle nuove tecnologie digitali. Gli studenti possono pertanto accedere alla piattaforma didattica in qualsiasi momento ed in qualunque luogo, abbattendo ogni vincolo spazio-temporale e offrendo in tal modo la fruizione del materiale didattico anche a coloro che, per ragioni fisiche, geografiche o lavorative, ne sarebbero esclusi.

La lezione ex cathedra viene in sostanza sostituita da lezioni registrate e disponibili online 24 ore su 24 e integrata con specifico materiale didattico: slides, materiale illustrativo, problemi e discussioni in linea. Per garantire inoltre un alto livello qualitativo, le lezioni online sono integrate da attività seminariale e di laboratorio.

I Corsi di Studio sono legati ai settori in cui il primato del "Made in Italy" è riconosciuto a livello internazionale: design e moda, alimentazione e gastronomia, nutrizione umana, scienze motorie e sport.

Il rapporto vitale con i settori industriali e sportivi di riferimento garantisce agli studenti una relazione proficua con il mondo produttivo e il mercato del lavoro anche attraverso la possibilità di accedere a stage professionalizzanti nelle realtà più qualificate. Esperti e professionisti del mondo dell'industria e dello sport assicurano un percorso di studio che valorizza l'apprendimento teorico e la formazione pratica.

I Corsi di Studio sono articolati in: I livello, al termine del quale si ottiene la Laurea; II livello, al termine del quale si ottiene la Laurea magistrale; III livello per la formazione post-laurea (master per laureati di II livello e dottorati di ricerca), corsi di perfezionamento. La durata dei Corsi di Studio è misurata in crediti formativi universitari (CFU), pari a 60 per ciascun anno di corso. Sono inoltre previste possibilità di approfondimenti trasversali ai quattro cicli di studi attraverso i master universitari (di I o di II livello), che hanno un carattere prevalentemente professionalizzante.

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 2021, a seguito della emergenza sanitaria Covid-19 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.

L'IRCCS San Raffaele Roma 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 Roma 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

L'emergenza sanitaria dovuta al Covid-19 ha avuto un impatto importante sulle attività sanitarie, riabilitative e di ricerca, con in particolare un cluster nel mese maggio-luglio con chiusura del Presidio Riabilitativo, e conseguentemente con un minor numero di ricoveri per la riabilitazione.

Peraltro, con determina specifica dell'Agenzia Italiana del Farmaco, gli studi clinici sono stati sospesi per il periodo di lock down. Di conseguenza, le attività di studi clinici sono state congelate fino a settembre. In accordo e su indicazioni del Direttore Sanitario dell'ASL di riferimento, la sede del Clinical Trial Center è stata spostata nella sede del San Raffaele in via della Pisana n. 236, per poter garantire la continuità delle prestazioni di cura e trattamento farmacologico ai pazienti arruolati in trial clinici.

Inoltre, a seguito del perdurare dell'emergenza, l'assetto organizzativo è stato cambiato su richiesta della regione Lazio con l'attivazione di un Reparto Covid, con una capienza di 86 n. posti letto.

L'Istituto San Raffaele ha attivato nel mese di marzo uno studio osservazionale ed i ricercatori e clinici hanno contribuito a varie pubblicazioni, che rappresentano sia delle review, ma anche articoli che riportano i dati di progetti svolti in collaborazione con altri IRCCS.

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.

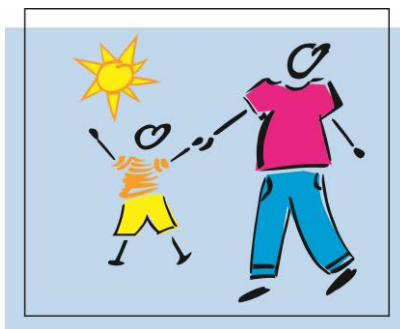
Si riportano a seguire gli outcome al momento del ricovero e alla dimissione.

	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 Roma 37.776 prestazioni di carattere ambulatoriale (SSR, comprese quelle di Laboratorio analisi pari a 3.866).

Centro Pediatrico per le Disabilità dello Sviluppo



Area di assistenza e ricerca Disabilità dello Sviluppo

L'attività assistenziale in regime di Degenza Ordinaria negli 11.4 posti letto medi del Centro di Riabilitazione Pediatrica e delle Disabilità dello Sviluppo nel 2021 è consistita in 112 dimessi, il 46,4% provenienti da fuori regione, della durata media di 37,1 giorni, per un totale di 4.154 giornate di degenza, pari ad un indice di occupazione del 100%

L'attività è stata dedicata alla riabilitazione intensiva di bambini e giovani con Disabilità dello Sviluppo che necessitano di trattamenti intensivi o dopo interventi di chirurgia ortopedica funzionale (es. paralisi cerebrali infantili) o dopo intervento di neurochirurgia o per riacutizzazione o peggioramenti della condizione clinica di base.

L'attività riabilitativa si svolge sia tradizionalmente in palestra, con rapporto 1:1 con il terapista e, in casi selezionati e con personale dedicato, sia con attività robotica in palestra tecnologica con ottima partecipazione dei bambini.

Attività Ambulatoriali

Per pazienti esterni (o dopo la dimissione dal Reparto dei ricoverati) vi è anche la possibilità di terapie riabilitative in regime privato etico e di valutazioni mediche e dello sviluppo ambulatoriali.

In questo settore si segnala anche il servizio di valutazioni neuropsicologiche per la diagnosi e la certificazione dei Disturbi degli Apprendimenti (DSA).

Nel 2021 hanno avuto accesso alle attività ambulatoriali (valutazioni e trattamenti riabilitativi) un totale di 645 pazienti, così suddivisi per area:

Area Valutazioni - trattamenti	n. Pazienti	n. prestazioni
Psicologia clinica	198	1097
Logopedica	136	1289
DSA	266	1409
Motoria/TNPEE	45	178
Totale		3973

Area Medica	SSN	Priv
Visita Fisiatrica	285	61
Visita Neurologica	242	
Cardiologia pediatrica (visita, ECG, ecocardio)	159-141-85	
Visita NPI		24
Totale	912	85

Percorsi Diagnostico-Terapeutici (PDT)

Reparti di Riabilitazione Neuromotoria in regime ordinario

L'IRCCS San Raffaele Roma ha realizzato su Roma e nella Regione Lazio una rete di centri per la cura e per la ricerca sulla Malattia Cerebrovascolare (Ictus cerebri ischemico e/o emorragico) e sulle malattie neurodegenerative (Malattia di Parkinson, parkinsonismi atipici degenerativi e secondari). L'obiettivo è stato quello di realizzare centri di cura e di ricerca organizzati in rete che siano in grado di prendere in carico il paziente tenendo conto di tutti gli aspetti della malattia e di migliorare la qualità dell'assistenza attraverso la costruzione di percorsi diagnostico-terapeutici, che siano in accordo con le linee guida di trattamento medico, infermieristico e riabilitativo formulate dalle società scientifiche nazionali ed internazionali e che prevedano processi di collaborazione tra operatori e strutture diverse. In particolare, i reparti di neuromotoria dell'IRCCS San Raffaele Roma possono essere già ritenuti un punto di riferimento nel panorama regionale e non solo per la verifica e messa a punto delle terapie farmacologiche e riabilitative della Malattia di Parkinson e della Malattia Cerebrovascolare.

Le U.O. di Riabilitazione Neuromotoria intensiva dell'IRCCS San Raffaele Roma sono proprio a tale scopo inserite nella rete complessiva dei servizi sanitari di riabilitazione di I livello (riabilitazione estensiva) e di servizi di assistenza domiciliari, semiresidenziali e residenziali, con i quali si raccordano per il ritorno in tempi adeguati del disabile nel proprio territorio, garantendo il completamento del percorso riabilitativo secondo protocolli ben definiti e il continuum assistenziale in generale.

La presa in carico di tutti i pazienti, appena entrati in reparto, prevedeva la costituzione di una Equipe Riabilitativa multidisciplinare che contempli le seguenti figure professionali: il fisiatra, il neurologo, il medico internista, l'infermiere, il terapeuta della riabilitazione (fisioterapista, terapeuta occupazionale, logopedista), lo psicologo, l'assistente sociale ed il dietologo. Tutte le figure menzionate, che operano in stretta collaborazione e sotto la supervisione del medico riabilitatore, valutano ed assistono il paziente seguendo specifici PDT pianificati all'ingresso in base alla patologia presentata (PDT specifici per malattia Cerebrovascolare, Malattia di Parkinson e Parkinsonismi, Sclerosi Multipla, Protesi d'anca o di ginocchio) ed elaborano un Progetto Riabilitativo Individuale.

Per quanto riguarda i pazienti neurologici, oltre ai postumi di ictus cerebri, il reparto di riabilitazione neuromotoria, vi è anche la presa in carico dei pazienti con **sclerosi multipla**, verso i quali viene svolto un progetto riabilitativo individualizzato ed incentrato soprattutto alla ottimizzazione delle Attività della Vita quotidiana ed alla gestione della fatica patologica. Anche per essi sono stati introdotti training che si avvalgono dell' utilizzo della Robotica e della realtà virtuale.

Day Hospital Riabilitazione Neuromotoria

Nella tabella sottostante (tab I) viene riportato il valore percentuale dei pazienti per ogni patologia da noi trattati nell' anno di riferimento 2021.

Patologie	Pazienti
Parkinson e parkinsonismi Centro MP e Reparti)	142
Ictus cerebri (ischemico, emorragico , ESA)	28
Sclerosi multipla	12
Neoplasie, malattie degenerative del SNC-SNP,varie	9
Mielopatie	4
Protesi anca/ginocchio/spalla	31
Interventi ortopedici vari (fratture, legamenti, chir.funzionale)	21
Pazienti con Amputazione	4
Totale	251

A seguire si riportano i sistemi robotici e tecnologici per la riabilitazione ed il numero totale di pazienti trattati dalla data di acquisizione della apparecchiatura

	n. Pazienti trattati
Virtual Reality Rehabilitation System – VRRS EVO - 2015	811
Virtual Reality Rehabilitation System – VRRS EVO - 2019	192
Sistema OAK - 2019	402
Erigo - 2012	943
GEO – System – 2011	803
EKSO- GT – 2015	80
Motore – 2020	65
Armeo Power – 2019	101
Amadeo - 2012	353
Totale	3750

La presa in carico dei pazienti viene effettuata durante la visita di preaccettazione. Al momento dell'ingresso effettivo in DH viene fatta la riunione d'equipe con le diverse figure professionali (fisioterapisti, logopedisti, infermieri, terapisti occupazionali, psicologi, e assistente sociale al bisogno) e in seguito viene ottimizzato il progetto riabilitativo definitivo con i singoli programmi e obiettivi specifici per area. Tutte le figure professionali operano in stretta collaborazione e valutano ed assistono il paziente seguendo specifici PDT pianificati all'ingresso in base alla patologia presentata (PDT specifici per malattia Cerebrovascolare, M. di Parkinson e Parkinsonismi, Sclerosi Multipla, Protesi d'anca o di ginocchio ecc...) ed elaborano un Progetto Riabilitativo Individuale personalizzato. Tutti i pazienti vengono trattati secondo le linee guida riabilitative sottoscritte.

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

**Grantfunding
Editorial Office****Daniela Pernice**

Via di Val Cannuta, 247
Tel. +39 06 52253404 Fax +39 06 52255668
Email: daniela.pernice@sanraffaele.it