

RICERCHE EUROPEE,
REGIONALI, TELETHON,
FINANZIATE DA ALTRI ENTI

RAZIONALI

PROGETTI U.E IN CORSO - ANNO 2011-2012

(per la descrizione si veda Annuario 2009-2010)

FPVII° Health –2007-1. 4-6. Large collaborative project

Titolo: “Optimization of stem cell therapy for degenerative epithelial and muscle diseases”

Acronimo: “OPTISTEM”

Periodo di riferimento: 01.01.2009 – 31.12.2013

Coordinator: Prof. Giulio Cossu – Università degli Studi di Milano

Partner “IRCCS Medea”: Polo scientifico di Bosisio Parini

Responsabile: Prof. Emilio Clementi

FP VII°- Health – 2007 – 3.2.6 Collaborative Project –Small or medium-scale focused research project

Titolo: “COURAGE in Europe - Collaborative Research on AGEing in Europe”

Acronimo: “COURAGE in Europe”

Periodo di riferimento: 01.05.2009 – 30.04.2012

Coordinator: Dr.ssa Matilde Leonardi - Fondazione IRCCS Istituto Neurologico “Carlo Besta” - Milano

Partner “IRCCS Medea”: Polo scientifico di Conegliano e Pieve di Soligo

Responsabile: Dr. Andrea Martinuzzi

Specific Programme “Cooperation” – Theme “Health”

FP7-HEALTH 2009-single-stage

Titolo: “Activation of vasculature associated stem cells and muscle stem cells for the repair and maintenance of muscle tissue”

Acronimo: “ENDOSTEM”

Periodo di riferimento: 01.01.2010 – 31.12.2014

Coordinator: Prof. David Sassoon – INSERM, Institut national de la santé et de la recherche médicale, Paris (France)

Partner “IRCCS Medea”: Polo scientifico di Bosisio Parini

Responsabile: Prof. Emilio Clementi

E-Rare 2009 Proposal

Titolo: “European Research Project on Mendelian Inherited Optic Neuropathies”

Acronimo: “ERMION”

Periodo di riferimento: 03.05.2010 – 03.05.2013

Coordinator: Prof. Dominique Bonneau – Centre Hospitalier Universitaire INSERM, Institut national de la santé et de la recherche médicale, U 694 Dep. Genetics and Biochemistri, Angers (France)

Partner “IRCCS Medea”: Polo scientifico di Conegliano e Pieve di Soligo

Responsabile: Dr. Andrea Martinuzzi

COMMUNICATION DISORDERS: REDUCING HEALTH INEQUALITIES

DR. MASSIMO MOLteni

E-MAIL: MASSIMO.MOLTENI@BP.LNF.IT

Linea di ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Ente proponente

Ministero della Salute – Bando CCM 2011

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Coordinatore

IRCCS “E. Medea”

Collaborazioni

IRCCS E. Medea: Polo Regionale Lombardo e Polo Regionale Friulano; Università di Udine: Facoltà di Scienze della Formazione; Università di Padova: Facoltà di Psicologia

Periodo di svolgimento

22.03.2012 – 21.03.2014

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

La competenza nella gestione di codici comunicativi complessi, fondamentale per una buona integrazione sociale in un contesto sempre più globale e multietnico, si fonda sulla acquisizione di un adeguato codice comunicativo linguistico.

Diversi e complessi fattori neurobiologici e ambientali mutuamente interagenti tra loro sono all'origine della acquisizione di questa competenza: sembra essere confermata una predisposizione ereditaria a sviluppare il disturbo, e, non sorprendentemente, i geni di suscettibilità coinvolti hanno un ruolo proprio nei processi di formazione della corteccia cerebrale in fasi precoci dello sviluppo neonatale.

Allo stato attuale, sono soprattutto i fattori ambientali ad influenzare in modo rilevante il futuro sviluppo delle abilità di linguaggio e di lettura già nelle fasi iniziali dello sviluppo.

Dati epidemiologici su popolazione generale indicano che dal 5% all'8% della popolazione scolastica manifesta un disturbo specifico del linguaggio

(language disorders), pur in presenza di normale sviluppo cognitivo ed intellettuale e in assenza di ipoacusia o di danni neurologici, che può essere suddiviso secondo i criteri del DSM IV in disturbo espressivo, disturbo misto (recettivo/espressivo), disturbo recettivo.

Nonostante i “problemi del linguaggio” siano uno dei motivi di maggiore consultazione pediatrica nei primi anni di vita, la segnalazione viene fatta tardivamente, in prossimità dell’ingresso o addirittura durante il primo anno di scuola primaria.

La presenza di disturbi nello sviluppo del linguaggio, frequentemente erroneamente non considerati come un problema rilevante, si accompagna di frequente ad un incremento del rischio di sviluppare problemi comportamentali e sociali che persistono anche durante l’adolescenza: aumentato rischio di sviluppare patologie psichiatriche, frequenti fallimenti scolastici, aumentato ricorso a misure di sostegno scolastico specifico, legate, in percentuale molto elevata, anche al successivo strutturarsi di una dislessia evolutiva, che affligge il 4% dei bambini che frequentano la scuola e spesso correlata ad anomalo sviluppo linguistico pre-scolare: i disturbi della lettura vengono diagnosticati dagli 8 anni quando sono già evidenti, oltre alle difficoltà tipiche di lettura, anche problematiche secondarie al disturbo che investono altri e più vasti ambiti dell’apprendimento scolastico, nonché problemi di comportamento e di adattamento per il senso di frustrazione e di sofferenza legati all’insuccesso scolastico.

Il carico sociale di queste patologie è molto rilevante, perché spesso impedisce il raggiungimento di adeguate competenze curricolari, nonostante un adeguato livello cognitivo.

Conferme sperimentali indicano che una individuazione tempestiva dei disturbi di linguaggio (idealmente entro i 3 anni di vita) e una precoce individuazione di predittori neuropsicologici per l’insorgere di futuri disturbi della lettura nei primi anni della scuola primaria consentono di impostare interventi efficaci in grado di far evolvere positivamente le competenze linguistiche e potenzialmente preventivi per la dislessia, attraverso la trasmissione di competenze specifiche ai contesti di vita del bambino. In tal modo i bambini possono trovarsi allo stesso livello dei coetanei al momento dell’ingresso nella scuola primaria e giocare come loro le opportunità di crescita emotiva e di apprendimento.

Le conoscenze scientifiche disponibili convergono nel mostrare che il periodo sensibile per uno sviluppo tipico delle abilità di linguaggio e di lettura è individuabile in epoche molto precoci della vita, ben prima cioè della comparsa delle prime manifestazioni cliniche in epoca scolare.

Carenze molto precoci a livello dei processi fonologici condizionano negativamente il corretto sviluppo dei processi di acquisizione linguistica e di let-

tura: a questi fattori si sommano anche anomalie nello sviluppo di funzioni di tipo visuo-percettivo e visuo-attentivo che consentono di definire questi problemi come “multisistemici”.

Soluzioni proposte sulla base delle evidenze

Al fine di determinare il profilo di rischio specifico per ciascun bambino, di monitorarne l'evoluzione e di realizzare appropriati interventi preventivi, sulla base delle evidenze scientifiche presenti, si propone di effettuare uno studio longitudinale attraverso:

- Uno screening sulla popolazione della scuola dell'infanzia in due regioni differenti (Lombardia e Friuli Venezia Giulia) nei territori delle province e dei comuni di Lecco e Udine per individuare, attraverso strumenti di screening scientificamente validati e adattati al contesto linguistico italiano, i bambini a rischio di sviluppare disturbi del linguaggio e future forme di dislessia.
- Un intervento preventivo sul campione a rischio attraverso un arricchimento ambientale attuato con un potenziamento formativo delle competenze specifiche possedute dagli ambienti di vita frequentati dal bambino (scuola e famiglia)
- Un intervento di informazione/formazione sui pediatri di libera scelta dei distretti interessati al campionamento, per migliorare la capacità di una tempestiva individuazione dei soggetti a rischio.

Si prevede di reclutare un campione composto da 1000 bambini frequentanti la scuola dell'infanzia, proveniente da due regioni differenti, previa acquisizione della adesione delle scuole e del consenso informato, strutturando due campioni omogenei per sesso e per condizioni socio-ambientali.

I campioni così selezionati verranno sottoposti a screening tramite specifici questionari validati dalla letteratura internazionale. e verranno raccolte informazioni su fattori di rischio individuali, ambientali e sociali.

Una parte dei soggetti positivi allo screening seguiranno un intervento ecologico di potenziamento delle abilità linguistiche nei naturali ambienti di vita frequentati dal bambino ottenibile attraverso la formazione del personale a contatto con il bambino.

L'intero campione verrà valutato al termine del progetto per le specifiche funzioni cognitivo-linguistiche, visuo-percettive e visuo-attentive così da evidenziare

- La predittività su un campione italiano del testing di screening effettuato
- Le capacità degli interventi di potenziamento attuati nell'ambiente di vita di modificare l'evoluzione spontanea del disturbo.

Il progetto renderà così disponibile un set specifico di screening effettuabile potenzialmente nella fase critica dello sviluppo delle competenze linguisti-

che, un modalità formativa di potenziamento delle competenze nei contesti di vita dei bambini, applicabile diffusamente, un aumento delle conoscenze nel personale sanitario (pediatri di libera scelta), sperimentando una modalità di risposta assistenziale innovativa per il coinvolgimento attivo anche del contesto familiare e scolastico e potenzialmente in grado di ridurre i costi assistenziali di sistema, conseguenza di una diagnosi spesso tardiva.

Fattibilità /criticità delle soluzioni proposte

L'IRCCS "Eugenio Medea" – Associazione "La Nostra Famiglia" –, all'interno dei progetti di ricerca sui disturbi del linguaggio e della lettura che, coerentemente con il suo riconoscimento Istituzionale, ha implementato negli ultimi anni, ha sviluppato e ha già utilizzato con successo una serie di test utilizzabili come predittori precoci per la dislessia ed ha standardizzato, in collaborazione con altri gruppi di ricerca nazionali – Università di Udine e di Padova - e internazionali – prof. Achenbach & Rescorla - strumenti per la diagnosi e lo screening tempestivo dei disturbi del linguaggio, utilizzabili nei primi anni della scuola dell'infanzia in grado di identificare precocemente i bambini a rischio. È in possesso inoltre di specifiche expertise organizzative per studi epidemiologici in età evolutiva, come attestato da progetti di ricerca già ultimati (es. Progetto Prisma) e dalle relative pubblicazioni scientifiche. Una possibile criticità è legata alla sensibilità del contesto sociale e alla disponibilità da parte del personale scolastico ad acquisire competenze utilizzabili nell'ambito della vita quotidiana: di norma la collaborazione a livello di scuola dell'infanzia, è molto alta.

BIBLIOGRAFIA

- Achenbach T M, & Rescorla LA (2002). Use of the language development survey (LDS) in a national probability sample of children 18 to 35 months old. *Journal of Speech, Language, and Hearing Research*
- Baxendale J, Hesketh A (2003). Comparison of the effectiveness of the Hanen Parent Programme and traditional clinic therapy. *Int J Lang Commun Disord*;38:397–415.
- Bird J, Bishop DVM., & Freeman N H (1995). Phonological awareness and literacy development in children with expressive phonological impairments. *Journal of Speech and Hearing Research*, 38, 446–462.
- Buschmann A, Jooss B, Rupp A, Feldhusen F, Pietz J, and Philippi H (2009). Parent based language intervention for 2-year-old children with specific expressive language delay: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child*; 94:110–116.

- Dale PS, Price TS, Bishop DVM, et al. (2003). Outcomes of early language delay: I. Predicting persistent and transient language difficulties at 3 and 4 years. *J Speech Lang Hear Res*;46:544–60.
- Marini A, Tavano A, Fabbro F. (2008). Assessment of narrative abilities in Italian children with Specific Language Impairment. *Neuropsychologia*, 46, 2816-2823.
- Rescorla L, Mirak J, Singh L (2000a). Vocabulary growth in late talkers: lexical development from 2;0 to 3;0. *J Child Lang*;27:293–311.
- Rescorla L, Dahlsgaard K, Roberts J (2000b). Late-talking toddlers: MLU and IPSyn outcomes at 3;0 and 4;0. *J Child Lang*;27:643–64.
- Rescorla L, Ratner NB, Jusczyk P, Jusczyk AM (2005). Concurrent Validity of the Language Development Survey: Associations With the MacArthur-Bates Communicative Development Inventories: Words and Sentences. *American Journal of Speech - Language Pathology*
- Robertson SB, Weismer E (1999). Effects of treatment and social skills in toddlers with delayed language development. *J Speech Lang Hear Res*;42:1234–48.
- Roulstone S, Peters TJ, Glogowska M, et al. (2003). A 12-month follow-up of preschool children investigating the natural history of speech and language delay. *Child Care Health Dev*;29:245–55.
- Shevell MI, Majnemer A, Webster RI, et al. (2005). Outcomes at school age of preschool children with developmental language impairment. *Pediatr Neurol*;32:264–9.
- Snowling MJ, Bishop DVM, Stothard SE, et al. (2006). Psychosocial outcomes at 15 years of children with a preschool history of speech-language impairment. *J Child Psychol Psychiatry*;47:759–65.

IL CONTRIBUTO GENETICO ALLA ORGANIZZAZIONE CORTICALE E SOTTOCORTICALE DELLE VIE UDITIVE: STUDIO FUNZIONALE E DI CONNETTIVITÀ CEREBRALE NELLA SINDROME DI WILLIAMS

DR. RENATO BORGATTI

E-MAIL: RENATO.BORGATTI@BP.LNF.IT

Linea di ricerca n. 1

Neuropatologia

Tipo di ricerca

Ricerca con contributo 5 per mille 2008

Periodo di svolgimento

01.04.2011 – 31.03.2013

Polo Scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Fase 1: studio della via inibitoria olivo-cocleare in soggetti affetti da sindrome di Williams.

Fase 2: studio con neuroimaging (connettività, DTI) in pazienti selezionati in fase 1 (con e senza alterazioni della via inibitoria olivo coclearie)

Razionale

Le caratteristiche della sostanza bianca sono ereditabili e sono importanti determinanti delle differenze individuali nei processi cognitivi; alterazioni possono avere profonde conseguenze nella organizzazione cerebrale; la delezione presente nella sindrome di Williams include geni cruciali per la migrazione e maturazione neuronale. Le caratteristiche cliniche e funzionali di questa patologia genetica consentono quindi uno studio privilegiato della correlazione struttura funzione e stanno fornendo in questi anni informazioni uniche anche sulle modalità di organizzazione delle funzioni cerebrali in condizioni non patologiche. È riportata una riduzione complessiva del volume cerebrale (Campbell et al., 2009; Chiang et al., 2007; Reiss et al., 2000; Reiss et al., 2004; Schmitt, Eliez, Bellugi, & Reiss, 2001), con relativa preservazione del giro temporale superiore (Chiang et al., 2007; Reiss et al., 2000; Reiss et al., 2004), che comprende la corteccia uditiva primaria e il planum temporale. Sono state dimostrate alterazioni nella direzione dei tratti posteriori delle fibre

(studio DTI; Marengo et al 2007), con aumento delle fibre orientate longitudinalmente e diminuzione di quelle con orientamento mediolaterale; questo ha portato all'ipotesi che uno o più dei geni coinvolti nella emidelezione possa essere coinvolto nella guida degli assoni attraverso la linea mediana o nell'orientamento mediolaterale, e che quindi l'ipofunzione dei geni possa comportare un riarrangiamento antero posteriore (in analogia con meccanismo già dimostrato per altri geni quali Netrin1 e deleto nel cancro del colon Ren et al., 2007)

Una caratteristica clinica descritta in una percentuale elevata di soggetti è l'ipoacusia; in particolare Marler (2010) sostiene che l'ipoacusia sia essenzialmente neurosensoriale di origine cocleare e che sia molto comune (63% dei soggetti in età scolare e 92% degli adulti), abbia un esordio precoce e sia progressiva. Inoltre, Marler (2010) ha dimostrato anche una disfunzione cocleare subclinica nei soggetti normoacusici, mediante lo studio delle Otoemissioni acustiche evocate. I nostri dati (in pubblicazione) sono in linea con la letteratura, pur differendo in termini di incidenza; in particolare il 20% dei nostri pazienti con S. di Williams ha una ipoacusia neurosensoriale e/o trasmissiva e solo il 10% dei nostri pazienti ha una ipoacusia neurosensoriale; il follow up di circa 10 anni ha dimostrato una tendenza al peggioramento della soglia sulle frequenze acute compatibilmente con una peculiare fragilità della coclea; quest'ultima ipotesi è stata ulteriormente suffragata dall'assenza delle Otoemissioni acustiche nel 50% dei nostri soggetti normoacusici e dalle caratteristiche anormali delle Otoemissioni di questi soggetti studiate con tecniche particolari (analisi tempo-frequenza).

Un ulteriore sintomo lamentato dai bambini affetti da S. di Williams è l'iperacusia o ipersensibilità ai suoni; è descritta nel 90% dei bambini e tende a diminuire nell'adolescenza. Rimangono al momento poco chiare le cause ed i meccanismi dell'iperacusia.

Una possibile spiegazione di questo fenomeno è la disfunzione del fascio efferente olivo-cocleare, fascio in grado di modulare l'attività delle cellule ciliate esterne al fine di proteggere la coclea (con meccanismo inibitorio) e di migliorare l'attenzione selettiva nel rumore; la mancanza della modulazione centrale potrebbe spiegare non solo l'iperacusia ma anche la disfunzione cocleare da noi dimostrata.

Scopo di questo studio (fase 1) è verificare l'efficienza del fascio olivo-cocleare mediante il test di inibizione controlaterale (Collet 1993) previo inquadramento audiologico dei soggetti reclutati.

Nella fase successiva (fase 2) soggetti individuati nella fase 1 quali portatori/non portatori di disfunzione cocleare verranno sottoposti a studio di neuroimaging (DTI e Fcon MRI), con lo scopo di studiare l'organizzazione della sostanza bianca (corticale e sottocorticale)

MATERIALI E METODI

Partecipanti:

20 soggetti portatori di Sindrome di Williams (WS) e 20 soggetti controllo – tipically developing (TD) con PTA < 20 dB HL fino a 8KHz

Matching per età: il matching sarà compito specifico e quindi sulla componente uditiva

Valutazioni:

Valutazione audiologica (somministrata ad entrambi i gruppi: WS e TD)

audiometria tonale e ad alta frequenza

timpanometria e ricerca riflesso stapediale

TEOAE con inibizione

DPOAE

Valutazione neurocognitiva:

Gruppo TD: Questionario (anamnestico; competenze scolastiche e cognitive). (obiettivo: inclusione di soggetto TD)

WS participants: IQ (scala Wechsler)

Batteria Fabbro (competenze linguistiche)

DEFINIZIONE DEL DIFETTO MOLECOLARE IN UNA POPOLAZIONE DI SOGGETTI AFFETTI DA FORME SINDROMICHE DI RITARDO MENTALE E QUADRI NEURODEGENERATIVI: ANALISI DI SEQUENZE, MECCANISMI MOLECOLARI E ANALISI STATISTICA DELLE VARIANTI FUNZIONALI ASSOCIATE

DR.SSA MARIA TERESA BASSI

E-MAIL: MARIATERESA.BASSI@BP.LNF.IT

Linea di ricerca n. 5

Neurobiologia

Tipo di ricerca

Ricerca con contributo 5 per mille 2008

Periodo di svolgimento

01.03.2011 – 31.08.2013

Polo Scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

La complessità e l'eterogeneità clinica del ritardo mentale sindromico sono strettamente legate all'ampia eterogeneità nei meccanismi patogenetici che sottendono a questo gruppo di patologie. Tra le cause più comuni riscontrate fino ad ora in sottogruppi diversi di questi pazienti sono da considerarsi sia mutazioni puntiformi in singoli geni sia riarrangiamenti cromosomici che coinvolgono ampie regioni genomiche con perdita, duplicazione o traslocazione di materiale genetico sia sul cromosoma X sia in altri cromosomi. In questa proposta ci siamo focalizzati solo sulle forme sindromiche caratterizzate da un livello di RM medio-grave associate a quadri plurimalformativi complessi inclusi quelli coinvolgenti le strutture corticali, quadri neurodegenerativi ed epilessia. Questo gruppo molto eterogeneo di patologie rappresenta il gruppo di patologie che più frequentemente afferiscono all'Istituto.

All'interno di questo gruppo di patologie, il primo sottogruppo meglio definito è rappresentato dalle malformazioni dello sviluppo corticale, lissencefalie, polimicrogirie e pachigirie e quadri intermedi ad esse correlate (al momento 85 pazienti). Un secondo gruppo di pazienti è rappresentato da forme che comprendono deficit cognitivi gravi, atassia, spasticità ed epilessia più frequentemente mioclonica, in generale non riconducibili a forme sindromiche

note (tot 34 pazienti). In questo gruppo sono presenti alcune forme famigliari con quadri di risonanza e markers serologici riconducibili a leucodistrofie e forme di distrofie neuorassonali.

Un terzo gruppo più ristretto di pazienti (tot 10) hanno un quadro degenerativo grave molto simile a ceroidolipofuscinosi ma negativi per i geni associati al momento a questo gruppo di patologie.

Un quarto gruppo di pazienti molto numeroso è caratterizzato da ritardo mentale associato a forte ritardo nello sviluppo psicomotorio e gravi deficit motori, in presenza di un quadro alterato alla risonanza (ad es. dilatazione dei ventricoli, atrofia corticale). Nella stragrande maggioranza dei casi questa tipologia di pazienti rientra nel gruppo estremamente eterogeneo delle paralisi cerebrale infantili.

OBIETTIVI

Il principale obiettivo in questo progetto è la caratterizzazione genetica di questi singoli gruppi di pazienti sulla base di una corretta classificazione clinica e neuroradiologica condotta nell'ambito dell'attività clinica dell'istituto. Tale obiettivo verrà raggiunto tramite sequenziamento diretto dei geni implicati nelle forme descritte, sia quelli già noti sia quelli che emergeranno dalla letteratura durante il corso del progetto. Nella maggior parte di questi pazienti l'analisi tramite array-cgh è già stata condotta ed è risultata negativa. I soggetti in cui l'analisi è risultata positiva evidenziando quindi una variazione nel numero di copie di tratti del DNA si proseguirà con la caratterizzazione molecolare del riarrangiamento.

Si prevedono i seguenti obiettivi intermedi:

a) Nell'ambito del primo gruppo di pazienti verrà condotta un'analisi di mutazione dei geni responsabili di lissencefalie, pachigire, polimicrogirie quali LIS1, ARX, HEASX1, GPR56, EMX2, SRPX2 e tubuline sulla base del quadro clinico e neuroradiologico presentato. I geni ugualmente coinvolti in queste forme quali REL, FLNA sono già stati esclusi in altri laboratori.

In aggiunta alla tradizionale analisi mutazione puntiforme verrà condotta anche un'analisi per l'esclusione di delezioni in eterozigosi tramite MLPA utilizzando un kit specifico contenente onde derivanti da geni diversi coinvolti in forme di MCD quali LIS1, FLNA, RELN, POMT1, POMGNT1, YWHAE, HIC1, METT10D, KIAA0664, GARNL4, TRPV1. La composizione delle sonde nel kit è in continua evoluzione in modo da includere progressivamente i vari geni che in letteratura risultano coinvolti in queste forme.

b) Nel secondo e terzo gruppo di pazienti verranno analizzati i geni MECP2, CDKL5, ARX, SCN1A, STXBP1 e PCDH19; successivamente in base all'evoluzione del quadro clinico ove possibile verranno analizzati geni coinvolti

in forme neurodegenerative quali APTX, SETX, NTE, PLA2G6 e FA2H.

c) Nel quarto gruppo di pazienti verranno escluse tutte quelle forme di paraparesi spastica che come dimostrato in letteratura possono dare quadri simili e diagnosticabili come PCI. Verranno quindi escluse mutazioni in SPG3A SPG4 SPG11 SPG15 in base al quadro clinico, all'età d'esordio, familiarità e tipo di progressione della patologia. Altri geni potranno essere considerati in base a quanto emergerà dalla letteratura nel corso del progetto. Analogamente a quanto descritto sopra per altri casi anche in questi casi verranno escluse sia mutazioni puntiformi sia delezioni o riarrangiamenti in eterozigosi tramite la tecnica dell'MLPA ove disponibile il kit specifico.

Sulla base dell'esperienza maturata all'interno del laboratorio, le varianti più significative che verranno identificate in alcuni dei geni sopra descritte potranno essere caratterizzate anche dal punto di vista funzionale in modelli cellulari murini di differenziamento neuronale. Parallelamente l'uso di tecniche e softwares pubblicamente disponibili permetterà di condurre analisi statistiche e bioinformatiche di predizione delle possibili varianti funzionali identificate.

d) Nei casi in cui l'analisi di array-cgh abbia dato dei risultati positivi i riarrangiamenti evidenziati verranno analizzati da un punto di vista molecolare. Alcuni riarrangiamenti, sia ricorrenti che sporadici, sono associati a sequenze di DNA che sono in grado di promuovere sia ricombinazione omologa ineguale che ricombinazione non omologa. Le ricombinazioni omologhe sono spesso mediate da regioni paraloghe sullo stesso o su altri cromosomi e generano una varietà di delezioni, duplicazioni e traslocazioni. Le ricombinazioni non omologhe ricorrenti sembrano essere correlate alla presenza di specifiche sequenze potenzialmente instabili, la cui instabilità è spesso dovuta alla presenza di sequenze ripetute di dimensioni variabili chiamate low copy repeats (LCR).

Intendiamo analizzare mediante sequenziamento i punti di rottura di una serie di riarrangiamenti cromosomici individuati con la metodica dell'array-CGH in soggetti con ritardo cognitivo, sindromi epilettiche, disordini neuromuscolari. Tale esame permetterà di individuare sia eventuali sequenze geniche la cui interruzione è causa della malattia che l'identità delle sequenze coinvolte nella rottura cromosomica alla base di ogni riarrangiamento e della conseguente patologia.

RISULTATI ATTESI

Il risultato principale derivante da un approccio di questo tipo ad una casistica complessa ed eterogenea come quella sopra descritta è la definizione del difetto molecolare in questi pazienti, alla base per un migliore inquadramen-

to clinico del paziente anche nell'ottica di una migliore e più efficace programmazione del suo iter riabilitativo, nei casi in cui ciò si renda necessario.

EZIOPATOGENESI DEI DISTURBI COGNITIVI NELLA DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE: DALLE VALUTAZIONI COGNITIVE AL BRAIN IMAGING

DR.SSA MARIAGRAZIA D'ANGELO

E-MAIL: GRAZIA.DANGELO@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 2

Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

Tipo di ricerca

Ricerca con contributo 5 per mille 2008

Collaborazioni

IRCCS E. Medea: Unità Operativa NR2, Bosisio Parini; Centro Studi di Neuroimaging dell'età Evolutiva CeSNE

Periodo di svolgimento

01.06.2011 – 31.12.2012

Polo Scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Background

La presenza di ritardo cognitivo non progressivo è ampiamente riconosciuto come una manifestazione comune in una buona proporzione di soggetti affetti da distrofia muscolare di Duchenne (DMD). Un ritardo cognitivo globale o un disturbo del linguaggio può essere addirittura il sintomo d'esordio della malattia (Ciafaloni, 2009).

Una meta-analisi condotta da Emery ha documentato i dati sui quozienti intellettivi di 712 ragazzi affetti da DMD: il QI era in media attorno ad 82 (circa 1 DS al di sotto della media della popolazione), il 19% aveva un QI < 70 (in genere accettato con cut-off per diagnosi di Ritardo Mentale) ed il 3% un QI < 50 (Ritardo mentale moderato o severo). È ampiamente descritta inoltre una discrepanza tra QI verbale e QI performance, con un maggior deficit alla prove verbali.

Deficit verbali caratterizzati per lo più da scarse capacità espressive verbali, deficit nella memoria a breve termine e deficit specifici di apprendimento di lettura, scrittura e calcolo associate a competenze visuo- spaziali sostanzial-

mente integre sono frequentemente riportati nei bambini di lingua inglese e francese.

Alcuni Autori hanno sottolineato come i deficit della working memory e quelli dei processi fonologici possano essere alla base delle ridotte competenze di apprendimento scolastico (in particolare, della lettura) dei soggetti affetti da DMD.

Uno studio recentemente condotto nel nostro Istituto (sottomesso a rivista *Brain and Language* nel luglio 2010) in una popolazione di 42 soggetti affetti da distrofia muscolare di Duchenne ha evidenziato un ritardo cognitivo globale, caratterizzato da QI verbale, QI di performance e QI totale inferiori alla norma; per quello che riguarda le competenze linguistiche, le capacità espressive erano nei limiti di norma mentre la comprensione sintattica e grammaticale erano significativamente deficitarie rispetto ai controlli di pari età e con pari deficit motorio (affetti da SMA o Osteogenesi imperfetta). Questo comportava la presenza di modesti problemi nella lettura anche nel gruppo di bimbi DMD italiani studiati. Per quello che riguardava alcune competenze neurocognitive studiate, l'attenzione visiva risultava deficitaria nei soggetti affetti da DMD ma il confronto perdeva la significatività quando rapportato al QI. Un dato interessante era il pattern di correlazioni, che evidenziava legami delle difficoltà di lettura non tanto con le abilità fonologiche e la working memory (come riportato per i soggetti di lingua francese e inglese), ma soprattutto lessicali e di memoria verbale a lungo termine. Questo potrebbe indicare un ruolo non solo del cervelletto, ma anche dei sistemi cortico-cerebellari e dell'ippocampo, nel determinare le difficoltà di lettura nei DMD che apprendono sistemi ortografici trasparenti come l'italiano.

La distrofia muscolare di Duchenne è causata dall'assenza della distrofina, una proteina di 427kDa associata al sarcolemma del muscolo scheletrico e liscio; due isoforme alternative però della medesima proteina sono espresse a livello della corteccia cerebrale e del cervelletto e giocano un ruolo essenziale nello sviluppo e nel funzionamento neuronale. Queste isoforme si localizzano nelle cellule gliali e endoteliali vascolari, nei neuroni ippocampali e nelle cellule di Purkinjie mature.

Isoforme cerebrali più corte sono la Dp 71e la Dp140, entrambe espresse a livello cerebrale in aggiunta alle isoforme full-length; la loro sintesi è rispettivamente iniziata tra l'esone 62 e 63 del gene della distrofina (per la Dp71) e a monte dell'esone 45 (per la Dp140).

Riarrangiamenti nella seconda porzione del gene della distrofina sono più frequentemente associati ai disturbi cognitivi; molti lavori hanno sottolineato il ruolo della regione codificante della Dp71. Daoud molto recentemente ha riportato un vasto studio su 81 soggetti affetti da DMD e da BMD nel quale si sottolinea il ruolo pregnante della mancanza di Dp71 nello shift di 2 SD

del quoziente intellettivo, mentre un ritardo mentale severo nei pazienti con mutazioni che coinvolgono la Dp140 è raramente riscontrato.

Questi stessi autori peraltro sottolineano che i pazienti con mutazioni collocate a livello della regione della Dp140 presentano un ritardo mentale lieve (QI 50-70) molto più frequentemente di soggetti con delezioni nella regione prossimale del gene, che preserva quindi la Dp140.

Due studi condotti presso il Nostro Istituto (Felisari 2000, Bardoni 2000) hanno mostrato un'associazione significativa tra macrodelezioni distali coinvolgenti la Dp140 e ritardo cognitivo sia nei DMD che nei BMD.

Proprio in relazione a questi studi, negli scorsi due anni, abbiamo approfondito la relazione tra mutazioni sul gene della distrofina e deficit cognitivi specifici.

Nel gruppo di 42 bambini DMD italiani studiati, sembrano emergere, oltre alle già citate difficoltà di comprensione sintattica e grammaticale e alle difficoltà di lettura estese a tutta la popolazione, alcune peculiarità associabili alla sede della delezione. I DMD con delezione distale (a valle di esone 44 gene DMD, con alterazione quindi di Dp140) presentano un più severo deficit cognitivo rispetto ai bambini con delezione prossimale (a monte di esone 44) con deficit più marcati nelle abilità di performance (soprattutto memoria visiva e integrazione visuo-spaziale), nella memoria verbale a breve termine e nella comprensione sintattica.

Allo stato attuale dell'arte, gli studi neuropatologici e di brain imaging nei soggetti DMD non sono riusciti a chiarire l'eziopatogenesi dei disturbi cognitivi.

A livello microscopico neuropatologico, sono descritte perdita neuronale, eterotopia, gliosi, placche neurofibrillari, perdita delle cellule del Purkinjia ma queste anomalie cerebrali sono frutto di descrizioni di casi sporadici e non hanno una chiara correlazione con il quadro clinico cognitivo.

Studi tramite PET (positron emission tomography) (Bresolin 1994) hanno mostrato una riduzione dell'uptake di fluorodeossiglucosio a livello cerebellare nei bambini DMD ma non in bimbi affetti da pari deficit motorio non legato a mancanza di distrofina (SMA). Questo ipometabolismo è più evidente a livello del giro temporale postcentrale e mediale destro, dell'uncus e del cervelletto così come del giro ippocampale sinistro.

La nota elevata espressione di distrofina a livello di ippocampo e di cervelletto potrebbe spiegare sia i dati di ipometabolismo evidenti nei DMD sia i quadri cognitivi descritti.

Obiettivo dello studio

Nell'anno 2007, in collaborazione con l'Unità di Neuroradiologia del Policlini-

co di Milano (Dott.ssa Costa) è stato eseguito di RMN funzionale, un piccolo studio in 3 soggetti affetti da distrofia muscolare di Duchenne confrontati ad 1 soggetto affetto da SMA.

In quell'occasione, a partire dai dati neurocognitivi, sono stati utilizzati 3 test tre differenti test (attenzione visiva, attenzione uditiva e comprensione grammaticale tratti dalla batteria NEPSY (Developmental Neuropsychological Assessment) (Test di attenzione uditiva e visiva) e dalla Batteria 4-12 (Battery for linguistic assessment of children from 4 to 12 years, Fabbro, 1999) (Test di comprensione grammaticale).

Tutti i soggetti avevano eseguito in modo corretto tutti e tre i tasks con tempi di reazione maggiori per il Test d'attenzione visiva.

Nei pazienti Duchenne si era evidenziata una povertà globale di attivazioni se confrontate al paziente controllo SMA ed al controllo del volontario sano. Inoltre le attivazioni cerebellari dei pazienti Duchenne erano povere o quasi del tutto assenti al confronto con quanto si verifica nei controlli sani.

Tale osservazione poteva correlarsi con gli studi PET, in cui si dimostrava appunto un ipometabolismo del glucosio in aree specifiche cerebrali tra cui il cervelletto, area in cui l'espressione della distrofina è elevata.

L'insieme dei dati sovradescritti (il disordine cognitivo riconosciuto in tutti gli studi, la specificità di deficit della sfera del linguaggio in relazione alla madre lingua del soggetto DMD, la correlazione con la delezione specifica sul gene DMD ed in ultimo, il nostro dato, di specificità di punti di forza e di punti di debolezza in ambito cognitivo in base alla sede della delezione) rendono ragione della necessità di studiare in maniera approfondita le strutture cerebrali dei soggetti DMD sia in condizioni di "riposo" sia in corso di attivazione delle varie aree cerebrali durante lo svolgimento di un compito selezionato su una popolazione più estesa di soggetti DMD con l'obiettivo di chiarire in maniera esaustiva l'entità del ruolo della distrofina nello sviluppo-funzionamento cerebrale.

Lo studio pertanto si prefigge di studiare:

- 5 pazienti affetti da distrofia muscolare di Duchenne con mutazioni "prossimali" e 5 pazienti con delezioni distali, di età compresa tra gli 8 e i 12 anni
- 5 pazienti con pari deficit motorio (non legato a deficit di distrofina e senza alterazioni strutturali cerebrali note) di pari età.

Si prevede pertanto:

1) Definizione dei protocolli di studio che prevedono:

- Analisi di dati cognitivi e studio multidisciplinare per implementazione di test da applicare in ambito di RMN funzionale
- Definizione di modalità di RMN morfologica e strutturale approfondita

tramite L'acquisizione di dati DTI può fornire utili informazioni sulle alterazioni strutturali dell'encefalo, ed in particolare della sostanza bianca, non rilevate dalle tradizionali sequenze morfologiche. In assenza del dato istologico, il DTI e le misure da esso derivate (Fractional Anisotropy, Apparent Diffusion Coefficient, Lattice Index, Eigenvalues ed Eigenvectors, Skewness...) rappresentano indicatori sensibili, affidabili, e soprattutto quantificabili, in-vivo, della integrità strutturale della sostanza bianca, che si può supporre essere alterata nei soggetti DMD in relazione alla diversa espressione della distrofina.

- 2) Acquisizione dei dati
- 3) Analisi dei dati ottenuti e correlazione con la clinica
- 4) Stesura di lavori scientifici

RICERCA DI POTENZIALI TARGET PROTEICI PER IL LEGAME DELLE MICOTOSSINE E LORO COINVOLGIMENTO NELL'INSORGENZA DELLA SINDROME AUTISTICA

DR.SSA MARIA ELISABETTA RAGGI

E-MAIL: MARIAELISABETTA.RAGGI@BP.LNF.IT

Linea di ricerca n. 5

Neurobiologia

Tipo di ricerca

Ricerca con contributo 5 per mille 2008

Periodo di svolgimento

01.03.2011 – 28.02.2012

Polo Scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Background e risultati preliminari

Dati preliminari su pazienti autistici hanno permesso di riscontrare una correlazione tra un elevato tasso di micotossine nei fluidi biologici e gravità delle manifestazioni cliniche. Poiché una maggior frequenza di intolleranze alimentari è già stata descritta in questo tipo di pazienti, rispetto alla popolazione sana, e una correlazione tra intolleranze alimentari e disturbi del SNC è già stata ipotizzata, abbiamo indagato la possibilità che anche le micotossine possano essere coinvolte nello sviluppo dell'autismo tramite il legame a target proteici in pazienti suscettibili.

A questo scopo è stata applicata una strategia di "docking inverso" in cui, tramite metodiche computazionali, si ricercano, all'interno di un database di strutture di proteine, quali siano quelle in grado con maggiore probabilità di legarsi ad un ligando di interesse. Questo permette di identificare anche target "insospettabili" che di solito non vengono presi in considerazione quando si ricercano interazioni tra proteine e ligandi.

Nel nostro caso, la strategia del docking inverso è stata applicata a quattro micotossine: l'**ocratossina**, la **gliotossina**, la **fumonisina B1** e **B2**, per le quali si è cercato di individuare possibili target proteici a cui queste micotossine sono potenzialmente in grado di legarsi, facendo scaturire alterazioni patologiche capaci di sfociare, in soggetti predisposti, anche nell'autismo.

Questa procedura ha permesso di individuare diversi target proteici, alcuni dei quali agiscono in processi fisiologici e patologici che coinvolgono il SNC e che potrebbero essere il bersaglio del legame di queste micotossine, con possibili alterazioni dei percorsi metabolici in cui queste proteine sono coinvolte. Questi target sono elencati nella tabella allegata. La significatività di questi risultati è supportata dal fatto che i target identificati per ogni micotossina non sono ugualmente ripartiti nelle varie classi funzionali, ma la loro abbondanza relativa rispecchia le specifiche singolarità di ogni micotossina e le azioni tossiche, già note, che queste micotossine svolgono nell'organismo umano. In tutti i casi, inoltre, l'abbondanza relativa dei target coinvolti nel funzionamento del SNC è più alta del valore che ci si aspetterebbe nel caso di un riconoscimento causale e aspecifico. Questo sta a significare che i potenziali target che sono stati identificati con questa procedura sono effettivamente strettamente correlati all'azione delle micotossine.

Tra i target identificati, alcuni sono particolarmente interessanti sia perché è già stata ipotizzata nel passato una loro associazione con l'autismo, sia perché sono localizzati sui cromosomi sessuali (dato importante, essendo noto il rapporto 4:1 di comparsa dell'autismo nei soggetti di sesso maschile rispetto alle femmine) o su altri cromosomi in loci in cui è già stata postulata un'associazione con l'autismo. In particolare appare di grande interesse il fatto che la strategia del docking inverso abbia identificato tra i possibili target le proteine appartenenti alla famiglia strutturale delle acetilcolinesterasi, e le MAO. Nel primo caso, è da sottolineare che in un ristretto numero di pazienti autistici (<1%) sono state descritte mutazioni nei geni NLGN3 e NLGN4X e NLGN4Y appartenenti alla famiglia delle neuroligine, un sottogruppo strutturale delle colinesterasi che, nel nostro studio, risultano legarsi alle micotossine. Questi tre geni codificano per proteine coinvolte nella funzionalità sinaptica e sono collocati sui cromosomi sessuali. Nel secondo caso, le monoamminoossidasi (MAO) sono un gruppo di enzimi con un ruolo fondamentale nel metabolismo dei neurotrasmettitori, per i quali è stata creata una classe di farmaci di utilizzo nella depressione maggiore.

PROPOSTA PROGETTUALE

Date queste evidenze, la nostra proposta di attività si articola in questi step:

1. analisi, tramite metodi di biologia molecolare classica, dei geni delle Neuroligine 3 e 4X dei pazienti con un alto tasso di micotossine nei fluidi biologici e confronto dei risultati ottenuti con gruppi di pazienti con bassi tassi di micotossine, per evidenziare l'eventuale presenza di mutazioni discriminanti di una maggiore suscettibilità all'azione nociva delle micotossine. Le analisi verranno effettuate su campioni di DNA estratti dal sangue di

pazienti autistici e da pazienti controllo, già disponibili presso Medea.

-
2. analisi comparativa dei risultati di biologia molecolare e di simulazioni computazionali con i dati clinici per cercare correlazioni genotipo/fenotipo.

RISULTATI ATTESI E PROSPETTIVE FUTURE

Confermare per via sperimentale l'ipotesi di un ruolo delle micotossine nell'insorgenza dell'autismo in una sottopopolazione di individui geneticamente predisposti, avrebbe un notevole impatto sia a livello di conoscenze di base dei meccanismi scatenanti l'autismo, sia a livello clinico in termini diagnostici, prognostici e terapeutici. Verrebbe per la prima volta provato l'effetto di un fattore ambientale/esogeno nell'insorgenza dell'autismo: tanti fattori finora sono stati postulati come possibili scatenanti, ma per nessuno si è raggiunta la certezza della prova. Inoltre, alcuni dei meccanismi tramite i quali si può scatenare l'autismo verrebbero chiariti, in quanto si potrebbero seguire con esattezza le relazioni causa-effetto all'interno dei pazienti.

SOGGETTI COINVOLTI

1. Selezione pazienti, raccolta campioni, estrazione DNA: IRCCS Medea
2. Analisi di biologia molecolare e analisi computazionali: ITB-CNR Segrate, IRCCS Medea

STUDIO CLINICO CONTROLLATO RANDOMIZZATO DI COMPARABILITÀ ED EFFICACIA DELLA TOSSINA BOTULINICA PURIFICATA PER IL TRATTAMENTO DELLA SPASTICITÀ NELLE PARALISI CEREBRALI INFANTILI

DR. ENRICO TREVISI

E-MAIL: ENRICO.TREVISI@CN.LNF.IT

Linea di ricerca n. 2

Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

Tipo di ricerca

Ricerca con contributo 5 per mille 2008

Periodo di svolgimento

01.04.2011 – 31.12.2011

Polo Scientifico

Conegliano e Pieve di Soligo

DESCRIZIONE SINTETICA

Nei paesi più industrializzati, l'incidenza della paralisi cerebrale infantile (PCI) si è attestata da tempo attorno al 2 per mille ed è logico pensare che anche in futuro questa patologia continuerà a rappresentare il fattore prevalente di disabilità motoria in età evolutiva.

Attualmente il trattamento delle PCI sta subendo una relativa rivoluzione in conseguenza di nuovi approcci su più settori, soprattutto per quanto concerne la disabilità motoria; in tale ambito l'acquisizione di maggior rilievo è ad oggi l'introduzione dell'uso della tossina botulinica, per via intramuscolare sui distretti muscolari più disturbanti la funzione motoria.

Gli effetti della tossina botulinica (BNT) sono noti dalla fine del XIX secolo ma solo dalla metà degli anni '90, si è affermata come un potente strumento nella lotta contro la spasticità, principalmente in età evolutiva: la scoperta di Burgen et al. nel 1949 che la BNT blocca la giunzione neuromuscolare riducendo il rilascio di acetilcolina, portò allo sviluppo della tossina come strumento terapeutico. Solo i sierotipi A e B vengono utilizzati a tale scopo nell'uomo: a livello commerciale la tossina è reperibile nella forma A, come Botox (Allergan), Dysport (IPSEN), Xeomin (Merz), Azzalure (Ipsen) e Vistabex (Allergan) (queste ultime due formulazioni hanno come indicazioni il solo trattamento delle rughe) o forma B come Neurobloc o Myobloc (Solstice Neurosciences). Nella Xeomin le proteine complessate vengono rimosse durante il processo

di preparazione del prodotto cosicché Xeomin contiene un'unica BNT monomera. Botox e Xeomin sono state considerate dalla Commissione Tecnica per la revisione del Prontuario Regionale della Regione Veneto come equivalenti per le indicazioni comuni (vedi allegato). Non sono tuttavia disponibili in letteratura studi di confronto diretto tra le due formulazioni di tossina in età evolutiva.

La BNT-A porta ad una chemodenervezione temporanea focale, con insorgenza di solito entro 24-72 ore e picco di effetto del trattamento all'incirca dopo 2 settimane. Il beneficio clinico dura di norma più di 12 settimane e può essere prolungato con una terapia coadiuvante (cinesiterapia, elettrostimolazione). Tuttavia in particolare nel bambino la frequente necessità di ripetere il trattamento, che spesso rappresenta un'esperienza traumatica per il piccolo paziente, rappresenta un potenziale limite all'uso del farmaco.

L'uso ed il dosaggio della tossina botulinica nella paralisi cerebrale infantile, in base al peso corporeo e all'età, sono stati stabiliti dall'European Consensus Table 2009 (Heinen 2010): in tale review si evidenzia come le uniche due preparazioni di neurotossina botulinica sierotipo A ad aver dimostrato efficacia focale nei bambini con PCI, siano Botox e Dysport. Gli effetti collaterali sono estremamente rari nelle PCI sottoposte a iniezioni di tossina botulinica e si attestano tra l'1% e il 7% nei diversi studi (Jankovic et al 1990, Bakheit et al 2001, Papadonikolakis et al. 2002 e 2003, Lannin et al. 2006, Naidu et al. 2010). Gli effetti collaterali più comuni evidenziati dagli studi effettuati su pazienti affetti da paralisi cerebrale infantile trattati con tossina botulinica sono ecchimosi/porpora/emorragia/bruciore al punto di inoculo, febbre, malessere, debolezza muscolare, mialgia, diarrea, gastralgia, incontinenza o ritenzione urinaria, sonnolenza, anomalie nell'andatura, rash, formicolio, otalgia, infezioni. Tra gli effetti indesiderati va sottolineata la possibile diffusione a muscoli non target e la possibile evocazione di una reazione immunitaria neutralizzante. I primi due effetti sono influenzati in modo determinante dalla presenza di proteine complessanti e dalla dimensione complessiva della molecola inoculata, dove per complessi maggiori e più pesanti (Dysport) si osserva maggiore diffusione, e la presenza di componenti proteici aggiuntivi accentua la possibilità di attivazione immunitaria. La neurotossina botulinica è immunogenica, quindi ripetute esposizioni possono portare a immunoresistenza; i tassi di immunoresistenza non sono stati ancora pubblicati ma negli adulti con distonia si attestano attorno al 3% (Tilton et al. 2009).

La formulazione di tossina Xeomin, purificata dai componenti proteici complessanti, potrebbe garantire la minimizzazione di almeno due dei potenziali meccanismi di effetto indesiderato (la diffusione e la reazione immunitaria neutralizzante), permettendo l'uso di dosi mediamente superiori a quelle routinariamente utilizzate. Studi preclinici hanno infatti dimostrato come Xeomin

sia caratterizzata da minor tossicità e immunogenicità (Jost 2005) e la durata dell'effetto sia maggiore per la formulazione Xeomin rispetto a Botox (Jost 2007)

Come evidenziato, dall'European Consensus Table 2009 (Heinen 2010), non esiste al momento in letteratura un dosaggio specifico per la neurotossina A formulata come Xeomin nel trattamento della spasticità in età evolutiva, ma studi effettuati sull'età adulta suggeriscono un dosaggio equivalente a quello della Botox (Jost 2007, Jost et al. 2005, Wohlfarth et al, Huss et al 2009). Ad ulteriore conferma di ciò la Regione Veneto con Decreto della Commissione Regionale per il Prontuario Terapeutico n° 188837 del 6/4/2009 ha riconosciuto la equivalenza tra le due formulazioni (Xeomin e Botox) per le indicazioni comuni.

FASE 1

Obiettivo dello Studio

1) Verificare la equivalenza in termini di efficacia e di tollerabilità tra le due formulazioni Botox e Xeomin in uso per la spasticità del gastrocnemio in soggetti con PCI in età pediatrica alle dosi standard consigliate dalla letteratura.

A tal fine si propone uno studio randomizzato in doppio cieco su popolazione pediatrica, affetta da paralisi cerebrale infantile, di comparazione ed efficacia della tossina botulinica A purificata (Xeomin) con la tossina botulinica A formulata come Botox.

Obiettivo dello studio è quello di comparare l'efficacia di Xeomin a quella di Botox utilizzando il medesimo dosaggio standard (vedi dosaggi Botox WE-MOVE) in soggetti affetti da PCI con spasticità degli arti inferiori.

Metodologia:

a) Soggetti

Il progetto prevede il reclutamento di n° 20 pazienti afferenti all' IRCCS "E. Medea – Ass.ne La Nostra Famiglia" Polo di Conegliano, di sesso maschile o femminile, di età compresa tra 3 e 18 anni, affetti da emiplegia, diplegia o tetraplegia spastica da paralisi cerebrale infantile, per i quali sia stata posta l'indicazione a chemodenervezione con tossina botulinica nel muscolo gastrocnemio.

b) Metodologia

Intervento

Dopo la valutazione iniziale, i pazienti reclutati, per i quali i famigliari abbiano dato l'assenso informato, saranno sottoposti ad iniezione di tossina botulinica A al muscolo gastrocnemio nelle formulazioni Botox o Xeomin secondo

lista randomizzata:

- gruppo A) tossina botulinica A formulata come Xeomin, dosaggio 5U/kg
- gruppo B) tossina botulinica A formulata come Botox, dosaggio 5U/kg

Valutazioni

Per tutti i soggetti trattati verrà definito il raggiungimento degli obiettivi di trattamento fissati e registrati prima del trattamento con la famiglia mediante la Goal Attainment Scale (GAS).

Inoltre tutti i soggetti reclutati verranno sottoposti prima del trattamento e successivamente al trattamento con cadenza trimestrale (3, 6, 9 e 12 mesi post trattamento) alle seguenti valutazioni:

- a) Range of motion (ROM);
- b) Forza muscolare (secondo scala del Medical Research Council =MRC);
- c) Controllo motorio selettivo (secondo la scala della University of California Los Angeles = UCLA);
- d) Spasticità (secondo la scala di Ashworth modificata da Bohannon e Smith);
- e) Funzioni globali motorie (secondo la scala Gross Motor Function Measure).

La valutazione clinica include scale di valutazione internazionalmente validate e suggerite anche dalla European Consensus del 2009 (Heinen 2010).

Verrà inoltre registrato l'intervallo di tempo intercorrente tra il trattamento e la necessità di re-inoculo come indicato dal fisiatra valutante e dai parametri monitorati nella fase di follow-up.

Tutte le valutazioni verranno eseguite in cieco rispetto alla formulazione di tossina utilizzata nel singolo soggetto.

Effetti avversi

Gli eventuali effetti collaterali verranno registrati dai genitori in una check-list in cui sono già elencati gli effetti collaterali più frequenti (oltre a uno spazio libero per segnalazioni di nuovi effetti indesiderati non precedentemente segnalati) (vedi Bakheit et al. 2001). I pazienti verranno comunque contattati entro 48 ore dall'inoculo e successivamente visitati da un medico entro 10 giorni e a 3 mesi dall'inoculo al fine di verificare la presenza degli effetti collaterali.

Si segnala che questa procedura di controllo post-trattamento è caratterizzata da una maggior vigilanza rispetto alla gestione standard del bambino trattato oggi con tossina presso le nostre strutture (né il contatto al secondo giorno né la visita al decimo sono prassi corrente).

c) Analisi dei dati

I dati ottenuti verranno sottoposti ad analisi statistica utilizzando per le variabili parametriche (ROM) il t-test per misure ripetute, e per le variabili non-parametriche (GAS, MRC, GMFM) il test di Wilcoxon per dati appaiati. L'inter-

vallo intertrattamento verrà comparato con il t-test per gruppi.

FASE 2

Obiettivo dello Studio

Successivamente al completamento della 1 fase di studio “Studio clinico controllato randomizzato di comparabilità ed efficacia della tossina botulinica purificata per il trattamento della spasticità nelle paralisi cerebrali infantili – 1 Fase” (indicativamente 6 mesi) ed in assenza di eventi avversi importanti (comportanti ricovero ospedaliero o aggravio della disabilità di durata superiore a 3 mesi) correlabili al trattamento di chemodenervezione, si vuole

- Studiare l’efficacia e la tollerabilità di un dosaggio di tossina nella formulazione “Xeomin” o Botox aumentato rispetto alla dose comunemente utilizzata per la spasticità del gastrocnemio in soggetti con PCI in età pediatrica
- Verificare la equivalenza in termini di efficacia e di tollerabilità tra le due formulazioni Botox e Xeomin in uso alle dosi aumentate del 50%.

A tal fine si propone uno studio randomizzato in doppio cieco su popolazione pediatrica, affetta da paralisi cerebrale infantile, di comparazione ed efficacia della tossina botulinica A purificata (Xeomin) con la tossina botulinica A formulata come Botox.

Obiettivo dello studio è quello di comparare l’efficacia di Xeomin a quella di Botox utilizzando il dosaggio aumentato del 50% rispetto alla prima fase di studio (vedi dosaggi Botox WE-MOVE) in soggetti affetti da PCI con spasticità degli arti inferiori (sempre restando all’interno dei limiti consigliati dalla letteratura più recente). Già precedenti studi effettuati con Botox hanno dimostrato che l’aumento di dose non porta ad aumento di effetti collaterali: nell’ultima European consensus sull’uso della tossina botulinica nei bambini con PCI viene indicato come range di dose massima per sede di iniezione 10-50U mentre come dose massima totale 400-600U per sessione di iniezione (Heinen F et al 2010): un aumento della dose massima consigliata del 50%.

Metodologia:

a) Soggetti

Il progetto prevede il reclutamento di n° 20 pazienti afferenti all’ IRCCS “E. Medea – Ass.ne La Nostra Famiglia” Polo di Conegliano, di sesso maschile o femminile, di età compresa tra 3 e 18 anni, affetti da emiplegia, diplegia o tetraplegia spastica da paralisi cerebrale infantile, per i quali sia stata posta l’indicazione a chemodenervezione con tossina botulinica nel muscolo ga-

strocniemio.

b) Metodologia

Intervento

Dopo la valutazione iniziale, i pazienti reclutati, per i quali i famigliari abbiano dato l'assenso informato, saranno sottoposti ad iniezione di tossina botulinica A al muscolo gastrocnemio nelle formulazioni Botox o Xeomin secondo lista randomizzata:

- gruppo A) tossina botulinica A formulata come Xeomin, dosaggio 7,5U/kg
- gruppo B) tossina botulinica A formulata come Botox, dosaggio 7,5U/kg

Valutazioni

Per tutti i soggetti trattati verrà definito il raggiungimento degli obiettivi di trattamento fissati e registrati prima del trattamento con la famiglia mediante la Goal Attainment Scale (GAS).

Inoltre tutti i soggetti reclutati verranno sottoposti prima del trattamento e successivamente al trattamento con cadenza trimestrale (3, 6, 9 e 12 mesi post trattamento) alle seguenti valutazioni:

- a) Range of motion (ROM);
- b) Forza muscolare (secondo scala del Medical Research Council =MRC);
- c) Controllo motorio selettivo (secondo la scala della University of California Los Angeles = UCLA);
- d) Spasticità (secondo la scala di Ashworth modificata da Bohannon e Smith);
- e) Funzioni globali motorie (secondo la scala Gross Motor Function Measure).

La valutazione clinica include scale di valutazione internazionalmente validate e suggerite anche dalla European Consensus del 2009 (Heinen F, Eur J Paediatr Neurol 2010).

Verrà inoltre registrato l'intervallo di tempo intercorrente tra il trattamento e la necessità di re-inoculo come indicato dal fisiatra valutante e dai parametri monitorati nella fase di follow-up.

Tutte le valutazioni verranno eseguite in cieco rispetto alla formulazione di tossina utilizzata nel singolo soggetto.

Effetti avversi

Gli eventuali effetti collaterali verranno registrati dai genitori in una check-list in cui sono già elencati gli effetti collaterali più frequenti (oltre a uno spazio libero per segnalazioni di nuovi effetti indesiderati non precedentemente segnalati) (vedi Bakheit et al. Dev Med Child Neurol 2001). I pazienti verranno comunque contattati entro 48 ore dall'inoculo e successivamente visitati da un medico entro 10 giorni e a 3 mesi dall'inoculo al fine di verificare la presenza degli effetti collaterali.

Si segnala che questa procedura di controllo post trattamento è caratterizzata da una maggior vigilanza rispetto alla gestione standard del bambino trattato oggi con tossina presso le nostre strutture (né il contatto al secondo giorno né la visita al decimo sono prassi corrente).

c) Analisi dei dati

I dati ottenuti verranno sottoposti ad analisi statistica utilizzando per le variabili parametriche (ROM) il t-test per misure ripetute, e per le variabili non-parametriche (GAS, MRC, GMFM) il test di Wilcoxon per dati appaiati. L'intervallo intertrattamento verrà comparato con il t-test per gruppi.

UN APPROCCIO MOLECOLARE DI SEQUENZIAMENTO DI NUOVA GENERAZIONE NELLA DEFINIZIONE DEL DIFETTO MOLECOLARE IN UN'AMPIA CASISTICA DI PAZIENTI MOTONEURONALI

ING. UBERTO POZZOLI

E-MAIL: UBERTO.POZZOLI@BP.LNF.IT

Linea di ricerca n. 7

Bioinformatica

Tipo di ricerca

Ricerca con contributo 5 per mille 2009

Periodo di svolgimento

01.03.2012 – 28.02.2015

Polo Scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Le malattie del motoneurone (MND) sono un ampio ed eterogeneo gruppo di patologie degenerative caratterizzate da una degenerazione precoce dei neuroni di moto o "motoneuroni".

Esistono due gruppi di motoneuroni: il primo, chiamato primo motoneurone, motoneurone centrale o corticale, si trova nella corteccia cerebrale e trasporta il segnale nervoso attraverso prolungamenti che dal cervello arrivano al midollo spinale. Il secondo (secondo motoneurone o motoneurone periferico o spinale) è invece formato da cellule nervose che trasportano il segnale dal midollo spinale ai muscoli. Quando i motoneuroni sono danneggiati i movimenti diventano progressivamente difficoltosi e la massa muscolare si riduce ("ipotrofia muscolare").

Accomunate dalla specificità del danno motoneurale, queste patologie comprendono forme differenti in relazione all'interessamento del I e II neurone di moto, come avviene nella Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), o al coinvolgimento del secondo motoneurone, che caratterizza l'Atrofia Muscolare Spinale (SMA). Queste patologie spesso fatali, sono di estremo impatto sulla salute e la qualità di vita dei pazienti non disponendo al momento di alcuna terapia efficace.

Malgrado gli eventi eziologici che innescano la malattia siano differenti nella SLA, SMA e altre patologie moto-neuronali, il fatto che coinvolgano in modo

selettivo i motoneuroni suggerisce l'ipotesi che queste malattie condividano una serie di eventi molecolari patogenetici comuni che potrebbero rappresentare target utili dal punto di vista terapeutico. Il primo step per l'identificazione dei meccanismi patogenetici implicati risiede nell'identificazione dei geni coinvolti. Mentre nella SLA ad esordio adulto, solo il 10% ha segregazione familiare, le forme giovanili sono prevalentemente familiari e recessive con una sola forma dominante denominata ALS4.

Obiettivo del presente progetto è di sviluppare la conoscenza relativa ai meccanismi patogeneticamente rilevanti nelle malattie del motoneurone focalizzando in particolare sul primo step coinvolto rappresentato dall'identificazione dei difetti genetico-molecolari alla base di alcune forme familiari di motoneuronopatie. Questo obiettivo prevede sia l'identificazione di nuove mutazioni in geni noti sia di nuovi geni responsabili o associati a malattie motoneuronali.

METODOLOGIA

Casistica a disposizione

La casistica disponibile consiste di 40 soggetti apparenti sporadici e 18 casi familiari a trasmissione prevalentemente recessiva affetti da forme di malattia del motoneurone ad esordio entro i 18 anni di età. Da un punto di vista clinico la maggioranza sono classificabili come forme di SLA giovanile con coinvolgimento di primo e secondo motoneurone. Nel 50% dei casi le funzioni cognitive sono drammaticamente ridotte. Sono disponibili inoltre 4 casi familiari che presentano un coinvolgimento prevalente del II motoneurone. Nel 45% dei casi familiari sono disponibili almeno due soggetti affetti/famiglia. Durante il corso del progetto proseguirà l'arruolamento di nuovi casi da parte delle unità cliniche dell'Ente proponente.

Screening per geni noti

La casistica a disposizione è già stata sottoposta allo screening mutazionale per i geni attualmente noti per queste forme, ALS2 SIGMA1R, SPATACSIN e SETX. Sono state identificate 2 famiglie con mutazioni in ALS2 e una famiglia con mutazione in SPATACSIN. Lo screening è stato condotto con sequenziamento tradizionale della regione codificante e delle giunzioni di splicing.

Identificazione di nuovi geni

I casi familiari a disposizione verranno analizzati tramite un approccio NGS di exome sequencing. A tal proposito verranno sequenziati almeno due soggetti affetti per famiglia e ove disponibili entrambi i genitori sani. I dati di sequenza verranno poi analizzati per l'identificazione ed esclusione di va-

rianti note, identificazione di nuove varianti di possibile significato patologico. Questo ultimo set di varianti verrà confermato sperimentalmente tramite sequenziamento tradizionale. Le varianti che passeranno lo step di validazione verranno analizzate tramite sequenziamento tradizionale nella rimanente casistica di sporadici. I dati ottenuti permetteranno di definire un set di varianti associate al fenotipo patologico sia come possibili mutazioni sia come eventuali elementi modulatori del fenotipo patologico. Il problema dei modulatori fenotipici è particolarmente sentito nell'ambito di queste patologie dove pazienti con la stessa mutazione presentano variabilità fenotipica sia intra che inter familiare.

ANALISI DATI NGS

I risultati prodotti dai sequenziatori NGS vanno analizzati utilizzando software specifici. Per ciascun campione sequenziato la macchina produce una grandissima quantità di frammenti sequenziati (reads). Queste piccole sequenze vanno poi allineate su di una sequenza genomica di riferimento in modo da ottenerne la posizione precisa lungo i cromosomi. Per far ciò utilizzeremo diversi software di allineamento (Bowtie, SeqMap etc) per poter avere un quadro preciso e confrontare diverse tecniche di allineamento. Presterebbe particolare attenzione all'identificazione delle tecniche che garantiscano tempi di elaborazione accettabili unitamente ad un'elevata precisione. Una volta ottenuto l'allineamento di tutte le reads si procederà all'identificazione delle varianti sia comuni che rare. Queste varianti verranno poi raccolte, debitamente anonimizzate, in un database e analizzate attraverso un'apposita interfaccia da noi sviluppata. Le variazioni più interessanti saranno anche analizzate da un punto di vista funzionale attraverso l'utilizzo di moltissimi software, alcuni dei quali sviluppati presso il nostro laboratorio.

RISULTATI ATTESI

Definizione del difetto molecolare in un numero elevato di casi. Identificazione di varianti o set di varianti agenti come modulatori del fenotipo patologico. Identificazione di nuovi geni responsabili di patologie del motoneurone.

“EXOME RESEQUENCING IN SET OF TARGET REGION” IN PAZIENTI AFFETTI DA MALFORMAZIONI DELLO SVILUPPO CORTICALE (MCD) ISOLATE O ASSOCIATE AD ALTRE MALFORMAZIONI CEREBRALI PER L’INDIVIDUAZIONE DI NUOVE MUTAZIONI IN GENI NOTI E POSSIBILI NUOVI GENI CANDIDATI COINVOLTI NELLO SVILUPPO DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

DR. RENATO BORGATTI

E-MAIL: RENATO.BORGATTI@BP.LNF.IT

Linea di ricerca n. 1

Neuropatologia

Tipo di ricerca

Ricerca con contributo 5 per mille 2009

Periodo di svolgimento

15.05.2012 – 14.05.2015

Polo Scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Nel corso degli ultimi anni i progressi nel campo dell’indagine genetica hanno incrementato in modo considerevole le conoscenze relative allo sviluppo del Sistema Nervoso Centrale (SNC). Sempre più frequentemente, alla base di quadri malformativi cerebrali complessi, vengono riscontrate condizioni di sbilancio cromosomico (tramite arrayCGH) o mutazioni puntiformi di singoli geni, con conseguente miglior correlazione genotipo-fenotipo. Recentemente le nuove metodiche di sequenziamento del genoma hanno delineato ulteriori e affascinanti scenari dimostrando sempre di più la complessità genetica alla base di tali processi (Otto et al 2010, Wray and Goddard 2010, Barak et al 2011, Bhat 2011, Bilgüvar K et al 2011, Najmabadi et al 2011, Ropers et al 2011, Coffey AJ et al 2011).

Tra le malformazioni del SNC quelle con le maggiori ricadute cliniche, tra cui l’epilessia e il ritardo mentale, sono le malformazioni dello sviluppo corticale (MCD). Queste vengono classificate in base al processo di formazione della corteccia (proliferazione, migrazione e organizzazione corticale), distinguendo: i disturbi della proliferazione neuronale (emimegalencefalia, sclerosi tuberosa, displasia corticale focale tipo Taylor), della migrazione neuronale (lissencefalia/pachigiria spectrum, eterotopia nodulare periventricolare) e

dell'organizzazione (polimicrogiria, schizencefalia) (Barkovich et al 2005). Recenti studi hanno dimostrato come, durante lo sviluppo del SNC, la maggior parte dei geni (o il loro prodotto proteico) si integri in networks e pathways funzionali, giocando un ruolo chiave nell'eziopatogenesi delle malformazioni cerebrali (Kariminejad et al 2011, Davis et al 2011, Sang et al 2011) o conferendo suscettibilità a malformazioni diverse (O' Driscoll et al 2010).

La comprensione che alla base di un meccanismo fisio-patogenico comune ci possono essere diversi geni coinvolti che interagiscono fra di loro fa nascere ulteriori interrogativi sul ruolo di un singolo gene nel determinare patologie con ampia variabilità fenotipica (mutazioni uguali associate a fenotipi diversi), sull'importanza dell'interazione tra diversi geni, sul ruolo dei polimorfismi e delle varianti genetiche. Tali varianti possono infatti determinare il fenotipo di ciascun individuo in relazione a fattori ambientali, geni modificatori e/o epigenetici (Majewski et al 2011).

Alla luce di ciò, è obiettivo del presente studio individuare possibili nuove mutazioni in geni noti e nuovi geni candidati coinvolti nello sviluppo del Sistema Nervoso Centrale mediante "Exome resequencing in set of target region", al fine di migliorare la comprensione dei meccanismi neurobiologici coinvolti nell'eziopatogenesi di quadri malformativi cerebrali ad essi associati. A tal fine verrà analizzata tramite sequenziamento di nuova generazione una casistica di 120 soggetti reclutata negli ultimi dieci anni con malformazioni dello sviluppo corticale (MCD), isolata o associata ad altre malformazioni del SNC ed in cui siano già state escluse mutazioni nei geni a tutt'oggi noti e specifici per le singole malformazioni.

ATTIVITÀ PREVISTE

A tal fine verrà arruolata un'ampia casistica di soggetti 120 nei quali una precedente indagine neuroradiologica abbia documentato una malformazione dello sviluppo corticale (MCD), isolata o associata ad altre malformazioni del SNC. Tutti i soggetti inclusi nel presente progetto di ricerca, sono stati già valutati, risultando negativi, alle indagini citogenetiche di base (cariotipo standard), e all'analisi dei principali geni noti e specifici per le singole malformazioni.

Il DNA di questi soggetti con forme famigliari verrà analizzato tramite risequenziamento completo dell'esoma. I dati grezzi di sequenza verranno analizzati per identificare la presenza di mutazioni ed escludere tutti i possibili polimorfismi. Le varianti che si confermeranno dopo tale selezione verranno validate tramite sequenziamento tradizionale. I geni che si confermeranno coinvolti in questi pazienti verranno analizzati nei rimanenti casi sporadici. Sulla base dei risultati ottenuti, verranno costituiti dei pannelli specifici di geni

che unitamente a quelli che si renderanno disponibili in letteratura costituiranno il set di geni responsabili o coinvolti nei vari tipi di malformazioni corticali e che potranno essere più rapidamente testati su eventuali nuovi pazienti reclutati.

I casi risultati positivi all'analisi di sequenziamento, verranno sottoposti

a) ad un dettagliato protocollo di rivalutazione clinica (neurologica, oculistica, ORL, dismorfologica);

b) a specifico protocollo neuroradiologico con MRI a 3 Tesla dotato di bobina dell'encefalo a 32 canali, comprendente valutazioni di trattografia mediante l'utilizzo di tecniche di diffusion tensor imaging DTI al fine di raggiungere una correlazione genotipo-fenotipo ottimale.

Per ogni soggetto reclutato viene fatto compilare uno specifico Consenso Informato distinto per soggetti minorenni/maggiorenni, un modulo di Informativa al trattamento del dato per la privacy, e consegnata una dettagliata Scheda Informativa.

RICADUTE

Una volta conclusa la ricerca consentirà di:

- ampliare le conoscenze in ambito genetico mediante l'individuazione di nuove mutazioni in geni noti e nuovi geni candidati coinvolti nello sviluppo del sistema nervoso centrale;
- migliorare la comprensione del ruolo di specifici geni e dei meccanismi neurobiologici coinvolti nella morfogenesi delle strutture cerebrali e nell'eziopatogenesi di malformazioni cerebrali ad essi associate;
- migliorare la correlazione genotipo-fenotipo clinico e neuroradiologico;
- implementare protocolli diagnostici specifici e mirati.

BIBLIOGRAFIA

- Barak T, Kwan KY, Louvi A, et al. Recessive LAMC3 mutations cause malformations of occipital cortical development. *Nat Genet.* 2011 43(6):590-4.
- Bhat V, Girimaji S, Mohan G, et al. Mutations in WDR62, encoding a centrosomal and nuclear protein, in Indian primary microcephaly families with cortical malformations. *Clin Genet.* 2011 Apr 15.
- Bilgüvar K, Oztürk AK, Louvi A, et al. Whole-exome sequencing identifies recessive WDR62 mutations in severe brain malformations. *Nature.* 2010 467(7312):207-10.
- Coffey AJ, Kokocinski F, Calafato MS et al. The GENCODE exome: sequencing the complete human exome. *Eur J Hum Genet* 2011 19:827-31.
- Davis EE, Zhang Q, Liu Q, et al. TTC21B contributes both causal and mo-

- difying alleles across the ciliopathy spectrum. *Nat Genet* 2011 43:189-96.
- Kariminejad R, Lind-Thomsen A, Tümer Z, et al. High frequency of rare copy number variants affecting functionally related genes in patients with structural brain malformations. *Hum Mutat.* 2011 (0): 1-9.
 - Klassen T, Davis C, Goldman A, et al. Exome sequencing of ion channel genes reveals complex profiles confounding personal risk assessment in epilepsy. *Cell.* 2011 145(7):1036-48.
 - Majewski J, Schwartzenuber J, Lalonde E, Montpetit A, Jabado N. What can exome sequencing do for you? *J Med Genet.* 2011;48:580-589.
 - Najmabadi H, Hu H, Garshasbi M, Zemojtel T, et al. Deep sequencing reveals 50 novel genes for recessive cognitive disorders. *Nature.* 2011 (21):57-63.
 - O' Driscoll M, Black GC, Clayton-Smith J, Sherr EH, Dobyns WB. Identification of genomic loci contributing to agenesis of the corpus callosum. *Am J Med Genet Part A.* 2010;152A:2145-59.
 - Otto EA, Hurd TW, Airik R, et al. Candidate exome capture identifies mutation of *SDCCAG8* as the cause of a retinal-renal ciliopathy. *Nat Genet.* 2010 42(10):840-50.
 - Ropers F, Derivery E, Hu H, et al. Identification of a novel candidate gene for non-syndromic autosomal recessive intellectual disability: the WASH complex member *SWIP*. *Hum Mol Genet.* 2011 (13):2585-90.
 - Sang L, Miller JJ, Corbit KC, et al. Mapping the NPHP-JBTS-MKS protein network reveals ciliopathy disease genes and pathways. *Cell.* 2011 (145):513-528.
 - Wray NR, Goddard ME. Multi-locus models of genetic risk of disease. *2010 Genome Med* 2, 10.

INDIVIDUAZIONE DI MARCATORI DEL RISCHIO DI DISTURBI SPECIFICI DELL'APPRENDIMENTO IN INFANTI DI 6 MESI

DR.SSA CECILIA MARINO

E-MAIL: CECILIA.MARINO@BP.LNF.IT

Linea di ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Tipo di ricerca

Ricerca con contributo 5 per mille 2009

Periodo di svolgimento

01.02.2012 – 31.01.2013

Polo Scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Gli studi di linkage ed associazione nell'ambito dei DSA e dei DSL ad oggi hanno permesso di identificare un numero limitato di geni e loci di suscettibilità, a fronte di un investimento notevole di risorse economiche (Galaburda et al. 2006; Newbury & Monaco 2010). Il progresso notevole delle metodologie di biologia molecolare non ha trovato un corrispettivo nell'avanzamento delle tecniche di caratterizzazione del fenotipo utilizzato nelle analisi di associazione, che si basa sulla diagnosi clinica, categoriale o sintomatologica.

In questo scenario è cruciale identificare marcatori precoci di suscettibilità, predittivi del disturbo, che essendo più vicini ad una specifica alterazione genetica causale, possono essere utilizzati nelle analisi di associazione genetica come endofenotipi, con intuibile aumento del potere statistico e, quindi, della possibilità di identificazione di fattori di suscettibilità genetici ed extra-genetici. La caratterizzazione di questi marcatori neurali, oltre a dare nuovo impulso alla ricerca nel campo della genetica, apre la strada alla messa a punto di protocolli di diagnosi ed intervento precoci e, soprattutto, mirati ed efficaci.

Ad oggi la ricerca è estremamente ricca di dati su marcatori neurali (cognitivi/neurofisiologici) che permettono di identificare un rischio. Certamente, di grande interesse sono i marcatori neurofisiologici e comportamentali dell'abilità di percepire stimoli uditivi rapidi e successivi che si verificano entro decine di millisecondi, che è stato ampiamente dimostrato essere correlati alle

abilità di linguaggio, ai disturbi evolutivi di linguaggio e di lettura e predittivi di rischio.

Quanto sopra riportato evidenzia la necessità oggi di orientare la ricerca nel campo dei disturbi evolutivi verso la caratterizzazione di marcatori neurali in una fascia di età molto precoce, cioè nei primi mesi di vita del neonato, con notevoli vantaggi sul fronte della individuazione di fattori di suscettibilità, della diagnosi precoce e di interventi che possono essere preventivi e mirati. Questo tipo di ricerca deve avvalersi oggi di metodologie, competenze e spazi attrezzati altamente specialistici e dedicati esclusivamente al neonato, con notevole investimento di risorse in termini di strutture, attrezzature e formazione di personale.

La nostra linea di ricerca ha contestualmente avviato una serie di iniziative che concorrono a supportare il progetto.

1. Nel novembre 2009 la dr Marino ha visitato l'Infancy Studies Lab – Rutgers University – NJ, USA, diretto dalla dr Benasich, per avviare un rapporto di collaborazione, utile sia per un riferimento metodologico sia in vista di una partnership in richieste di fondi (spedita lettera di intenti a Human Frontiers, marzo 2011, rifiutata)

2. Nel marzo 2011 la dr Cantiani ha iniziato un periodo di formazione presso l'Infancy Studies Lab – Rutgers University – NJ, USA, diretto dalla dr Benasich, per apprendere tecniche di 'Head-turn' e di abitudine visivo-uditiva, nonché di registrazione ERP, applicate alla elaborazione temporale di stimoli uditivi non verbali. Rientrerà nel dicembre 2011.

3. Acquisto di un apparecchio per la registrazione ERP 64 canali, sistema EGI-Geodesic, corredato di cuffie per infants.

4. Nel marzo 2011 la dr Marino ha visitato il laboratorio di Psicologia di Sviluppo Cognitivo, Università di Padova, dr Valenza, per avviare una collaborazione sul progetto 'abilità visuo-attentive in infanti di 6 mesi a rischio per DSÀ (Dr Valenza/dr Facoetti).

Nel corso del 2012 si prevede un periodo di circa 4 mesi finalizzato all'avvio dell'attività di ricerca nel baby lab, con sistemazione dei locali e degli arredi, messa a punto dei macchinari, e acquisizioni di prova. Contestualmente si prevede di iniziare il progetto di ricerca, della durata di 12 mesi.

BACKGROUND TEORICO

È stato ampiamente dimostrato come l'elaborazione temporale di stimoli uditivi non-verbali sia una componente cognitiva dei DSA (Hamalainen et al., 2011). Deficit di questa abilità sono stati evidenziati utilizzando tecniche comportamentali o la registrazione dei Potenziali Evento-correlati (ERP) in dislessici in età scolare o in età adulta (e.g., Schulte-Korne & Bruder, 2010;

Tallal, 2000), ed il nostro gruppo di ricerca ha ulteriormente contribuito ad una migliore comprensione del fenomeno nella popolazione italiana (Cantiani et al., 2010). Gli stessi deficit sono stati individuati in soggetti con rischio familiare per DSA/DSL in epoche molto precoci della vita (Maurer et al., 2003; Leppanen et al., 2010; Choudhury & Benasich 2011). Questi studi hanno permesso di individuare con successo la capacità predittiva dell'elaborazione temporale sul successivo sviluppo linguistico (e.g., Benasich & Tallal, 1996, Benasich et al., 2002, Benasich et al., 2006; Choudhury & Benasich, 2011). Tuttavia alcuni studi hanno evidenziato risultati contrastanti (e.g. Bishop et al., 2007, Ramus et al. 2003), suggerendo che la definizione delle caratteristiche e della capacità predittiva dell'elaborazione temporale uditiva è una questione ancora aperta.

METODOLOGIA

Il progetto di ricerca prevede di reclutare una coorte di 30 infanti di 6 mesi, differenziata per la presenza/assenza di rischio familiare per DSA, definito come la presenza di un parente di primo grado affetto da DSA (almeno un genitore o un fratello biologici). Lo status di affetto da DSA nei genitori verrà appurato tramite tests di screening (prima fase) e diagnostici (seconda fase) con l'obiettivo di raggiungere un certezza diagnostica assoluta. I neonati inclusi saranno controllati per 1) età gestazionale > 37 settimane 2) peso alla nascita > 2500, 3) punteggio APGAR 1' e 5' = 10, 4) normali emissioni otoacustiche allo screening neonatale 5) assenza di problemi neurologici

Attualmente il nostro laboratorio non ha l'apparecchiatura per la registrazione degli ERP, che si prevede verrà acquistata nel secondo semestre del 2012. La fase sperimentale prevede pertanto esclusivamente l'utilizzo di tecniche comportamentali adatte ad indagare le abilità di elaborazione temporale in infanti. In tutti i compiti, gli stimoli saranno costituiti da stimoli non verbali e verbali. Gli stimoli non verbali saranno costituiti da coppie di toni "standard" e "devianti" (differenti per la frequenza fondamentale del secondo tono), caratterizzate da durata e morfologia fissa. Le coppie di toni verranno presentate con diversi livelli di intervallo tra gli stimoli (ISI), in modo da valutare la soglia minima di discriminazione tra due stimoli successivi. Gli stimoli verbali saranno costituiti da sillabe Consonante-Vocale (CV) differenti per la transizione rapida iniziale (e.g. "da" vs. "ga").

Nello specifico, i due paradigmi comportamentali di 'Head-turn' e di abitua-zione visivo-uditiva permetteranno di indagare la capacità degli infanti di discriminazione tra gli stimoli. In questi compiti, i bambini saranno esposti agli stimoli, sia verbali che non-verbali, e semplici risposte comportamentali, quali rispettivamente il movimento della testa verso un rinforzo e la percentuale

di sguardo verso stimoli visivi, saranno indici dell'avvenuta discriminazione tra gli stimoli. La dr. Benasich e i suoi collaboratori (Infancy Studies Lab – Rutgers University – NJ, USA) sono massimi esperti nell'utilizzo di questi paradigmi e saranno un riferimento per l'impostazione e fonte di supervisione nell'attuazione della fase sperimentale nel nostro laboratorio.

TRATTAMENTO CON SSRI IN PAZIENTI DEPRESSI CON CEREBRO- LESIONE ACQUISITA: STUDIO OSSERVAZIONALE SPONTANEO DE- GLI EFFETTI SU UMORE, VOLUME IPOCAMPAL E OUTCOME FUN- ZIONALE

DR.SSA SARA PICCOLI

E-MAIL: SARA.PICCOLI@CN.LNF.IT

Linea di ricerca n. 2

Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

Tipo di ricerca

Ricerca con contributo 5 per mille 2009

Periodo di svolgimento

01.02.2012 – 31.01.2014

Polo Scientifico

Conegliano e Pieve di Soligo

DESCRIZIONE SINTETICA

La distimia è sintomo di accompagnamento frequente nei soggetti con grave cerebro lesione acquisita (GCLA) (Fleminger et al 2003). Il trattamento con inibitori selettivi dell'uptake della serotonina (SSRI) si è dimostrato efficace nelle forme di depressione isolata o nel contesto di GCLA, e diversi farmaci di tale classe sono stati testati con successo in questa categoria di pazienti (Garnock-Jones KP 2010). Questi trattamenti sono frequentemente impiegati nella pratica ospedaliera (a titolo esemplificativo oltre il 50% dei pazienti adulti ricoverati in qualsiasi momento nel reparto di neuroriabilitazione del Polo Regionale Medea di Pieve di Soligo sono in trattamento con un SSRI), hanno dimostrato una buona tollerabilità ed efficacia sul piano dell'umore, ma si ignora se abbiano anche un effetto positivo su altri ambiti, quale quello cognitivo, rilevanti per questi pazienti.

È stato recentemente dimostrato che alcune aree del cervello significative quali il giro dentato dell'ippocampo, sono sede di attività di neuro genesi anche nell'adulto, e che alcuni fattori possono modulare sia in senso positivo che negativo tale neuro genesi (Mitchell et al 2004). La attività di neuro genesi può essere documentata in modo indiretto in vivo utilizzando tecniche mirate di analisi volumetrica in RMN (Tomaiuolo 2004), e variazioni di volume ippocampale sono state documentate in coincidenza con miglioramenti fenotipici in soggetti con varie forme di encefalopatia non progressiva .

La sensibilità di queste valutazioni è tale da permettere risultati significativi anche con campioni molto ridotti. Un recente studio (Yucel et al. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33: 361) ha dimostrato variazioni significative di volume ippocampale in un disegno simile a quello proposto in questo studio con 28 soggetti, e analogamente risultati significativi in valutazioni inter-gruppo sono riportati con dimensioni di campione variabili da 20 a 50 soggetti per gruppo (Meda 2012, Macey 2009).

Molecole della classe dei SSRI sono state identificate come modulatori positivi della neuro genesi, così come l'arricchimento ambientale e l'attività motoria risultano esaltare la potenzialità delle aree di neuro genesi costitutiva (Pechnick et al 2011). La efficacia come modulatore della neuro genesi di diverse molecole della classe degli SSRI, pur in presenza di analogo effetto antidepressivo, appare non uniforme. In particolare studi in-vitro dimostrano come fluoxetina e escitalopram abbiano su colture ippocampali di topo un maggior effetto pro-neurogenico rispetto ad altre quali la paroxetina (Giusti P, comunicazione personale). Nella pratica clinica attuale i farmaci SSRI routinariamente impiegati nel nostro reparto sono l'Escitalopram, la fluoxetina e la paroxetina.

L'obiettivo della ricerca è quello di:

1. quantificare, attraverso l'utilizzo di un software RMN sviluppato e dedicato a tale scopo, le variazioni del volume del parenchima cerebrale totale, della testa, corpo, coda e complessivo dell'ippocampo, coinvolto in aspetti rilevanti della funzione cognitiva, nei soggetti affetti da GCLA che intraprendono un percorso riabilitativo intensivo per almeno 3 mesi;
2. confrontare le variazioni osservate tra soggetti che presentano Disturbo Depressivo Maggiore o Distimia per il quale è stato intrapreso trattamento farmacologico SSRI, e soggetti che non hanno richiesto tale trattamento, al fine di verificare la presenza di eventuali modificazioni volumetriche significative delle suddette aree cerebrali;
3. se possibile stratificare tali risultati in relazione al tipo di farmaco utilizzato;
4. valutare le modifiche degli indicatori del funzionamento globale e cognitivo in entrambi i gruppi e del disturbo affettivo nel gruppo dei soggetti depressi, dopo un tempo definito (6 mesi)
5. evidenziare una possibile correlazione tra il volume delle strutture cerebrali monitorate e le variabili psicometriche affettive, cognitive e funzionali.

CASISTICA E METODI

Pazienti consecutivamente accolti in ricovero ospedaliero per riabilitazione intensiva a seguito di GCLA, di età compresa tra i 18 e 65 anni. Di questi al-

meno 25 che manifestino Disturbo Depressivo Maggiore o Distimia, secondo i criteri del DSM IV (American Psychiatric Association, 1994), con punteggio minimo di 15 alla HDRS (Hamilton Depression Rating Scale), anamnesi psichiatrica negativa per patologia in asse I e II, in assenza di patologie internistiche clinicamente rilevanti, con anamnesi negativa per alcolismo o abuso di sostanze, e 25 soggetti che non presentando indicazioni al trattamento con antidepressivi non ricevono tale terapia.

Verranno considerati come criteri di esclusione:

- controindicazione all'esecuzione della RMN (claustrofobia, portatori di pace-maker o di protesi ferromagnetiche e del cristallino)
- trattamento con SSRI al momento dell'arruolamento
- controindicazioni al trattamento con SSRI
- assenza di deficit cognitivi
- alterazioni ECG a carico del tratto QT

Inoltre come variabili cliniche per il campione dei pazienti verranno prese in considerazione l'età di esordio della malattia (espressa in anni), l'eziopatogenesi della cerebrolesione, la presenza di epilessia post lesionale, la durata di malattia (espressa in mesi) ed eventualmente il numero degli episodi depressivi, la presenza di disturbi comportamentali.

Dopo una completa presentazione del protocollo di studio, i soggetti verranno reclutati una volta abbiano dato il loro consenso informato.

Protocollo

Al momento del reclutamento (T0), i pazienti vengono valutati con gli indicatori funzionali (FIM) e cognitivi (LCF); e per il disturbo psichico con apposite scale di valutazione psicometria: Hamilton Depression Rating Scale (HDRS), Beck Depression Inventory (BDI) e Clinical Global Impression scale-severity (CGI). Sempre a T0 i pazienti vengono valutati sull'asse cognitivo, con la batteria di test abitualmente utilizzata nelle GCLA (MMSE, funzioni esecutive, memoria, problem solving, visuopercezione. Si procederà poi all'esecuzione della RMN encefalica completata con studio volumetrico dell'ippocampo utilizzando apposito software dedicato.

Queste valutazioni precedono l'eventuale inserimento, per i pazienti con depressione, di terapia antidepressiva che verrà decisa sulla base delle indicazioni cliniche ed indipendentemente dagli scopi dello studio dal medico psichiatra di reparto. Analogamente la scelta del tipo di farmaco da utilizzare verrà lasciata al discernimento clinico del medico prescrivente.

Durante il trattamento verranno monitorati tutti gli eventi avversi indipendentemente dalla loro dipendenza dal trattamento o meno.

I pazienti, siano essi in trattamento farmacologico che no, svolgeranno durante la degenza il programma riabilitativo personalizzato esattamente.

Gli indicatori FIM e LCF, così come la batteria di test psicometrici e neuropsicologici verranno ritestati a 6 mesi; dopo lo stesso periodo verrà effettuata RMN di controllo.

I confronti verranno poi condotti:

- Per ogni soggetto tra indicatori e valori in ingresso e dopo 6 mesi;
- Tra le variazioni osservate nei gruppi di non trattati farmacologicamente e di trattati;
- Se possibile, in relazione al numero di soggetti, per le variazioni osservate all'interno del gruppo dei trattati in relazione al diverso tipo di farmaco utilizzato.

Il supporto tecnico-informatico

Le immagini verranno ottenute mediante l'uso dell'apparecchiatura di Risonanza Magnetica Nucleare ad 1.5 Tesla (Philips) dell' Ospedale Civile di Conegliano. Per tutti i soggetti verrà eseguito uno studio standard cerebrale senza mezzo di contrasto con sequenze T1 assiali e sagittali, DP/T2 e FLAIR assiali e T2 coronali, che comprendono l'area che va dal forame occipitale al vertice e dal piano frontale fino a quello occipitale e la regione temporale bilateralmente, per escludere anomalie neuroradiologiche. Verrà effettuata anche una sequenza T1 pesata 3D volumetrica, ottenendo 124 sezioni sagittali da 1,4 mm, con TE di 4,5 msec, TR di 25 msec e con matrice 192 x 256. Con tale sequenza otteniamo una acquisizione del volume parenchimale secondo piani sagittali che potranno essere ricostruiti con ottima definizione secondo piani assiali e coronali. L'uso di tale tecnica T1 pesata consente una buona definizione anatomica ed una significativa differenziazione tra la corteccia e la sostanza bianca.

Analisi statistica

L'analisi statistica sulla volumetria delle strutture in esame verrà effettuata per confrontare i volumi medi, espressi in cm³, del parenchima cerebrale totale, dell'ippocampo (totale, testa, corpo e coda), dei pazienti e dei controlli utilizzando una one way ANOVA .

La stessa analisi verrà successivamente condotta sui volumi totale, della testa, corpo e coda dell' ippocampo, e normalizzati sul volume cerebrale totale (usando la formula per la correzione del volume: volume standardizzato = volume assoluto/volume cerebrale totale di ogni soggetto x 1000 cm³), ottenendo in tal modo dati che esprimono il rapporto numerico tra due volumi (un numero puro).

Ci si avvarrà di un test a due code considerando significativa una differenza di probabilità con $p < 0,05$.

I dati volumetrici verranno correlati, all'interno della popolazione dei pazienti, alle caratteristiche cliniche (età di esordio, lunghezza di malattia, in mesi, e numero di episodi) alla risposta alla terapia antidepressiva, ai punteggi dei test psicometrici (HDRS, BDI e CGI) e neuropsicologici (LCF più batteria testistica) utilizzando il coefficiente di correlazione di Pearson, avvalendoci di un test a due code considerando significativa una differenza di probabilità con $p < .05$.

BIBLIOGRAFIA

- Pharmacological management for agitation and aggression in people with acquired brain injury. Fleminger S et al Cochrane Database Syst Rev. (2003)
- Escitalopram: a review of its use in the management of major depressive disorder in adults. Garnock-Jones KP, McCormack PL. CNS Drugs. 2010 Sep;24(9):769-96. doi: 10.2165/11204760-000000000-00000. Review.
- Constitutive and induced neurogenesis in the adult mammalian brain: manipulation of endogenous precursors toward CNS repair. Mitchell BD, Emsley JG, Magavi SS, Arlotta P, Macklis JD. Dev Neurosci. 2004 Mar-Aug;26(2-4):101-17. Review.
- Gross morphology and morphometric sequelae in the hippocampus, fornix, and corpus callosum of patients with severe non-missile traumatic brain injury without macroscopically detectable lesions: a T1 weighted MRI study. Tomaiuolo F, Carlesimo GA, Di Paola M, Petrides M, Fera F, Bonanni R, Formisano R, Pasqualetti P, Caltagirone C. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2004 Sep;75(9):1314-22
- Anterior cingulate volumes in never-treated patients with major depressive disorder. Yucel K, McKinnon MC, Chahal R, Taylor VH, Macdonald K, Joffe R, MacQueen GM. Neuropsychopharmacology. 2008 Dec;33(13):3157-63. Epub 2008 Mar 26. Related citations
- Differences in Resting-State Functional Magnetic Resonance Imaging Functional Network Connectivity Between Schizophrenia and Psychotic Bipolar Probands and Their Unaffected First-Degree Relatives. Meda SA, Gill A, Stevens MC, Lorenzoni RP, Glahn DC, Calhoun VD, Sweeney JA, Tamminga CA, Keshavan MS, Thaker G, Pearlson GD. Biol Psychiatry. 2012 Mar 6.
- Antidepressants stimulate hippocampal neurogenesis by inhibiting p21 expression in the subgranular zone of the hippocampus. Pechnick RN,

Zonis S, Wawrowsky K, Cosgayon R, Farrokhi C, Lacayo L, Chesnokova V. PLoS One. 2011;6(11):e27290. Epub 2011 Nov 4.

ASSESSMENT OF UPPER LIMB FUNCTION IN NON AMBULANT DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY (GUP11002)

DR.SSA MARIAGRAZIA D'ANGELO

E-MAIL: GRAZIA.DANGELO@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 2

Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

Tipo di ricerca

Bando Telethon UILDM 2010

Ente Capofila

Ospedale Policlinico Gemelli – Università Cattolica di Roma – Dr.ssa Marika Pane

Periodo di svolgimento

30.05.2012 – 30.05.2015

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Gli studi presenti in letteratura sulle abilità degli arti superiori in ragazzi affetti da Distrofia muscolare di Duchenne e più in generale in pazienti con malattie neuromuscolari risalgono agli anni 90. Inoltre, mentre sono stati fatti importanti passi avanti per i bambini deambulanti con DMD, non ci sono ancora studi prospettici per quest'altro gruppo di pazienti, con crescente dispiacere delle famiglie. Pertanto tali informazioni sembrano acquisire un'importanza sempre maggiore non solo per una migliore comprensione del grado di progressione della malattia ma anche per un possibile arruolamento di questi pazienti in studi futuri. Lo scopo di questo progetto è quello di identificare in una popolazione italiana misure d'outcome per pazienti non deambulanti affetti da DMD. Sono almeno 200 i bambini e ragazzi adulti affetti da DMD, con diagnosi geneticamente confermata, che hanno perso la deambulazione e che saranno inclusi in questo studio. Tutti saranno testati utilizzando delle scale che misurano abilità degli arti superiori importanti per la vita di tutti i giorni. I test saranno somministrati ad un tempo 0 e poi a 6 a 12 e a 18 mesi. Potremo così monitorare i possibili cambiamenti e l'entità di tali cambiamenti in pazienti con diversi livelli di abilità e diverse età. Questo ci fornirà

informazioni importanti sulla progressione della malattia e ci permetterà di identificare misure che siano il più adatte possibili da utilizzare in eventuali trial clinici futuri.

THE FAMILIES OF CHILDREN WITH NEUROMUSCULAR DYSTROPHIES: BURDEN, SOCIAL NETWORK AND PROFESSIONAL SUPPORT (GUP10002) - LA FAMIGLIA DEI PAZIENTI AFFETTI DA DISTROFIE MUSCOLARI: CARICO, RETE SOCIALE E SUPPORTO PROFESSIONALE

DR.SSA MARIAGRAZIA D'ANGELO

E-MAIL: GRAZIA.DANGELO@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 2

Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Proponente

Bando Telethon UILDM 2010

Ente Coordinatore:

II° Università di Napoli – Responsabile: Dr.ssa Lorenza Magliano

Collaborazioni

Università di Napoli: Cardiomiologia e Genetica Medica, Dipartimento di Medicina Sperimentale; IRCCS “C. Mondino” di Pavia: Unit of Child Neuropsychiatry; Università di Messina: Dipartimento di Neuroscienze, Scienze Psichiatriche e Anestesiologiche; Università Cattolica di Roma: Neuropsichiatria Infantile; Università di Roma: Dept. Neurosciences, Unit of Molecular Medicine for Neuromuscular and Neurodegenerative Disorders; Università di Padova: Dipartimento di Neuroscienze; IRCCS “Stella Maris” di Calambrone: Dept. Developmental Neuroscience

Periodo di svolgimento

28.06.2011 – 27.06.2013

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Le distrofie muscolari (DM) sono patologie degenerative con livelli progressivi di disabilità, che incidono significativamente sulla qualità di vita dei pazienti e richiedono un coinvolgimento familiare nell'assistenza. Nonostante non siano ancora disponibili cure risolutive, l'aumento della qualità dei trattamenti

e degli strumenti diagnostici ha portato negli ultimi anni ad un aumento delle aspettative di vita per i pazienti e, conseguentemente, della durata dell'assistenza familiare.

Il coinvolgimento familiare nelle cure a pazienti con patologie di lunga durata facilita l'adattamento del paziente alla patologia, ne migliora la collaborazione nei programmi terapeutici e ne influenza positivamente la risposta ai trattamenti. Tuttavia esso può essere molto impegnativo per le famiglie, se il sostegno professionale è insufficiente.

Con il termine carico familiare si indicano le conseguenze pratiche e psicologiche legate all'assistenza e alla convivenza con un congiunto affetto da una malattia di lunga durata. Tra le prime, più spesso sono segnalate le difficoltà lavorative, i problemi economici, la riduzione dei rapporti sociali e delle attività ricreative. Tra le seconde, vengono riportate sensi di colpa, tensione ed irritabilità, depressione, la sensazione di inadeguatezza. Gli studi hanno anche evidenziato l'importanza della rete sociale e del sostegno professionale tra i fattori protettivi di carico familiare. Tuttavia, mentre numerosi studi sono stati condotti sul carico familiare nelle patologie mentali e nei tumori, solo pochi dati sono disponibili sul carico familiare nelle DM e nessuno sul carico nei minori.

La mancanza di questi dati rende più difficile l'allocazione delle risorse, economiche e professionali a sostegno delle famiglie, nonché lo sviluppo di interventi di sostegno basati sulla valutazione dei bisogni di cura specifici.

Lo studio sarà condotto in 8 centri specializzati per la diagnosi e la cura delle DM, in ciascuno dei quali verrà reclutato un campione randomizzato di 100 casi e altrettanti familiari—chiave e, ove presenti, familiari minorenni più prossimi per età al paziente. Esso fornirà dati rappresentativi della situazione delle famiglie di pazienti con DM nel nostro Paese, utili per la messa a punto di programmi di sostegno.

MODELS OF ATLASTIN FUNCTION AND DYSFUNCTION - MODELLI DI FUNZIONE E DISFUNZIONE DI ATLASTINA (GGP11189)

DR. ANDREA DAGA

E-MAIL: DAGA@UNIPD.IT

Linea di Ricerca n. 5

Neurobiologia

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Proponente

Bando Telethon 2011

Ente Coordinatore

IRCCS "E. Medea"

Collaborazioni

Kyoto University, Japan: Department of Molecular Engineering

Periodo di svolgimento

17.11.2011 – 16.11.2014

Polo scientifico

Conegliano e Pieve di Soligo

DESCRIZIONE SINTETICA

Lo scopo di questa ricerca è di definire il meccanismo patologico responsabile di una forma di paraplegia spastica ereditaria (HSP) associata a mutazione del gene che codifica per l'atlastina (SPG3A) e di creare nuovi modelli animali per comprendere i meccanismi che provocano l'insorgenza di questo disordine neurologico.

In questo progetto verranno studiate sia atlastina di *Drosophila*, la cui funzione è stata recentemente individuata, sia le atlastine umane, per definire il loro ruolo all'interno della cellula.

Nel corso di questo studio saranno applicati diversi approcci sperimentali. Realizzeremo degli studi strutturali che ci permetteranno di chiarire il meccanismo di funzionamento di atlastina e di stabilire in che modo mutazioni patologiche identificate nei pazienti con HSP possono modificare la struttura e quindi la funzione di atlastina. Identificheremo proteine che possono regolare

l'attività di atlastina per inserirla nel contesto di uno specifico processo cellulare. Mutazioni di queste proteine regolatorie potrebbero rivelarsi responsabili dell'insorgenza di altre forme di HSP o simili malattie del motoneurone nell'uomo. Infine, realizzeremo modelli di malattia sfruttando la semplicità di *Drosophila melanogaster* (il comune moscerino della frutta) come organismo modello.

La disponibilità di un modello di malattia per SPG3A è di fondamentale importanza per chiarire le basi cellulari della malattia e per identificare farmaci per il trattamento delle HSP. Gli approcci sperimentali e l'esperienza acquisiti nel corso dell'analisi funzionale dell'atlastina in *Drosophila* saranno di grande utilità per la realizzazione del progetto proposto, che consentirà di comprendere la patogenesi della paraplegia spastica ereditaria aprendo la strada a nuovi approcci terapeutici.

SYSTEMATIC GENE HUNTING FOR NUCLEAR MODIFIERS IN LEBER'S HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY AND THEIR VALIDATION IN MODELS SYSTEMS - IDENTIFICAZIONE DEI GENI MODIFICATORI NUCLEARI NELLA NEUROPATIA OTTICA EREDITARIA DI LEBER E LORO VALIDAZIONE IN LINEE CELLULARI E ORGANISMI MODELLO (GGP11182)

DR. ANDREA DAGA

E-MAIL: DAGA@UNIPD.IT

Linea di Ricerca n. 5

Neurobiologia

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Proponente

Bando Telethon 2011

Ente Coordinatore:

Università di Bologna, Dipartimento di Scienze Neurologiche – Laboratorio di Neurogenetica (Prof. Valerio Carelli)

Collaborazioni

Università degli Studi di Bari "Aldo Moro": Dipartimento di Biochimica e Biologia Molecolare "Ernesto Quagliariello"; IRCCS Burlo Garofolo di Trieste: Servizio di Genetica Medica; Università degli Studi di Trieste

Periodo di svolgimento

Da novembre 2011 per 36 mesi

Polo scientifico

Conegliano e Pieve di Soligo

DESCRIZIONE SINTETICA

La neuropatia ottica ereditaria di Leber (LHON) è una patologia che porta alla perdita della funzione visiva, caratterizzata dalla degenerazione selettiva di uno specifico tipo cellulare retinico, le cellule ganglionari della retina, da un esordio giovanile e dalla prevalenza maschile. Il difetto genetico, noto da molti anni, produce un mal funzionamento delle proteine all'interno dei mitocondri. Questi ultimi sono degli organelli presenti all'interno delle cellule

e rappresentano i principali produttori dell'energia necessaria alla sopravvivenza cellulare. Allo stesso tempo i mitocondri possono produrre anche specie reattive dell'ossigeno, molecole tossiche e potenzialmente dannose in grado di innescare la morte della cellula (apoptosi). Sebbene il principale difetto genetico risieda nel DNA mitocondriale (mtDNA), una piccola molecola circolare presente all'interno dei mitocondri, resta ancora inspiegata la penetranza variabile per cui non tutti gli individui portatori della mutazione del mtDNA sviluppano la malattia. La presenza del difetto genetico nel mtDNA quindi risulta essere necessario, ma non sufficiente, per la comparsa dell'atrofia ottica ed è evidente l'esistenza di fattori capaci di modulare il rischio di manifestare la malattia. Questo progetto ha lo scopo di identificare i geni nucleari modulatori che possono contribuire all'espressione dell'atrofia ottica. Per questo, i campioni collezionati durante la realizzazione del precedente progetto Telethon verranno analizzati con diversi approcci genetici che si avvalgono di tecnologie di ultima generazione. I risultati ottenuti saranno validati in modelli che comprendono linee cellulari derivate da pazienti LHON e un nuovo modello, recentemente sviluppato, di mosca mutante. Siamo certi che la piena comprensione dei complessi meccanismi genetici che regolano l'espressione della LHON sarà di grande aiuto ai pazienti e fornirà degli utili strumenti per mettere a punto una terapia che curi questa patologia.

ROBOTIC-ASSISTED LOCOMOTION TRAINING IN CHILDREN AFFECTED BY CEREBRAL PALSY (CP): COMPARISON BETWEEN THREE DIFFERENT REHABILITATION APPROACHES

DR.SSA ANNA CARLA TURCONI

E-MAIL: ANNACARLA.TURCONI@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 2

Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Proponente

Bando Fondazione Mariani

Ente Coordinatore

IRCCS "E. Medea"

Collaborazioni

Rehabilitation Institute "Habilita" di Zingonia

Periodo di svolgimento

01.01.2011 – 31.12.2012

Polo scientifico

Bosisio Parini

SUMMARY OF THE PROJECT

Studies performed on pediatric population demonstrated that intensive functional training is effective in improving the motor abilities and muscle strength of children affected by Cerebral Palsy. Rehabilitation focused on improving balance and gait plays an important role for these children and the recently developed techniques for the activation of motor pattern through robotic devices could represent an important tool for the facility to perform repetitive movement such as during gait. A robotic device providing lower limbs movement that reproduce gait pattern can represent a new and effective tool for gait rehabilitation of children affected by Cerebral Palsy. In addition, the movement provided by a robotic device are repeatable in each training session and for all the participants, and some parameters, such as the gait speed can be adjusted on the basis of patient's characteristics.

Recently, a new pediatric version of Lokomat was developed, but only one study evaluated the effectiveness of treatment with that device. The study performed by Meyer-Heim et Al. (Meyer-Heim A et AL, 2009) involved 22 children affected by bilateral spastic subtype of Cerebral Palsy and the results showed statistically significant improvement in the 10 meter walking test and in the dimension D of Gross Motor Functional Measure (GMFM)-66, whereas the 6 minutes walk test, the Functional Assessment Questionnaire and the dimension E of GMFM-66 showed not significant changes. The same research group performed one more recent additional study (Borggraefe I et al. 2010). However, this study presented some limitation: no control group was included, no baseline period was established and the assessment was performed through clinical functional scales that are operator-dependent and can be not objective. We propose a project for evaluating the effect on gait, posture and mobility of a training with pediatric Lokomat in comparison with traditional physiotherapy. The outcome assessment will be performed with traditional clinical scales (Ashworth scale, 6-minute walk test, Gross Motor Function Measure and Functional Assessment Questionnaire) and with 3D Gait Analysis, that has been widely demonstrated to be a reliable, quantitative and objective tool for treatment evaluation in children affected by Cerebral Palsy. (Gage JR, et al.1996). In particular we will consider 3 different groups of patients (10 patients for each group) with different rehabilitative approaches, i) Intensive robotic rehabilitation program (4 days a week), ii) Intensive standard physical therapy (PT) program (4 days a week), iii) Intensive integrated robotic + PT program (2+2 days a week). The treatments will last 10 consecutive weeks. The results obtained in three different groups of patients will be compared in order to underline the difference between the treatments used. The goal of our project is to validate innovative rehabilitation methods with a relevant impact on the national healthcare system. It will be possible to provide the patient a greater rehabilitation work. Finally, it would be possible to have a better comprehension of the neural plasticity that is the basis for a functional recovery. These methods can be gathered and integrated and not conflicting to the traditional path. Anyway they should be able to offer the patient a value-added with a smaller effort by the physical therapist. So, it will be possible to improve the recovery and to reduce the time needed to reach it. Both these aspects are very relevant for the national healthcare system, in terms of cost reductions and service improvement. To achieve the aim, traditional physiotherapy treatment and Lokomat training will be compared; the study will be performed in gait laboratory and clinic departments of IRCCS E. Medea. Lokomat training will be performed at Casa di Cura Habilita.

REFERENCES

- Borggraefe I et al. Sustainability of motor performance after robotic-assisted treadmill therapy in children: an open, nonrandomized baseline-treatment study. *Eur J Phys Rehabil Med*. 2010 Feb 18. [Epub ahead of print]
- Gage JR. The role of gait analysis in the treatment of cerebral palsy *J Pediatr Orthop*. 1994 Nov-Dec; 14(6):701-2.
- Garvey MA, Giannetti ML, Alter KE, Lum PS. Cerebral palsy: new approaches to therapy. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2007 Mar;7(2): 147-55. Review.
- Husemann B. et al. Effects of locomotion training with assistance of a robot-driven gait orthosis in hemiparetic patients after stroke: a randomized controlled pilot study. *Stroke*. 2007 Feb;38(2):349-54. Epub 2007 Jan 4.
- Mayr A et al. Prospective, blinded, randomized crossover study of gait rehabilitation in stroke patients using the Lokomat gait orthosis. *Neurorehabil Neural Repair*. 2007 Jul-Aug;21(4):307-14. Epub 2007 May 2
- Meyer-Heim A et al. Improvement of walking abilities after robotic-assisted locomotion training in children with cerebral palsy. *Arch Dis Child*. 2009 Aug;94(8):615-20. Epub 2009 Feb 10.
- Sheffler LR, Chae J, Neuromuscular electrical stimulation in neurorehabilitation. *Muscle Nerve*. 2007 May;35(5):562-90.
- Winstein CJ. Knowledge of results and motor learning--implications for physical therapy. *Phys Ther*. 1991 Feb;71(2): 140-9. Review
- Wirz M et al. Effectiveness of automated locomotor training in patients with chronic incomplete spinal cord injury: a multicenter trial *Arch Phys Med Rehabil*. 2005 Apr;86(4):672-80.

STUDIO MEDIANTE TENSORE DI DIFFUSIONE DEL DANNO CEREBRALE RADIOINDOTTO CORRELATO A DEFICIT COGNITIVI IN POPOLAZIONE PEDIATRICA

DR.SSA GERALDINA POGGI

E-MAIL: GERALDINA.POGGI@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 2

Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Proponente

Ricerca Regione Lombardia – Call ricerca indipendente 2010

Ente Coordinatore

IRCCS “E. Medea”

Collaborazioni

Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori di Milano

Periodo di svolgimento

04.04.2011 – 03.04.2013

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Descrizione delle conoscenze disponibili e altre ricerche in corso nell'area d'intervento interessata

I trattamenti adiuvanti e in particolare terapia radiante (RT) correlata al trattamento di tumori cerebrali dell'infanzia hanno un intrinseco effetto neurotossico che si manifesta a distanza con deficit cognitivi differenziati (QI, attenzione, memoria ecc). A seconda del tipo istologico di tumore cerebrale vengono utilizzati protocolli diversi, che possono prevedere o l'irradiazione di tutto il SNC o la sola irradiazione focale della sede del tumore.

Dal punto di vista neuroradiologico le metodiche di risonanza magnetica convenzionale hanno dimostrato in questi pazienti, studiati a distanza dal trattamento, alterazioni aspecifiche quali iperintensità della sostanza bianca (SB) ed atrofia sia cortico che sotto-corticale. L'utilizzo di metodiche RM

più avanzate ha permesso di quantificare la perdita di volume della SB nei soggetti radiotrattati, nonché di dimostrare, attraverso la spettroscopia, la riduzione di N-acetilaspargato in diverse aree cerebrali.

Il danno strutturale della SB può essere tuttavia meglio caratterizzato dall'impiego di una particolare applicazione della RM, denominata DTI (Diffusion Tensor Imaging).

Attraverso lo studio della direzione secondo la quale diffondono le molecole di acqua presenti a livello cerebrale, il DTI è in grado di fornire informazioni indirette sulla integrità ultrastrutturale della SB (mielinizzazione, diametro delle fibre e loro compattezza, distribuzione degli spazi cellulari, citoscheletro). Una abbondante letteratura in materia ha dimostrato come, dopo RT, parametri DTI come la anisotropia frazionaria (FA) e la diffusività media (MD) siano alterati anche a distanza di tempo rispetto al trattamento. Tuttavia sono carenti gli studi che correlano il danno "strutturale" misurato tramite DTI al danno cognitivo post-RT.

Nuove conoscenze prevedibili attraverso il progetto ed impatto previsto sul SSR

Scopo della ricerca è valutare l'associazione tra deficit cognitivi/neuropsicologici acquisiti dopo RT focale e danno della SB quantificato attraverso metodica DTI.

Lo studio dei pazienti trattati con RT focale permetterebbe di correlare volume e dosi di RT con alterazioni morfo-strutturali alla RM e danni intellettivi al fine di identificare eventuali aree critiche nella genesi dei problemi cognitivi. Tale obiettivo non sarebbe perseguibile con altrettanta efficacia studiando gli esiti di pazienti trattati con RT craniospinale, in quanto tutte le aree encefaliche sono sottoposte al trattamento.

L'identificazione delle strutture maggiormente danneggiate nei pazienti radiotrattati con deficit cognitivo, può teoricamente contribuire ad una migliore pianificazione degli interventi di RT che risparmino le aree più sensibili e riducano la comparsa di problematiche cognitive e conseguentemente di apprendimento, riducendo i bisogni riabilitativi e di sostegno scolastico, favorendo un reinserimento sociale e scolastico meno problematico.

L'individuazione di una associazione statisticamente significativa tra i parametri indagati può fornire, inoltre, nuove conoscenze sul ruolo del danno radioindotto della SB nella patogenesi del deficit cognitivo post RT.

METODOLOGIA APPLICATA

Verranno arruolati nella ricerca 30 pazienti in età pediatrica affetti da patologia tumorale encefalica primitiva sottoposti a RT focale. Criteri di inclusione

saranno:

- quadro clinico relativo alla neoplasia cerebrale stabile dal tumore primitivo
- latenza dal trattamento RT \geq 3 anni
- irradiazione cerebrale focale
- assenza di lesioni post-chirurgiche significative.

I pazienti così identificati verranno sottoposti a RM a 3T secondo protocollo standardizzato che comprenda sequenza morfologica 3D-T1 (voxel: 1x1x1mm) e 3D-FLAIR (voxel 1x1x1mm) e sequenza DTI ad alta risoluzione (voxel 2x2x2mm, 32 direzioni, b:1000 s/mm²) su tutto l'encefalo.

Inoltre, i pazienti verranno sottoposti ad una valutazione cognitiva e neuropsicologica tramite l'applicazione di test standardizzati che consentono la comparazione delle prestazioni a differenti età ed una associazione tra i risultati e specifiche aree cerebrali. Il livello intellettuale verrà valutato tramite le Scale di Intelligenza Wechsler (WPPI-R, WISC-R, WAIS) (Wechsler, 1986, 1987), selezionata in base all'età cronologica dei soggetti. Tale strumento psicometrico fornisce tre differenti quozienti intellettivi (QI), quello verbale (QIV), quello di performance (QIP) e quello totale (QIT).

Verranno valutate, inoltre, le capacità attentive (tramite il Continuous Performance Test (CPT)), la memoria (mediante la riproduzione a memoria delle Figure di Rey (A e B)), e le funzioni esecutive (tramite il Wisconsin Card Sorting Test) e le prassie (utilizzando la riproduzione su copia delle Figure di Rey (A e B) ed il Purdue Pegboard).

I pazienti verranno suddivisi in due gruppi: pazienti radiotrattati con decadimento cognitivo e pazienti radiotrattati con buon mantenimento del livello cognitivo.

I dati raccolti verranno successivamente analizzati mediante tecniche di post-processing computerizzato con software dedicati (TORTOISE, FSL, etc) e mediante analisi statistiche multivariate.

WORK PACKAGE

INT Milano, Pediatria: Selezione della casistica in relazione alle variabili di arruolamento già indicate. Contatto con i pazienti e le loro famiglie per coordinare la valutazione oncologica con quella neuro-funzionale e morfologica da effettuarsi successivamente presso l'IRCCS Eugenio Medea. Valutazione del piano di cura ricevuto secondo i parametri giudicati validi per la valutazione statistica.

INT Milano, Radiologia RMN: Rivalutazione oncologica nei tempi richiesti dai piani di trattamento di ogni singolo paziente. Effettuazione di sequenze volumetriche per l'opportuna integrazione nei software dedicati alla radioterapia che permettano la realizzazione del WP successivo.

IRCCS E. Medea, Riabilitazione NeuroOncologica: applicazione di protocollo per valutazione cognitiva/neuropsicologico con l'applicazione di test standardizzati, suddividendo i pazienti nei due gruppi come sopra esposto.

IRCCS E. Medea, Radiologia RMN: acquisizione dei dati di DIFFUSION TENSOR IMAGING con protocollo ad alta risoluzione su apparecchio RM 3T. Post-processing e analisi dei set di dati mediante software dedicati per la valutazione dei parametri FA e MD. Integrazione con i dati morfologici raccolti presso l'INT.

INT Milano, Radioterapia: Alla luce della valutazione RMN 3-T comparazione/integrazione delle immagini di RMN con i software appositi dedicati ai piani di trattamento delle aree valutate come "sensibili" ai danni morfologici, cognitivi e neuropsicologico.

IRCCS E. Medea: verifica e analisi dei dati raccolti, studio delle correlazioni cliniche e strumentali.

RISULTATI PRINCIPALI E SECONDARI ATTESI

Primari

- Verificare la presenza di alterazioni della FA e MD nella SB nei due gruppi di soggetti radiotrattati
- Correlare i valori di FA e MD medi alle performance cognitive e neuropsicologiche dei soggetti radiotrattati tenendo conto anche di variabili multiple quali età alla diagnosi, presenza di idrocefalo all'esordio di malattia, anamnesi chirurgica, uso della chemioterapia, età al trattamento radiante, latenza dal trattamento
- Valutare eventuali differenze nei valori di FA e MD tra pazienti radiotrattati con decadimento cognitivo e pazienti senza decadimento cognitivo
- Correlare le aree con FA e MD alterate allo schema RT adottato per valutare la presenza di associazioni statisticamente significative
- Individuare le aree cerebrali più sensibili al decadimento cognitivo

Secondari

- Individuare nuovi protocolli di irradiazione/trattamento conformazionale in maniera ulteriormente personalizzata, aree particolarmente sensibili alla radioterapia per ridurre gli esiti e, conseguentemente, i costi sociali ed economici della riabilitazione e della presa in carico dei pazienti

NOVITÀ DELLA RICERCA/PROGETTO PROPOSTI E TRASFERIBILITÀ DEI RISULTATI

Non esistono in letteratura studi specifici sull'interazione tra alterazioni morfo-

strutturali di aree trattate con radioterapia focale e deficit cognitivi.

I dati presenti di letteratura sulla valutazione del danno radioindotto mediante DTI sono consistenti, tuttavia pochissimi studi correlano tali misurazioni con le performance cognitive dei pazienti.

Inoltre tali studi si avvalgono di metodologie di analisi dei dati non completamente standardizzate ed operatore dipendente (posizionamento manuale di regioni di interesse sulle immagini RM), mentre sono attualmente disponibili, e verranno da noi utilizzate, metodiche più rigorose e riproducibili (analisi quantitative computerizzate mediante softwares dedicati).

La valutazione di correlazione tra deficit cognitivo e danno misurato dal DTI nelle diverse aree cerebrali è un approccio nuovo. Gli studi pubblicati infatti si limitano alla comparazioni tra valori medi di FA e MD dell'intero encefalo senza procedere ad una analisi più dettagliata per singole aree.

Infine l'utilizzo di un sistema RM a 3T, di una bobina ricezione a 32 canali e di un protocollo DTI a 32 direzioni consente l'acquisizione di dati grezzi a maggiore risoluzione spaziale e con un rapporto segnale/rumore ed una qualità superiori rispetto a quanto finora pubblicato.

Prodotti intermedi e finali attesi e modalità di utilizzo

Si ipotizza la possibilità di identificare delle aree cerebrali maggiormente sensibili al trattamento RT: questo permetterebbe di predisporre protocolli di intervento differenti con conseguente riduzione/evitamento di danni in ambito cognitivo/neuropsicologico.

Indicatori di risultato intermedi e finali

Considerato il tipo di impostazione della ricerca, non è possibile applicare un indicatore di risultato; si tratta, infatti, di una ricerca prevalentemente di tipo esplorativo, ma, nel momento in cui le nostre ipotesi fossero confermate, lo studio potrebbe costituire un presupposto determinate per la riduzione delle problematiche cognitive, che costituiscono, al momento, la causa principale di difficoltà nel reinserimento sociale a lungo termine nel paziente con neoplasia cerebrale in età evolutiva.

Collegamento con il PSSR

Questo progetto di ricerca si inserisce pienamente negli obiettivi del PSSR, in quanto si tratta di un progetto innovativo, dove la ricerca è mirata a favorire l'attuazione di un nuovo piano di cura oncologica promuovendo il miglioramento della qualità di cura e, conseguentemente, della qualità di vita dei pazienti e delle loro famiglie.

Si tratta, inoltre, di un progetto che potrebbe avere forte risonanza a livello

internazionale, in quanto ormai diffusamente lo studio dei nuovi protocolli oncologici è imprescindibile dalla riduzione dei problemi a lungo termine. La qualità di vita dei pazienti viene attualmente considerata il vero endpoint delle cure oncologiche.

MONITORAGGIO DEGLI EVENTI AVVERSI IN PEDIATRIA (MEAP)

DR. MASSIMO MOLTENI

E-MAIL: MASSIMO.MOLTENI@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente proponente

Bando Regione Lombardia

Ente coordinatore

A.O. "Luigi Sacco" di Milano

Collaborazioni

AO "Luigi Sacco": Pediatria; A.O. di Busto Arsizio - Tradate – Saronno; A.O. Niguarda Ca' Granda di Milano; A.O. di Vimercate - Desio - Carate Brianza; A.O. Fatebenefratelli - Macedonio Melloni di Milano; Fondazione IRCCS "Cà Granda" Ospedale Maggiore Policlinico -Mangiagalli – Regina Elena; A.O. di Garbagnate - Bollate – Rho; Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori di Milano; A.O. San Carlo di Milano; A.O. San Paolo di Milano; Pediatri di libera scelta (ASL: Milano, Monza e Brianza, Lecco, Varese, Como, Sondrio, Valle Camonica)

Periodo di svolgimento

01.09.2011 – 31.08.2013

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Razionale

Dalla nascita fino all'età puberale i bambini rappresentano i soggetti maggiormente esposti agli effetti tossici ed indesiderati dei farmaci. Durante questa fase della vita infatti, l'organismo non è ancora maturo ed i vari apparati ed organi sono in via di sviluppo. A ciò va aggiunto che meno del 15% di tutti i farmaci commercializzati a livello mondiale e meno del 50% di quelli espressamente destinati alla fascia pediatrica vengono utilizzati sulla base

di prove cliniche attestanti le specifiche caratteristiche di rischio/beneficio nel bambino con conseguente, diffuso impiego 'off-label' dei farmaci in pediatria (con dosaggi, indicazioni e formulazioni non provati specificatamente per l'età pediatrica) e presenza di dati limitati sui profilo di efficacia e sicurezza dei farmaci in questa fascia di età. Inoltre, le ADR che si possono manifestare in età pediatrica non sempre sono assimilabili a quelle dell'adulto. Infatti, alcune reazioni si possono osservare solo nei bambini a causa dell'incompleta maturità degli organi e degli apparati o per via di una maggiore suscettibilità a sviluppare alcune ADR.

Un rapporto dell'ADRAC (Adverse Drug Reactions Advisory Committee), l'Agenzia di Farmacovigilanza Australiana, indica che, a parte le segnalazione sui vaccini, solo il 3% delle ADR da farmaci pervenute nel corso 2004 sono riferite a bambini di età compresa tra 0 e 12 anni, suggerendo un possibile rischio di underreporting (sottosegnalazione), che rappresenta un problema importante da sottoporre all'attenzione di tutti gli operatori sanitari e soprattutto dei pediatri. Anche in Italia vi è un problema di underreporting, infatti nel 2007 circa il 20% delle segnalazioni inserite ha riguardato i bambini e la maggior parte di esse erano relative ai vaccini; su un totale di 1503 segnalazioni pediatriche solo 443 (29.5%) sono risultate relative a farmaci.

La segnalazione spontanea di sospette ADR deve rappresentare un mezzo importante per promuovere segnali di allarme su possibili effetti avversi non noti in età pediatrica, in presenza di scarsi dati sperimentali ed in condizioni in cui l'uso off-label del farmaco può essere una necessità.

Che cosa aggiunge tale progetto alle conoscenze

Questo progetto si propone di incentivare la segnalazione spontanea di ADR da parte dei medici afferenti alle U.O. di Pediatria dei diversi Ospedali e dei Pediatri di libera scelta, nonché la valutazione degli eventi avversi riscontrati in questa fascia di età.

OBIETTIVI

- Obiettivi primari

Obiettivi primari del progetto saranno incentivare la segnalazione spontanea da parte dei medici pediatri afferenti al progetto, valutare la comparsa di ADR in età pediatrica ed il loro impatto su salute e qualità della vita dei pazienti.

- Obiettivi secondari

Incentivare un progressivo coinvolgimento dei segnalatori in una rete permanente di farmacovigilanza pediatrica con rapida messa a disposizione (tramite e-mail) dei risultati del sistema. Fornire ai segnalatori dei report mensili

sull'andamento del progetto e degli spunti di educazione continua sulla sicurezza dei farmaci e sui benefici che il sistema di segnalazione spontanea può apportare alla comunità sia in termini di riduzione del rischio per i pazienti sia in termini di risparmio delle risorse per la cura delle ADR.

MATERIALI E METODI

A tutti i medici coinvolti nel progetto verrà fornita, tramite e-mail, la scheda di segnalazione spontanea in formato elettronico. Ad ogni ADR identificata, il medico dovrà compilare in ogni suo campo la scheda di segnalazione ed inviarla al responsabile di Farmacovigilanza dell'Ospedale di appartenenza/ASL e contestualmente alla U.O. di Farmacologia Clinica dell'Ospedale Sacco. Le segnalazioni verranno inserite nel database ministeriale ed in un database costruito ad-hoc presso la suddetta U.O. di Farmacologia Clinica dell'Ospedale Sacco. I dati ricavati dalle segnalazioni spontanee verranno analizzati mensilmente ed inseriti in dei report informativi contenenti dati relativi a caratteristiche dei pazienti, ADR riportate e farmaci imputati.

RISULTATI ATTESI

1. Aumento del numero di segnalazioni di farmacovigilanza e della qualità delle stesse provenienti all'AIFA dalle Aziende e dai PLS aderenti al progetto
2. Valutare la comparsa di ADR insorte durante la degenza e di quelle riscontrate alle visite ambulatoriali
3. Quantificare i ricoveri ospedalieri da sospette ADR
4. Individuazione dei farmaci più frequentemente coinvolti
5. Individuazione di ADR associate all'uso dei farmaci in pediatria
6. Consentire un'analisi delle ricadute economiche delle ADR

DADA STUDY - EFFETTI DELLA SUPPLEMENTAZIONE CON ACIDO DOCOSAESAENOICO -DHA- SUI DISTURBI DELL'ATTENZIONE

DR.SSA MARIA NOBILE

E-MAIL: MARIA.NOBILE@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Periodo di svolgimento

Inizio 11.05.2012

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Negli ultimi anni numerose ricerche hanno indagato il ruolo svolto dagli acidi grassi polinsaturi (PUFA) presenti nella dieta sullo sviluppo del cervello, dimostrando come tale classe di lipidi sia particolarmente importante per lo sviluppo e la funzionalità del sistema nervoso e possa persino costituire un fattore protettivo rispetto alla possibilità di insorgenza di psicopatologia (McNamara et al., 2006; Freeman et al., 2006). Un elevato apporto di acidi grassi polinsaturi è stato infatti associato ad un ridotto rischio di disturbi neuropsichiatrici, come depressione e malattie degenerative (Appleton et al., 2006). Nel campo della psicopatologia dell'età evolutiva, l'osservazione di un'associazione sistematica tra sintomi di disattenzione, iperattività ed impulsività e un basso livello di acidi grassi polinsaturi della serie n-3 (omega 3), ed in particolare, dell'acido decosaesaenoico -DHA- nel sangue ha fatto ipotizzare che questi ultimi possano essere coinvolti nell'eziologia del Disturbo da Deficit di Attenzione/Iperattività (ADHD, acronimo inglese) (Stevens et al., 2003; Chen et al., 2004; Colter et al., 2008).

Sulla base di tali evidenze, sono stati condotti alcuni studi in bambini affetti da ADHD con il fine di verificare se un elevato apporto di acidi grassi polinsaturi potesse ridurre i sintomi di disattenzione ed iperattività. Transler (Transler et al., 2010) ha recentemente pubblicato una revisione critica degli studi randomizzati controllati verso placebo che hanno indagato l'efficacia degli acidi grassi polinsaturi sulla sintomatologia ADHD. Secondo tale ana-

lisi della letteratura, le ricerche che prevedevano la supplementazione di un singolo acido grasso (della serie n-3 o della serie n-6) hanno mostrato una lieve riduzione della sintomatologia a livello comportamentale senza individuare miglioramenti nel funzionamento neuropsicologico. Altri studi hanno rilevato miglioramenti significativi sia a livello comportamentale che cognitivo, somministrando ai partecipanti con ADHD un mix di acidi grassi polinsaturi a catena lunga (appartenenti sia alla serie n-3, sia alla serie n-6). Tuttavia, gli studi pubblicati non consentono di esprimere conclusioni definitive circa l'efficacia della supplementazione di acidi grassi nella dieta di bambini affetti da ADHD anche a causa di alcune difficoltà metodologiche. In primo luogo, non è stato raggiunto un consenso circa la serie di acidi grassi (n-3 vs. n-6) da implementare nella dieta di soggetti con ADHD né riguardo la strategia di supplementazione più efficace (somministrazione singolo acido vs. mix di acidi grassi a catena lunga). Inoltre, la valutazione degli aspetti comportamentali ed emotivi utilizzati nelle ricerche citate è risultata essere poco sistematica e, in gran parte, dipendente dalla somministrazione di questionari compilati da genitori ed insegnanti. Infine, allo stato attuale, nessuno studio con supplementazione di acidi grassi polinsaturi ha valutato l'eventuale ricaduta dell'incremento del livello di tali lipidi nel sangue sulla struttura e sul funzionamento delle strutture cerebrali mediante tecniche di neuroimaging. In considerazione di tali elementi, viene proposto con la presente ricerca uno studio randomizzato, controllato in doppio cieco verso placebo, a gruppi paralleli, per la valutazione della sicurezza e dell'efficacia della supplementazione dell'acido decosaesaenoico (DHA), somministrato mediante DHA Ricoil perle® 2 volte al giorno per 24 settimane, in pazienti affetti da Disturbo da Deficit di Attenzione/Iperattività (con o senza comorbidità). Lo studio valuterà pertanto la composizione e l'eventuale modifica degli acidi grassi circolanti nel sistema sanguigno e la funzionalità della corteccia prefrontale in seguito alla supplementazione di DHA versus olio di germi di grano (placebo).

Il progetto prevede la partecipazione di 50 bambini affetti da ADHD. I bambini verranno tutti sottoposti ad intervento dietetico e saranno randomizzati in due gruppi: i) **gruppo 1**, supplementato con 500 mg di DHA/giorno; ii) **gruppo 2** (placebo), supplementato con 500 mg di olio di germe di grano. Tale fase avrà durata di 24 settimane. La supplementazione verrà fornita per bocca mediante DHA Ricoil perle® (2 capsule/giorno); tali dosaggi sono sicuri e privi di effetti collaterali.

Prima di effettuare la supplementazione e dopo 3, 6, 12 (follow-up) mesi verranno effettuate le seguenti valutazioni (per i dettagli tempistiche e test somministrati vedi Protocollo allegato):

- **Valutazione psicologia e comportamentale** mediante intervista strut-

turata svolta in setting controllato affiancata alla somministrazione di scale specifiche a bambino, genitori ed insegnanti volte alla misurazione dei sintomi di disattenzione, iperattività ed impulsività e sintomi psicopatologici associati;

- **Valutazione cognitiva e neuropsicologica** tramite somministrazione di test psicometrici (4 subtest WISC III) e di test computerizzati per esaminare abilità attentive e funzioni esecutive;
- **Monitoraggio dell'accrescimento e delle condizioni cliniche generali** mediante visita pediatrica, rilevazione della pressione arteriosa, rilevazione di peso e altezza,
- **Monitoraggio delle abitudini nutrizionali** tramite compilazione da parte dei genitori di questionari delle frequenze alimentari;
- **Valutazione del dosaggio del profilo lipidico ematico** (acidi grassi polinsaturi serie n-3 e n-6) mediante prelievo ematochimico con microgoccia su carta bibula (metodo Galli);
- **Valutazione dell'attivazione e del funzionamento cerebrale** mediante Spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS) all'arruolamento e a 6 mesi: la tecnica NIRS permette una valutazione non invasiva dell'attività cerebrale durante l'esecuzione di test neuropsicologici specifici per verificare variazioni nella risposta di alcune aree cerebrali in seguito a stimolazioni cognitive.

Tale disegno sperimentale ci consentirà di valutare composizione ed eventuale modifica degli acidi grassi circolanti nel sistema sanguigno, mettendo in correlazione tale modifica a cambiamenti nella frequenza e/o gravità della sintomatologia ADHD e verificando se all'eventuale incremento di acidi grassi nel sangue corrisponda un diverso livello di attivazione cerebrale in compiti cognitivi riguardanti attenzione e funzionamento esecutivo.

La sperimentazione prevede inoltre un gruppo di controllo composto da 20 bambini non affetti da ADHD o altre patologie mediche o neuropsichiatriche che saranno sottoposti allo stesso protocollo di valutazione iniziale al fine di permettere un confronto tra il profilo lipidico iniziale, la funzionalità cerebrale valutata attraverso NIRS, in assenza di ADHD.

IL RAGGIO DEL SUONO: ESPRESSIVITÀ PER LE DISABILITÀ (SOUNDBEAM)

ING. UBERTO POZZOLI

E-MAIL: UBERTO.POZZOLIP.LNF.IT

Linea di ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Capofila

Fondazione Provida Madre, Balerna, Svizzera

Periodo di svolgimento

Anno 2011

Polo Scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Il progetto Inter-reg “Il raggio del suono” permette di valutare le potenzialità riabilitative di uno strumento musicale che sia particolarmente dipendente dai movimenti corporei, con notevole impatto anche sulla ricerca scientifica. Infatti, la sollecitazione offerta dal sistema “Soundbeam” permette di stimolare il circuito neurale legato all’area di Broca, che si suppone regoli la produzione sia del movimento, che di brani musicali e di sequenze verbali; in particolare, l’interazione e l’imitazione motoria coinvolte nel trattamento faranno in modo di stimolare un circuito di neuroni specchio, facilitandone la riattivazione in questa patologia.

L’area di Broca è stata storicamente esplorata per quanto riguarda la produzione linguistica. Tuttavia, si è recentemente scoperto che essa viene attivata anche dall’osservazione, dall’esecuzione e dall’imitazione di movimenti diretti a uno scopo, in particolare quando le azioni richiedono la manipolazione di un oggetto (Gerlach et al., 2002; Grafton et al., 1996; Binkofski et al., 1999; Iacoboni et al., 1999; Nishitani & Hari, 2000; Buccino et al., 2001; Grezes & Decety, 2001; Baumgaertner et al., 2007).

In particolare, quest’area è responsabile della programmazione specifica della cinematica del gesto (Pobric et al., 2006) quando è richiesta un’organizzazione sequenziale degli atti motori (Fazio et al., 2009), ed è proprio nella

pianificazione di atti motori concatenati che i bambini con autismo sembrano mostrare le maggiori difficoltà (Fabbri-Destro et al., 2009; Forti et al., 2011). Inoltre, la rappresentazione di azioni e movimenti nell'area di Broca include anche gli aspetti acustici dell'azione, come i suoni riferiti alle azioni. Nella corteccia premotoria dei macachi (Kohler et al., 2002), tale rappresentazione sonora viene trasformata direttamente nel programma motorio necessario per produrre l'azione (Callan et al., 2006).

La musica è legata, da una parte al movimento, poiché, dopo soltanto 30 minuti di training, può essere rappresentata come l'aspetto acustico legato a una specifica azione (D'ausilio, 2006); d'altra parte, al linguaggio, con somiglianze sia in termini strutturali, poiché sia musica che linguaggio condividono un'organizzazione di tipo sintattico (Fadiga et al., 2009), ma soprattutto in termini neuronali, poiché il circuito attivato per ascolto e produzione di brani musicali ha strette somiglianze con quello deputato all'ascolto e produzione di materiale verbale (Koelsch, 2005; Koelsch et al., 2004; Meyer & Lance, 2006). Secondo l'ipotesi avanzata da Fadiga (2005), l'area di Broca, attiva per musica, linguaggio e movimento, rappresenterebbe una specializzazione per l'analisi di strutture gerarchiche di tipo sintattico e gerarchico.

Un'ipotesi confermata da studi di neuroimaging (Gelfand & Bookehimer, 2003; Bornkessel et al., 2005; Molnar-Szakacs et al., 2005) che permette di spiegare anche la comorbilità tra disturbi linguistici e disturbi motori riscontrata in alcuni pazienti (Rimura & Archibald, 1974; Rizzolatti & Arbib, 1998; Arbib, 2005).

I bambini affetti da autismo mostrano sia importanti disturbi del linguaggio, che disturbi specifici nella sequenzializzazione del movimento (Fabbri-Destro et al., 2009; Forti et al., 2011).

Questi disturbi vengono accentuati quando si richiede l'imitazione dell'altro, dimostrata da una minor e ritardata attivazione dell'area di Broca nell'imitazione di movimenti della bocca (Nishitani et al., 2004; Dapretto et al., 2006), da una ridotta eccitabilità della corteccia motoria primaria nell'osservazione di azioni altrui (Theoret et al., 2005), e dal ridotto spessore corticale nelle regioni del sistema di neuroni specchio in generale (comprese l'area di Broca, l'IPL e l'STS; Hadjikhani et al., 2006). I deficit di imitazione motoria sono universali e specifici nell'autismo (vedi Williams et al., 2004 per una review) e le abilità imitative sembrano essere strettamente correlate con le capacità linguistiche (Stone & Yoder, 2001).

Gli stimoli musicali vengono ben graditi e accettati da questo tipo di bambini (Hairston, 1990; Trevarthen et al., 1996; Wing, 1985), che mostrano eccellenti doti nel riconoscimento e discriminazione della tonalità; Applebaum et al., 1979; Heaton, 1998; 2003; 2008) e hanno buone capacità nella percezione del ritmo e della velocità del brano. Poiché la musica è un tipo di stimolo

unico e multimodale che coinvolge il processamento simultaneo di informazioni visive, uditive, somatosensoriali e motorie, tutte usate nel controllo del movimento, e data la sovrapposizione tra le aree verbali e quelli musicali, la produzione di musica può costituire quindi un modo alternativo per attivare un circuito altrimenti ipoattivato.

La produzione musicale, coinvolgendo l'imitazione e la sincronizzazione dell'altro, potrebbe dunque rappresentare un mezzo d'eccellenza per ingaggiare il sistema di neuroni specchio (Overy, K. Et al., 2009), che è sufficientemente plastico per modificarsi in seguito a sessioni di training (Catmur et al., 2007). Perciò l'interazione musicale si può rivelare dunque particolarmente utile nel trattamento dell'autismo (Wan et al., 2010), possibilmente potenziando le abilità linguistiche e motorie. Trattamenti di tipo musicale hanno determinato miglioramenti linguistici in bambini con ritardo del linguaggio (Hoskins, 1988).

Ciò che è speciale del metodo soundbeam rispetto a un comune trattamento di musicoterapia è che la musica viene ottenuta attraverso compiti di imitazione motoria e di controllo del movimento. Anche questo tipo di trattamenti hanno determinato miglioramenti sulle abilità linguistiche di bambini con autismo (Ingersoll et al., 2007). Il metodo soundbeam ci permette di unire l'attrattiva della terapia musicale con l'efficacia della terapia motoria.

COSTITUZIONE DI UNA RETE INTEGRATA DI PATOLOGIA (RETE AUTISMO) TRA PEDIATRI DI LIBERA SCELTA E STRUTTURE DI NPIA: INDIVIDUAZIONE PRECOCE DEL DISTURBO DELLO SPETTRO AUTISTICO E LORO PRESA IN CARICO

DR.SSA LAURA VILLA

E-MAIL: LAURA.VILLA@BP.LNF.IT

Linea di ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Capofila

Azienda Ospedaliera Provincia di Lecco

Periodo di svolgimento

01.07.2011 – 31.12.2011

Polo Scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

L'Autismo infantile rappresenta la patologia psichica più grave in età infantile: il decorso è cronico con gravi disabilità permanenti, i successi terapeutici sono legati anche e soprattutto all'individuazione precoce con conseguenti interventi specifici che riducano o risolvano il quadro clinico e comunque ne attenuino l'impatto invalidante e il conseguente costo sociale, migliorando la resilienza.

I dati epidemiologici internazionali indicano per i disturbi dello spettro autistico una prevalenza di 1/175, con una prevalenza dei casi di sindrome autistica classica di 1/400-500 minori di età compresa tra 2 e 18 anni.

L'individuazione precoce dei quadri autistici è momento fondamentale per un tempestivo intervento terapeutico: la rete dei Pediatri di Libera Scelta, se opportunamente integrata, può essere lo snodo fondamentale sia per la precoce individuazione di indicatori di rischio evidenziabili nei primi mesi di vita sia per la gestione dei diversi problemi emergenti durante il ciclo di vita in età evolutiva.

Il progetto intende individuare precocemente i soggetti a rischio attraverso il

filtro costituito dai Pediatri di libera scelta con lo scopo di permettere su tutto il territorio della Asl di Lecco la diagnosi di Autismo entro i 30 mesi di età, obiettivo ritenuto standard di eccellenza a livello internazionale, utilizzando i bilanci di salute effettuati ai 24 mesi quale momento privilegiato per effettuare uno screening clinico specifico con uno strumento internazionalmente validato. I soggetti a rischio individuati saranno inviati con modalità prioritaria alle strutture specialistiche di Npia insistenti nel territorio della Asl di Lecco per la conferma diagnostica e la presa in carico clinica.

Il progetto prosegue ed amplia con una prospettiva biennale quello presentato nell'anno 2011, i cui principali risultati sono stati:

1. Messa a disposizione dei Pediatri di libera scelta dello strumento di screening (Chat: **C**heck list for **A**utism in **T**oddler) e della piattaforma informatica per la correzione automatica on-line in tempo reale del test effettuato;
2. Formazione specifica con i Pediatri stessi volta alla siglatura della checklist, al loggaggio e alla supervisione per il corretto funzionamento della checklist inserita nella piattaforma web;
3. Implementazione di specifici ambulatori per la conferma diagnostica dei soggetti a rischio di Autismo nei due Servizi interessati dal progetto attraverso l'applicazione di un medesimo percorso diagnostico e l'acquisizione di materiale diagnostico omogeneo

Nel progetto proposto per il prossimo biennio si intende:

1. Proseguire nella presa in carico diagnostica dei soggetti individuati secondo la CHAT on-line;
2. Promuovere una presa in carico riabilitativa precoce con modalità multimodali dei soggetti per i quali vi è stata la conferma diagnostica;
3. Sviluppare un ambulatorio tematico specifico dedicato all'autismo ampliando la valutazione diagnostica anche ad altri pazienti giunti all'osservazione per un possibile quadro di autismo al di fuori della fascia d'età individuata dalla chat
4. Costituire un gruppo di lavoro-intervento tra gli Enti operanti sul territorio della Provincia (Uonpia dell'AO della Provincia di Lecco, IRCCS "Medea", "La Nostra Famiglia" sede di Lecco) per l'elaborazione e la attivazione di esperienze riabilitative innovative "ad hoc" (quali gruppi; interventi che coinvolgono in primis la famiglia ed i caregivers in generale) riferite a tipologie di specifici disturbi che si evidenziano nei vari fenotipi appartenenti allo spettro autistico (i.e. disturbi della socializzazione nei soggetti ad alto

funzionamento; modalità di apprendimento del linguaggio verbale in età prescolare; difficoltà di organizzazione neuropsicologica in soggetti normodotati dal punto di vista cognitivo).

STUDIO LONGITUDINALE DEL PATTERN DEL RESPIRO ED IDENTIFICAZIONE DI MARCATORI PRECOCI DI INSUFFICIENZA RESPIRATORIA NEI SOGGETTI AFFETTI DA DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE TRAMITE LA TECNICA DELLA PLETISMOGRAFIA OPTO-ELETTRONICA

DR.SSA MARIAGRAZIA D'ANGELO

E-MAIL: GRAZIA.DANGELO@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 2

Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Proponente

IRCCS "E. Medea" – con il contributo di: Associazione "Amici di Emanuele"

Collaborazioni

IRCCS E. Medea di Bosisio Parini: Servizio di Bioingegneria Clinica; Politecnico di Milano: Dipartimento di Bioingegneria; Fondazione IRCCS "Cà Granda" Ospedale Maggiore Policlinico Mangiagalli Regina Elena di Milano: Dipartimento di Neuroscienze

Periodo di svolgimento

13.06.2011 – 12.06.2014

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Premessa

La riduzione della forza muscolare associata alle distrofie muscolari, porta con sé anche la riduzione della forza della muscolatura respiratoria. Da questo deriva prima una sindrome disventilatoria restrittiva che può aprire la strada all'insufficienza respiratoria. I sintomi di insufficienza respiratoria possono essere subdoli e difficili da indagare. In genere questa si verifica nelle fasi più avanzate della malattia, quando il coinvolgimento muscolare diviene severo e generalizzato. D'altra parte alcuni pazienti sviluppano sintomi legati all'insufficienza respiratoria in una fase precoce della malattia o in relazione

ad eventi intercorrenti (quali ad esempio infezioni alle vie respiratorie che causano ricoveri presso i Reparti di Terapia Intensiva). Gli esami classicamente eseguiti per la valutazione della funzionalità respiratoria e degli scambi gassosi sono la spirometria, la registrazione della saturimetria notturna e la polisonnografia, la misura del Peak Cough flow e della maximal inspiratory/ expiratory pressure. Questi esami richiedono però la collaborazione del paziente e non sono eseguibili in alcune situazioni specifiche, come in presenza di macroglossia (tipica della distrofia muscolare di Duchenne), ipostenia della muscolatura facciale (come avviene nella distrofia facio–scapolo–omeroale) o con bambini poco collaboranti. La tecnica che noi proponiamo, la Pletismografia Optoelettronica, è invece completamente non invasiva e non richiede particolare collaborazione da parte del paziente. Fornisce dati sui volumi polmonari nel corso di respiro spontaneo, sui movimenti della parete toracica ed addominale e quindi indirettamente sui muscoli coinvolti nelle suddette attività.

Questa nuova metodica, è in uso presso la nostra struttura dal 2006.

RISULTATI GIÀ OTTENUTI

Al termine del triennio 2006-2009 sono stati acquisiti tramite Pletismografia Optoelettronica (OEP) 101 pazienti affetti da Distrofia muscolare di Duchenne (DMD), con età media pari a 12.3+ 5.2 anni (range 3- 28 anni). L'80% (81/101) dei pazienti DMD è stato valutato tramite OEP almeno due volte nel triennio sopraccitato e il 24.7% (25/101) dei pazienti ha rilevazioni longitudinali nel tempo che ricoprono l'intero triennio e che consentono di valutare l'efficacia della metodica OEP nell'analisi longitudinale del pattern respiratorio dei soggetti affetti da DMD.

Una serie di risultati sperimentali, alcuni dei quali già pubblicati su riviste indicizzate (D'Angelo MG, Lo Mauro A, Romei M, Motta F, Colombo D, Comi G, Pedotti A, Marchi E, Turconi A, Bresolin N, Aliverti A. Abdominal volume contribution to tidal volume as an early indicator of respiratory impairment in Duchenne Muscular Dystrophy. *Eur Respir J.* 2009 Oct 19), ci hanno dimostrato come su un gruppo di 66 bambini/ragazzi affetti da distrofia muscolare di Duchenne questo esame sia in grado di rilevare segni precoci di insufficienza respiratoria, guidando quindi in maniera decisiva l'impostazione di terapia adeguata come la ventilazione non invasiva notturna.

È noto che non tutti i soggetti affetti da distrofia muscolare di Duchenne, di età superiore a 16 anni, sono in grado di effettuare correttamente le prove di funzionalità respiratoria classiche (quali ad esempio la spirometria), in relazione all'ipostenia della muscolatura facciale e/o alla macroglossia.

Un'ulteriore analisi di 24 pazienti DMD di età media pari a 18.6+3 anni, ha

messo in evidenza come in condizioni di minimo sforzo, anche soggetti che secondo i criteri internazionalmente riconosciuti (ATS 2004) non sono da considerarsi a rischio di insufficienza respiratoria, in realtà mostrano parametri indicativi di un'importante sofferenza diaframmatica. In base a questi dati stiamo valutando le diverse fasi di impostazione di ventiloterapia non invasiva.

I risultati preliminari relativi allo studio longitudinale realizzato sui pazienti che si sono sottoposti all'esame OEP più volte nel triennio 2007-2009 (25/101 pazienti) sembrano consentire una valutazione dell'andamento di parametri descrittivi della funzionalità respiratoria al variare del tempo. Per poter effettuare una valutazione nel lungo periodo che abbia maggiore consistenza ed affidabilità, è necessario attendere che più soggetti abbiamo valutazioni a distanza di 3 anni; dai dati già acquisiti è comunque possibile iniziare a condurre alcune osservazioni. Il Tidal Volume o Volume corrente, che dipende dalle dimensioni antropometriche del soggetto, aumenta nei soggetti in crescita dei gruppi, mentre presenta una diminuzione nei soggetti di età più "avanzata".

Su una decina di soggetti siamo riusciti a valutare proprio grazie alla possibilità di eseguire l'indagine in corso di ventiloterapia, il pattern respiratorio corretto e non corretto dalla ventiloterapia.

Allo stato attuale dell'arte, il numero elevato di acquisizioni eseguite in soggetti affetti da varie forme di distrofia muscolare, ci permette senza ombra di dubbio di affermare che la pletismografia optoelettronica è in grado di definire il pattern respiratorio dei pazienti e di identificare anomalie nella funzionalità ventilatoria e della muscolatura respiratoria.

RISULTATI ATTESI

La prosecuzione dello studio consentirebbe di apportare importanti vantaggi sia in ambito clinico sia di ricerca medico-scientifica a tutti i soggetti affetti da distrofia muscolare.

Analisi longitudinale - L'attenta ed approfondita osservazione dei pazienti garantisce infatti il monitoraggio ottimale delle condizioni cliniche e pertanto consente di intervenire dal punto di vista terapeutico all'insorgere dei primi allarmi di deficit respiratorio tramite ausili quali la macchina della tosse, la ventiloterapia meccanica non invasiva. La completa non invasività della tecnica della Pletismografia Optoelettronica e la possibilità di avere dati riproducibili anche in soggetti non collaboranti (come i bambini o i pazienti con particolare ipostenia della muscolatura facciale e/la macroglossia) o anche in corso di ventilazione meccanica rendono particolarmente agevole questo monitoraggio.

Dall'analisi di casistica in longitudinale così numerosa, ci aspettiamo di riuscire ad identificare in maniera chiara nuovi indicatori di evoluzione di insufficienza respiratoria e di conseguenza, nei casi in cui si dimostra necessaria, di riuscire ad impostare in maniera ottimale un'adeguata ventiloterapia con una correzione del setting della stessa proprio in corso dell'esame.

Questo ci permetterà da un lato di migliorare le conoscenze fisiopatologiche del respiro nelle patologie neuromuscolari (definendo il pattern respiratorio nelle diverse patologie e nelle diverse fasi della malattia) e da queste pertanto, di rendere più incisivo il monitoraggio clinico dei malati, limitando anche il rischio di ricoveri di questi soggetti nei Reparti di Terapia Intensiva in seguito ad infezioni della vie respiratorie, apportando vantaggi alla qualità della vita proprio tramite la semplificazione delle indagini e l'inizio pronto di terapie, laddove necessarie.

Focalizzando la nostra attenzione sulla distrofia muscolare di Duchenne inoltre, potremmo completare l'analisi dei dati tenendo in considerazione un parametro clinico estremamente rilevante dei pazienti affetti da DMD in età superiore ai 10 aa: la **scoliosi**.

Il 75% dei ragazzi affetti da distrofia muscolare di Duchenne sviluppa circa 2 anni dopo la perdita del cammino, una scoliosi significativa (angolo di Cobb $> 30^\circ$), in alcuni casi rapidamente evolutiva. E' noto che la scoliosi è inversamente correlata alla perdita del cammino: maggiore è l'età di perdita del cammino, minore è il rischio di sviluppare scoliosi. La progressione della curva scoliotica si associa ad un declino della capacità vitale (FVC) ed in generale della funzionalità respiratoria; nei ragazzi DMD viene riportata ogni 10 gradi di scoliosi toracica, una riduzione della FVC del 4%. (Kurz et al, 1983). Alcuni di questi soggetti vengono sottoposti ad intervento di fissazione vertebrale tramite artrodesi vertebrale posteriore in un 'età compresa mediamente tra i 12 ed i 15 anni. Mentre sono numerosi i dati che, in seguito all'intervento di artrodesi, documentano un miglioramento del comfort (Bridvel, et al., 1999; Rice et al, 1999), del sitting balance (migliore tolleranza alla posizione seduta, Bridvel, et al., 1999; Rice et al, 1999), della stima di sé (Bellen et al. 1993; Bridvel et al., 1999), della gestione da parte dei parenti (Bellen et al. 1993) ed una riduzione della sintomatologia dolorosa (Bellen et al. 1993; Galasko et al., 1977; Miller et al., 1991), estremamente limitato è però il numero degli studi approfonditi che correlano la scoliosi ed il deterioramento della funzionalità respiratoria ed ancora minori (e quei pochi sono controversi) quelli che analizzano l'effetto della correzione della deformità della colonna tramite artrodesi vertebrale con la funzionalità respiratoria stessa.

Alcuni lavori presenti in letteratura riportano dopo fissazione vertebrale una funzione respiratoria invariata (Kennedy et al, 1995), altri invece segnalano

un arresto del deterioramento della FVC (Rideau: 24 mesi; Galasko: 36 mesi) ed un incremento della sopravvivenza (in NIV, con artrodesi fino ai 30 aa, mentre senza chirurgia fino ai 22,2 anni) (Eagle et al, 2006).

L'analisi dei dati già acquisiti su pazienti distrofici con vari gradi di scoliosi e di quelli sottoposti ad artrodesi vertebrale, potrà contribuire alla chiarificazione del ruolo delle deformità toraco-addominali e della loro eventuale correzione chirurgica sulla funzionalità respiratoria

L'esperienza clinica acquisita in questi ultimi 10-12 anni, suggerisce che in alcuni pazienti affetti da distrofia muscolare di Duchenne la funzionalità respiratoria e la funzionalità cardiaca non vadano incontro a peggioramenti secondo scadenze temporali chiare e facilmente prevedibili. Esiste infatti una popolazione di soggetti in cui la degenerazione della funzionalità cardiaca si verifica in tempi precoci mentre la funzionalità respiratoria si mantiene a lungo estremamente valida ed un'altra popolazione di pazienti nei quali avviene invece il contrario. Una correlazione genotipo-fenotipo di queste manifestazioni cliniche non è semplice ma altrettanto difficile risulta una precisa quantificazione dell'evoluzione clinica dei singoli sottosistemi (nello specifico di quello cardiaco e di quello respiratorio).

Focalizzando la nostra attenzione appunto sulla funzionalità cardio-respiratoria, numerose sono le valutazioni cliniche a cui il paziente è sottoposto (spirometria, MIP, MEP, registrazione della saturimetria notturna, ecocardiogramma, ECG, ECG Holter) dalle quali si ottengono molteplici parametri NUMERICI, ognuno dei quali descrive un aspetto specifico della funzionalità cardio-respiratoria del paziente.

Per definire e valutare nel suo complesso la situazione cardio-respiratoria del paziente, è possibile ricorrere a metodi matematici specifici, tramite i quali i dati vengono elaborati e viene fornito un unico indice sintetico derivato dai parametri iniziali. Viene qui proposta la Principal Component Analysis che, partendo da dati di soggetti sani, analizza le relazioni esistenti tra i vari parametri in condizioni fisiologiche e consente di ottenere un **unico indice numerico**. Nel momento in cui la procedura viene applicata ai dati di un paziente, sarà possibile ottenere un valore che indica di quanto il paziente si discosta dalla situazione fisiologica.e quali sono le differenze di comportamento e di evoluzione di un parametro rispetto all'altro.

Questa procedura, già utilizzata in passato nell'ambito della Paralisi Cerebrale Infantile per l'identificazione di un indice sintetico derivato da 16 parametri della Gait Analysis (ex Normalcy Index, ora Gait Gillette Index, Schutte et al, 2002) potrebbe risultare particolarmente utile nel momento in cui si vuole confrontare ad esempio la situazione cardio-respiratoria di un soggetto con quella di altri soggetto oppure se si è interessati ad un'analisi longitudinale nel tempo. La possibilità di avere a disposizione un indice numerico e quindi

di descrivere in modo quantitativo un quadro patologico che comprende ad esempio due sistemi (cardiaco e respiratorio) consente di poter utilizzare strumenti statistici e matematici nell'analisi dei dati.

Punti critici di questa metodica sono: 1) la definizione dei parametri in grado di caratterizzare in modo più esauriente possibile il quadro cardio-respiratorio dei pazienti e 2) l'acquisizione di un consistente numero di soggetti sani al fine di descrivere la variabilità intersoggettiva esistente nella popolazione priva di patologia.

Un altro obiettivo che ci prefiggiamo di raggiungere è quello di effettuare un'analisi non-invasiva della funzione diaframmatica tramite il confronto tra diverse **metodiche di imaging**.

Lo scopo dello studio è quello di confrontare diverse metodiche non-invasive per valutare la funzione del diaframma, più specificamente la sua geometria ed il suo movimento, nella distrofia muscolare di Duchenne. Tre diverse metodiche saranno considerate: a) ultrasonografia, b) risonanza magnetica, c) pletismografia opto-elettronica. Per quanto riguarda l'analisi ultrasonografica, si analizzeranno, con diverse metodologie e diverse condizioni (respirazione spontanea, manovre massimali e di capacità vitale) i seguenti parametri: 1) spessore del diaframma nella sua zona di apposizione sulla gabbia toracica; 2) movimento cranio-caudale del diaframma; 3) variazione della zona di apposizione del diaframma. L'analisi di risonanza magnetica consentirà la determinazione della geometria tridimensionale della superficie del diaframma a diversi volumi polmonari. L'analisi mediante pletismografia opto-elettronica consentirà di valutare, nelle condizioni sopra riportate, le corrispondenti variazioni di volume addominale, che recentemente si è dimostrato un ottimo indice di variazione di geometria diaframmatica. Il confronto tra le diverse metodiche sarà effettuato sia su soggetti sani, utilizzati come riferimento, sia su soggetti patologici.

La possibilità di valutare in maniera dettagliata i cambiamenti nella funzionalità del diaframma potrebbe avere un doppio vantaggio: da un lato ci permetterebbe di porre in essere, come già detto, terapie specifiche per la funzionalità respiratoria, dall'altro ci potrebbe anche permettere di avere un metodo assolutamente non invasivo di testare l'efficacia delle nuove terapie sperimentali volte alla riduzione della degenerazione muscolare tipica della malattia e alla stimolazione della rigenerazione (farmacologiche o genetiche o cellule mediate tramite cellule staminali).

E' noto che non tutti i soggetti affetti da distrofia muscolare di Duchenne, di età superiore a 16 anni, sono in grado di effettuare correttamente le prove di funzionalità respiratoria classiche (quali ad esempio la spirometria), in relazione all'ipostenia della muscolatura facciale e/o alla macroglossia.

Un'ulteriore analisi di 24 pazienti DMD di età media pari a 18.6+3 anni, ha messo in evidenza come in condizioni di minimo sforzo, anche soggetti che secondo i criteri internazionalmente riconosciuti (ATS 2004) non sono da considerarsi a rischio di insufficienza respiratoria, in realtà mostrano parametri indicativi di un'importante sofferenza diaframmatica. In base a questi dati stiamo valutando le diverse fasi di impostazione di ventiloterapia non invasiva.

I risultati preliminari relativi allo studio longitudinale realizzato sui pazienti che si sono sottoposti all'esame OEP più volte nel triennio 2007-2009 (25/101 pazienti) sembrano consentire una valutazione dell'andamento di parametri descrittivi della funzionalità respiratoria al variare del tempo. Per poter effettuare una valutazione nel lungo periodo che abbia maggiore consistenza ed affidabilità, è necessario attendere che più soggetti abbiamo valutazioni a distanza di 3 anni; dai dati già acquisiti è comunque possibile iniziare a condurre alcune osservazioni. Il Tidal Volume o Volume corrente, che dipende dalle dimensioni antropometriche del soggetto, aumenta nei soggetti in crescita dei gruppi, mentre presenta una diminuzione nei soggetti di età più "avanzata".

Su una decina di soggetti siamo riusciti a valutare proprio grazie alla possibilità di eseguire l'indagine in corso di ventiloterapia, il pattern respiratorio corretto e non corretto dalla ventiloterapia.

Allo stato attuale dell'arte, il numero elevato di acquisizioni eseguite in soggetti affetti da varie forme di distrofia muscolare, ci permette senza ombra di dubbio di affermare che la pletismografia optoelettronica è in grado di definire il pattern respiratorio dei pazienti e di identificare anomalie nella funzionalità ventilatoria e della muscolatura respiratoria.

RISULTATI ATTESI

La prosecuzione dello studio consentirebbe di apportare importanti vantaggi sia in ambito clinico sia di ricerca medico-scientifica a tutti i soggetti affetti da distrofia muscolare.

- **Analisi longitudinale** - L'attenta ed approfondita osservazione dei pazienti garantisce infatti il monitoraggio ottimale delle condizioni cliniche e pertanto consente di intervenire dal punto di vista terapeutico all'insorgere dei primi allarmi di deficit respiratorio tramite ausili quali la macchina della tosse, la ventiloterapia meccanica non invasiva. La completa non invasività della tecnica della Pletismografia Optoelettronica e la possibilità di avere dati riproducibili anche in soggetti non collaboranti (come i

bambini o i pazienti con particolare ipostenia della muscolatura facciale e/la macroglossia) o anche in corso di ventilazione meccanica rendono particolarmente agevole questo monitoraggio.

Dall'analisi di casistica in longitudinale così numerosa, ci aspettiamo di riuscire ad identificare in maniera chiara nuovi indicatori di evoluzione di insufficienza respiratoria e di conseguenza, nei casi in cui si dimostra necessaria, di riuscire ad impostare in maniera ottimale un'adeguata ventiloterapia con una correzione del setting della stessa proprio in corso dell'esame.

Questo ci permetterà da un lato di migliorare le conoscenze fisiopatologiche del respiro nelle patologie neuromuscolari (definendo il pattern respiratorio nelle diverse patologie e nelle diverse fasi della malattia) e da queste pertanto, di rendere più incisivo il monitoraggio clinico dei malati, limitando anche il rischio di ricoveri di questi soggetti nei Reparti di Terapia Intensiva in seguito ad infezioni della vie respiratorie, apportando vantaggi alla qualità della vita proprio tramite la semplificazione delle indagini e l'inizio pronto di terapie, laddove necessarie.

- Focalizzando la nostra attenzione sulla distrofia muscolare di Duchenne inoltre, potremmo completare l'analisi dei dati tenendo in considerazione un parametro clinico estremamente rilevante dei pazienti affetti da DMD in età superiore ai 10 aa: la **scoliosi**.

Il 75% dei ragazzi affetti da distrofia muscolare di Duchenne sviluppa circa 2 anni dopo la perdita del cammino, una scoliosi significativa (angolo di Cobb $> 30^\circ$), in alcuni casi rapidamente evolutiva. E' noto che la scoliosi è inversamente correlata alla perdita del cammino: maggiore è l'età di perdita del cammino, minore è il rischio di sviluppare scoliosi. La progressione della curva scoliotica si associa ad un declino della capacità vitale (FVC) ed in generale della funzionalità respiratoria; nei ragazzi DMD viene riportata ogni 10 gradi di scoliosi toracica, una riduzione della FVC del 4%. (Kurz et al, 1983). Alcuni di questi soggetti vengono sottoposti ad intervento di fissazione vertebrale tramite artrodesi vertebrale posteriore in un'età compresa mediamente tra i 12 ed i 15 anni. Mentre sono numerosi i dati che, in seguito all'intervento di artrodesi, documentano un miglioramento del comfort (Bridvel, et al., 1999; Rice et al, 1999), del sitting balance (migliore tolleranza alla posizione seduta, Bridvel, et al., 1999; Rice et al, 1999), della stima di sé (Bellen et al. 1993; Bridvel, et al., 1999), della gestione da parte dei parenti (Bellen et al. 1993) ed una riduzione della sintomatologia dolorosa (Bellen et al. 1993; Galasko et al., 1977; Miller et al., 1991), estremamente limitato è però il numero degli

studi approfonditi che correlano la scoliosi ed il deterioramento della funzionalità respiratoria ed ancora minori (e quei pochi sono controversi) quelli che analizzano l'effetto della correzione della deformità della colonna tramite artrodesi vertebrale con la funzionalità respiratoria stessa.

Alcuni lavori presenti in letteratura riportano dopo fissazione vertebrale una funzione respiratoria invariata (Kennedy et al, 1995), altri invece segnalano un arresto del deterioramento della FVC (Rideau: 24 mesi; Galasko: 36 mesi) ed un incremento della sopravvivenza (in NIV, con artrodesi fino ai 30 aa, mentre senza chirurgia fino ai 22,2 anni) (Eagle et al, 2006).

L'analisi dei dati già acquisiti su pazienti distrofici con vari gradi di scoliosi e di quelli sottoposti ad artrodesi vertebrale, potrà contribuire alla chiarificazione del ruolo delle deformità toraco-addominali e della loro eventuale correzione chirurgica sulla funzionalità respiratoria

- L'esperienza clinica acquisita in questi ultimi 10-12 anni, suggerisce che in alcuni pazienti affetti da distrofia muscolare di Duchenne la funzionalità respiratoria e la funzionalità cardiaca non vadano incontro a peggioramenti secondo scadenze temporali chiare e facilmente prevedibili. Esiste infatti una popolazione di soggetti in cui la degenerazione della funzionalità cardiaca si verifica in tempi precoci mentre la funzionalità respiratoria si mantiene a lungo estremamente valida ed un'altra popolazione di pazienti nei quali avviene invece il contrario. Una correlazione genotipo-fenotipo di queste manifestazioni cliniche non è semplice ma altrettanto difficile risulta una precisa quantificazione dell'evoluzione clinica dei singoli sottosistemi (nello specifico di quello cardiaco e di quello respiratorio)
- Focalizzando la nostra attenzione appunto sulla funzionalità cardio-respiratoria, numerose sono le valutazioni cliniche a cui il paziente è sottoposto (spirometria, MIP, MEP, registrazione della saturimetria notturna, ecocardiogramma, ECG, ECG Holter) dalle quali si ottengono molteplici parametri NUMERICI, ognuno dei quali descrive un aspetto specifico della funzionalità cardio-respiratoria del paziente. Per definire e valutare nel suo complesso la situazione cardio-respiratoria del paziente, è possibile ricorrere a metodi matematici specifici, tramite i quali i dati vengono elaborati e viene fornito un unico indice sintetico derivato dai parametri iniziali. Viene qui proposta la Principal Component Analysis che, partendo da dati di soggetti sani, analizza le relazioni esistenti tra i vari parametri in condizioni fisiologiche e consente di ottenere un **unico indice numerico**. Nel momento in cui la procedura viene applicata ai dati di un paziente, sarà possibile ottenere un valore che indica di quanto il paziente si discosta dalla situazione fisiologica.e quali sono le differenze di comportamento e

di evoluzione di un parametro rispetto all'altro. Questa procedura, già utilizzata in passato nell'ambito della Paralisi Cerebrale Infantile per l'identificazione di un indice sintetico derivato da 16 parametri della Gait Analysis (ex Normalcy Index, ora Gait Gillette Index, Schutte et al, 2002) potrebbe risultare particolarmente utile nel momento in cui si vuole confrontare ad esempio la situazione cardio-respiratoria di un soggetto con quella di altri soggetti oppure se si è interessati ad un'analisi longitudinale nel tempo. La possibilità di avere a disposizione un indice numerico e quindi di descrivere in modo quantitativo un quadro patologico che comprende ad esempio due sistemi (cardiaco e respiratorio) consente di poter utilizzare strumenti statistici e matematici nell'analisi dei dati.

Punti critici di questa metodica sono: 1) la definizione dei parametri in grado di caratterizzare in modo più esauriente possibile il quadro cardio-respiratorio dei pazienti e 2) l'acquisizione di un consistente numero di soggetti sani al fine di descrivere la variabilità intersoggettiva esistente nella popolazione priva di patologia.

- Un altro obiettivo che ci prefiggiamo di raggiungere è quello di effettuare un'analisi non-invasiva della funzione diaframmatica tramite il confronto tra diverse **metodiche di imaging**. Lo scopo dello studio è quello di confrontare diverse metodiche non-invasive per valutare la funzione del diaframma, più specificamente la sua geometria ed il suo movimento, nella distrofia muscolare di Duchenne. Tre diverse metodiche saranno considerate: a) ultrasonografia, b) risonanza magnetica, c) pletismografia opto-elettronica. Per quanto riguarda l'analisi ultrasonografica, si analizzeranno, con diverse metodologie e diverse condizioni (respirazione spontanea, manovre massimali e di capacità vitale) i seguenti parametri: 1) spessore del diaframma nella sua zona di apposizione sulla gabbia toracica; 2) movimento cranio-caudale del diaframma; 3) variazione della zona di apposizione del diaframma. L'analisi di risonanza magnetica consentirà la determinazione della geometria tridimensionale della superficie del diaframma a diversi volumi polmonari. L'analisi mediante pletismografia opto-elettronica consentirà di valutare, nelle condizioni sopra riportate, le corrispondenti variazioni di volume addominale, che recentemente si è dimostrato un ottimo indice di variazione di geometria diaframmatica. Il confronto tra le diverse metodiche sarà effettuato sia su soggetti sani, utilizzati come riferimento, sia su soggetti patologici. La possibilità di valutare in maniera dettagliata i cambiamenti nella funzionalità del diaframma potrebbe avere un doppio vantaggio: da un lato ci permetterebbe di porre in essere, come già detto, terapie specifiche per la funzionalità respirato-

ria, dall'altro ci potrebbe anche permettere di avere un metodo assolutamente non invasivo di testare l'efficacia delle nuove terapie sperimentali volte alla riduzione della degenerazione muscolare tipica della malattia e alla stimolazione della rigenerazione (farmacologiche o genetiche o cellule mediate tramite cellule staminali)

EFFETTI DI VARIANTI FUNZIONALI DI GENI CHE PREDISPONGONO ALLA DISLESSIA EVOLUTIVA SU FUNZIONI COGNITIVE CONNESSE ALLE ABILITA' DI LETTURA IN UN CAMPIONE DI POPOLAZIONE GENERALE

DR.SSA CECILIA MARINO

E-MAIL: CECILIA.MARINO@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Proponente

IRCCS "E. Medea"

Collaborazioni

Università "Vita-Salute" San Raffaele di Milano

Periodo di svolgimento

21.06.2011 – 20.06.2012

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Background teorico

Il gene DCDC2, sito nella regione 6p21.3, è stato associato alla dislessia evolutiva (Deffenbacher et al., 2004; Meng et al., 2005; Schumacher et al., 2006; Ludwig et al., 2008) e alle abilità di lettura in un campione di popolazione generale (Lind et al. 2010). Alcune evidenze sperimentali hanno mostrato che il gene DCDC2 è espresso nella corteccia cerebrale a livello dei giri entorinale, temporale inferiore e medio, dell'ipotalamo, dell'amigdala e dell'ippocampo, ed è coinvolto nei processi di migrazione neuronale durante fasi precoci della formazione della corteccia cerebrale (Meng et al., 2005; Burbridge et al., 2008). Una regione ipervariabile sita nell'introne 2 (BV677278) lega specificamente delle proteine nucleari espresse nel cervello umano e presenta proprietà di enhancer; infatti, è stato recentemente dimostrato che BV677278 modula, mediante una modalità allele-dipendente l'espressione del gene

DCDC2, suggerendo un significato funzionale, potenzialmente legato ai processi di migrazione neuronale (Meng et al., 2011). Meng et al. (2005) hanno descritto una variante genetica del DCDC2 – una delezione di 2455 bp che include la regione BV677278 – che è stata associata alla dislessia evolutiva, suggerendo per questa variante un ruolo di fattore di rischio per uno sviluppo non appropriato delle abilità di lettura (Harold et al., 2006; Brkanac et al., 2007; Wilcke et al., 2009; Marino et al., in revisione a Psychiatric Genetics).

OBIETTIVO DELLO STUDIO

Noi siamo interessati a verificare l'effetto della delezione di 2455 bp nell'introne 2 del DCDC2 in un campione di popolazione generale sulle abilità di lettura e sulle funzioni cognitive connesse alle abilità di lettura (fenotipi intermedi). Infatti, stante che 1) il gene DCDC2 è coinvolto nei meccanismi di migrazione neuronale e nello sviluppo delle abilità/disabilità di lettura, 2) la delezione di 2455 bp nell'introne 2 del DCDC2 priva il gene di una regione cruciale per la regolazione dell'espressione genica nel tessuto cerebrale e 3) la delezione di 2455 bp nell'introne 2 del DCDC2 è un fattore di rischio per la dislessia evolutiva, è possibile ipotizzare che la delezione di 2455 bp nell'introne 2 del DCDC2 condizioni lo sviluppo delle funzioni cognitive fondamentali per lo sviluppo di un'armonica ed efficace capacità di lettura.

CAMPIONE

Saranno contattati soggetti di popolazione generale che hanno partecipato a precedenti ricerche del nostro gruppo (Nobile et al. 2009; Marino et al. submitted) e la ricerca verrà proposta ad ogni soggetto di età compresa tra i 18 e i 21 anni che accetti di partecipare ad ogni fase della ricerca. Dopo la tipizzazione per la delezione di 2455 bp nell'introne 2 del DCDC2, sulla base della presenza/assenza della variante, ogni soggetto verrà attribuito ad uno dei due gruppi sperimentali.

Soggetti contattati	Soggetti che si prevede partecipino (60%)	Con variante (15% frequenza degli eterozigoti)	Senza variante (85%)
340	200	30	170

FASI DELLA RICERCA

Fase 1: raccolta del materiale biologico e tipizzazione per la delezione di 2455 bp nell'introne 2 del DCDC2

Si raccoglie un campione saliva per l'estrazione del DNA ad ogni soggetto. La raccolta della saliva non espone ad alcun rischio e consiste nello sciac-

quare il cavo orale con una soluzione di acqua e zucchero per 1 minuto e successivamente raccogliere il liquido dello sciacquo in un contenitore sterile, oppure nella raccolta di una piccola quantità di saliva all'interno di un contenitore appositamente predisposto. Ogni soggetto verrà tipizzato per la delezione di 2455 bp nell'introne 2 del DCDC2 e sulla base del risultato verrà attribuito ad uno dei due gruppi sperimentali.

Fase 2: compilazione di questionari

- Questionario per la raccolta di informazioni personali (stato socio-economico, scolarità, stato civile del soggetto e dei genitori; notizie anamnestiche su nascita, periodo neonatale e sui primi anni di vita; eventi stressanti)
- Home Literacy Environment Questionnaire, che raccoglie informazioni sull'esposizione a stimolazioni linguistiche in ambito familiare
- Questionario sulla lateralizzazione (che valuta la dominanza destro/sinistra in un numero di attività)
- Questionario sul comportamento

Fase 3: valutazione delle funzioni cognitive

Somministrazione ai due gruppi sperimentali di una batteria di test, che dura circa 2 ore e 30 minuti, sia di tipo "carta e matita" che computerizzati (lo stimolo compare sul video del computer oppure viene somministrato da cuffie acustiche e il soggetto fornisce la risposta toccando la tastiera). In particolare la batteria testale indagherà le seguenti aree neuropsicologiche: lettura, scrittura, memoria a breve termine e memoria di lavoro, attenzione spaziale, visiva e uditiva, percezione visiva, percezioni uditiva.

La somministrazione dei tests si svolge presso l'IRCCS E. Medea oppure presso San Raffaele Ville Turro di Milano, come più confortevole per il soggetto partecipante.

BIBLIOGRAFIA

- Brkanac Z, Chapman NH, Matsushita MM, Chun L, Nielsen K, Cochrane E, et al. Evaluation of candidate genes for DYX1 and DYX2 in families with dyslexia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007; 144B: 556-560.
- Burbridge TJ, Wang Y, Volz AJ, Peschansky VJ, Lisann L, Galaburda AM, et al. Postnatal analysis of the effect of embryonic knockdown and overexpression of candidate dyslexia susceptibility gene homolog Dcdc2 in the rat. *Neuroscience* 2008;152:723-733.
- Deffenbacher KE, Kenyon JB, Hoover DM, Olson RK, Pennington BF, DeFries JC, et al. Refinement of the 6p21.3 quantitative trait locus influencing dyslexia: linkage and association analyses. *Hum Genet* 2004; 115: 128-

138.

- Harold D, Paracchini S, Scerri T, Dennis M, Cope N, Hill G, et al. Further evidence that the KIAA0319 gene confers susceptibility to developmental dyslexia. *Mol Psychiatry* 2006; 11: 1085-1091.
- Ludwig KU, Schumacher J, Schulte-Kone G, König IR, Warnke A, Plume E, et al. Investigation of the DCDC2 intron 2 deletion/compound short tandem repeat polymorphism in a large German dyslexia sample. *Psychiatr Genet* 2008; 18: 310-312.
- Marino C, Scifo P, Consonni M, Facchetti A, Lorusso ML, Giorda R, Mascheretti S, Falini A, Molteni M., Gruen JR, Perani D. White matter disorganization in subjects with a DCDC2 intron 2 deletion and a dyslexic phenotype. (Under revision).
- Marino C, Meng H, Mascheretti S, Rusconi M, Cope N, Giorda R, Molteni M, Gruen JR. DCDC2 Genetic Variants and Susceptibility to Developmental Dyslexia. (Under revision).
- Meng H, Smith SD, Hager K, Held M, Liu J, Olson RK, et al. DCDC2 is associated with reading disability and modulates neuronal development in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 17053-17058.
- Meng H, Powers NR, Tang L, Cope NA, Zhang PX, Fuleihan R, et al. A dyslexia-associated variant in DCDC2 changes gene expression. *Behav Genet* 2011; 41: 58-66.
- Schumacher J, Anthoni H, Dahdouh F, König IR, Hillmer AM, Kluck N, et al. Strong genetic evidence of DCDC2 as a susceptibility gene for dyslexia. *Am J Hum Genet* 2006; 78: 52-62.
- Wilcke A, Weissfuss J, Kirsten H, Wolfram G, Boltze J, Ahnert P. The role of gene DCDC2 in German dyslexics. *Ann Dyslexia* 2009; 59: 1-11.

EFFETTO FRAMING NELL'ULTIMATUM GAME

DR.SSA BARBARA TOMASINO

E-MAIL: BTOMASINO@UD.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Capofila

Scuola Internazionale Superiore di Studi Avanzati (SISSA) di Trieste

Periodo di svolgimento

01.12.2011 – 01.02.2012

Polo scientifico

San Vito al Tagliamento e Pasian di Prato

DESCRIZIONE SINTETICA

Studi in ambito economico e psicologico, così come i risultati provenienti dal recente settore della neuroeconomia, suggeriscono che sia i processi cognitivi che quelli emozionali contribuiscono alla presa di decisione economica (Bechara, Damasio, Tranel e Damasio, 1997; Naqvi, Shiv e Bechara, 2006; Sanfey, Rilling, Aronson, Nystrom e Cohen, 2003). In particolare, l'economia sperimentale e la psicologia cognitiva hanno messo in luce i limiti della teoria della razionalità. Un esempio che viola tale teoria si ritrova nei dati empirici che provengono dall'Ultimatum Game. In questo gioco, due persone devono spartirsi una somma di denaro: il proponente deve decidere come questa somma debba essere divisa, mentre il rispondente può accettare o rifiutare l'offerta. Se il rispondente accetta l'offerta, entrambi i giocatori ottengono la somma pattuita; se invece il rispondente rifiuta, nessuno dei due riceve nulla. I risultati presenti in letteratura hanno dimostrato che quando i partecipanti giocano come rispondenti tendono a rifiutare circa il 50% delle offerte al di sotto del 20-30% della somma totale (Güth, Schmittberger e Schwarze, 1982; Henrich et al., 2001). Questo dimostra che le persone non si comportano in modo razionale, poiché anche l'accettazione di un'offerta minima costituirebbe un guadagno. Dati psicofisiologici e di neuroimmagine suggeriscono che la scelta di rifiutare sia dovuta al prevalere di una risposta emozionale negativa elicitata da offerte giudicate inique (Sanfey et al., 2003).

Tipicamente, le offerte sono formulate in modo tale da fornire al rispondente tutte le informazioni relative alla suddivisione della somma tra i due giocatori: ad esempio, se la somma da dividere è pari a 10 Euro, l'offerta viene formulata come "Io prendo 8 Euro/Tu prendi 2 Euro" (Moretti, Dragone e di Pellegrino, 2008; Osumi e Ohira, 2009; Sanfey et al., 2003; van't Wout, Kahn, Sanfey e Aleman, 2006). Naturalmente, dato che le due informazioni sono complementari, una sola sarebbe sufficiente per prendere una decisione. Tuttavia, è noto che il modo in cui le informazioni sono formulate, in termini di guadagno o perdita, influenza il comportamento di scelta delle persone. Questo effetto, noto in letteratura come effetto framing, si basa sulla Teoria del Prospetto (Kahneman e Tversky 1979), secondo la quale le persone: a) percepiscono le diverse opzioni in termini di potenziali guadagni o potenziali perdite rispetto ad un punto di riferimento neutro; b) considerano le perdite più salienti dei corrispondenti guadagni (è più spiacevole perdere 1000 Euro di quanto sia piacevole vincerne altrettanti); c) sono avverse al rischio nel dominio dei guadagni e più propense a fare scelte rischiose nel dominio delle perdite.

In uno studio precedente (Sarlo, Lotto, Palomba, Scozzari, e Rumiati, in corso di stampa), abbiamo utilizzato una versione modificata dell'Ultimatum Game manipolando le offerte attraverso due diversi frame: l'espressione "Ti do" è stata considerata frame di guadagno, dato che si focalizza sul denaro che il rispondente riceverebbe nel caso in cui accettasse l'offerta; al contrario, l'espressione "Mi prendo" è stata considerata frame di perdita, dato che si focalizza sul denaro che al rispondente verrebbe tolto nel caso in cui accettasse l'offerta. Frequenza cardiaca e conduttanza cutanea sono state registrate in risposta alle offerte come indici di attivazione autonoma. I risultati hanno indicato che la manipolazione del frame ha avuto effetto solo sui maschi, sia a livello comportamentale che fisiologico. Essi hanno infatti mostrato una più alta percentuale di rifiuto quando l'offerta veniva formulata come perdita piuttosto che come guadagno e un pattern psicofisiologico indicativo di una risposta di difesa (incremento di frequenza cardiaca e conduttanza cutanea). Su queste basi, risulta interessante indagare i correlati neurali dell'effetto framing nell'Ultimatum Game. Studi precedenti, impiegando il paradigma classico, hanno evidenziato principalmente come il rifiuto dell'offerta iniqua fosse associato ad una maggiore attivazione dell'insula rispetto all'accettazione di tale offerta (Sanfey et al., 2003).

OBIETTIVI DELLO STUDIO

Scopo del presente progetto è indagare, per mezzo della risonanza magnetica funzionale, il pattern di attivazione cerebrale associato al frame di perdita

e di guadagno in un gruppo di partecipanti che giocano come rispondenti all'Ultimatum Game. Oltre all'attivazione dell'insula, già riscontrata nei lavori precedenti, ipotizziamo l'attivazione di circuiti neurali diversi in funzione dello stato motivazionale indotto dai due tipi di frame. In particolare, sulla base dei risultati precedentemente ottenuti ci attendiamo che il frame di perdita (Mi prendo), inducendo uno stato motivazionale prevalentemente di tipo difensivo, attivi le strutture cerebrali tipicamente coinvolte nei processi di evitamento, quali le regioni posteriori del nucleo accumbens (Reynolds e Berridge, 2002; Seymour, Daw, Dayan, Singer e Dolan, 2007), le aree laterali della corteccia orbitofrontale (O'Doherty, Critchley, Deichmann e Dolan, 2003) e la corteccia prefrontale dorsolaterale destra (Sutton e Davidson, 1997). Ipotizziamo inoltre che il frame di guadagno (Ti do) possa indurre uno stato motivazionale prevalentemente di tipo appetitivo, attivando le strutture cerebrali tipicamente coinvolte nei processi di approccio, quali le regioni anteriori del nucleo accumbens, le aree mediali della corteccia orbitofrontale e la corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra.

FUNZIONI PERCETTIVO-ATTENZIONALI NEI DISTURBI DELLO SPETTRO AUTISTICO: UNO STUDIO NEUROPSICOLOGICO

DR. ANDREA FACOETTI

E-MAIL: ANDREA.FACOETTI@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente proponente

IRCCS "E. Medea"

Collaborazioni

Università di Padova: Dipartimento di Psicologia Generale

Periodo di svolgimento

01.01.2012 – 31.12.2012

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Background teorico

Il Disturbo dello Spettro Autistico (DSA) è un grave e complesso disturbo neuroevolutivo che interessa circa 1 bambino su 150 nati e colpisce prevalentemente i maschi rispetto alle femmine con un rapporto di circa 4:1. La causa rimane ancora pressoché ignota (Amaral et al., 2008).

Il disturbo è caratterizzato a livello comportamentale da una marcata anomalia nello sviluppo delle relazioni sociali, da limitazioni comunicative e da una ristretta gamma di interessi e comportamenti (American Psychiatric Association, 1994). Le caratteristiche variano però grandemente da caso a caso, e in relazione al grado di sviluppo mentale raggiunto e all'età cronologica. Il bambino affetto da disturbo autistico ha grosse difficoltà a mettere in atto una serie di comportamenti non verbali, come ad esempio mantenere il contatto oculare con un'altra persona e riconoscerne le emozioni tramite le espressioni facciali (felicità, tristezza, rabbia, etc.). Tutto ciò porta ad una importante carenza nell'abilità di comunicare con gli altri. Un altro aspetto

molto invalidante del disturbo è la tendenza a mettere in atto comportamenti stereotipati (es. sfregarsi le mani in continuazione, torcere le dita) e la marcata inflessibilità cognitiva, che li porta ad aderire sempre a specifiche e ossessive routine o ad avere un interesse morboso per parti di oggetti.

OBBIETTIVI DELLO STUDIO

La ricerca mira ad approfondire la conoscenza relativa a specifiche funzioni neuro-cognitive che sembrano essere alterate nei DSA (Abrahams & Geschwind, 2008). In particolare, la nostra ricerca prevede l'indagine dei meccanismi di percezione e attenzione visiva. Varie ricerche hanno evidenziato, infatti, che le abilità visuo-percettive e visuo-attenzionali presentano diverse anomalie negli individui affetti da un DSA (Dakin & Frith, 2005; Klin et al., 2002). L'ipotesi alla base, suggerita dai risultati di due nostre ricerche in corso di pubblicazione (Ronconi et al., submitted a e b) e condivisa da molti ricercatori a livello internazionale (e.g., Vlamings et al., 2010), è che l'integrità dei meccanismi visuo-percettivi e visuo-attenzionali di base sia indispensabile per lo sviluppo di abilità più complesse, quale ad esempio la percezione delle emozioni veicolate dai volti. Nei DSA, le traiettorie anomale di questi processi nelle prime fasi dello sviluppo, potrebbero contribuire all'instaurarsi di difficoltà nell'analizzare i volti e le informazioni in esso contenute, ed influenzare quindi l'intero dominio della cognizione sociale.

PROTOCOLLO

Lo studio si articola in più fasi, prevede il coinvolgimento dei bambini in primis, ma anche una collaborazione da parte dei genitori. La partecipazione allo studio è subordinata alla decisione da parte del soggetto di aderire alla ricerca. Le fasi dello studio sono le seguenti:

- I. Raccolta di informazioni cliniche relative alla gravità della sintomatologia autistica tramite scale valutative eseguiti da un operatore (psicologo), e tramite la raccolta di questionari compilati dai genitori:
 - Autism Diagnostic Interview Revised (ADI-R; Le Couteur, Lord & Rutter, 2003)
 - Autism Diagnostic Observation Scale - ADOS (Lord, Rutter, DiLavore & Risi, 2002)
 - Social Communication Questionnaire - SCQ (Rutter, Bailey, Lord, & Berument, 2003)
 - Autism Spectrum Quotient - AQ (Baron-Cohen, Wheelwright, Skinner, Martin, & Clubley, 2001)
- II. Prove computerizzate per valutare la capacità di orientare l'attenzione nello spazio e di modularne l'ampiezza nel campo visivo, e la capacità di sele-

zionare correttamente l'informazione rilevante quando sono presenti delle informazioni distraenti.

RISULTATI ATTESI

Sarebbe possibile apportare nuovi contributi inerenti al ruolo svolto dalle anomalie visuo-attenzionali nell'emergere della sintomatologia tipica del DSA. Dimostrare l'esistenza di un legame tra queste funzioni cognitive basilari, e il successivo sviluppo di abilità più complesse, è importante non solo per una diagnosi precoce, ma anche per intervenire tempestivamente cercando di favorire il più possibile lo sviluppo di una corretta analisi dell'informazione visiva.

BIBLIOGRAFIA

- Abrahams, B. S. & Geschwind, D. H. (2008). Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology. *Nature Rev. Genet.* 9, 341-355.
- Amaral, D. G., Schumann, C. M., & Nordahl, C. W. (2008). Neuroanatomy of autism. *Trends in Neurosciences*, 31(3), 137-145.
- American Psychiatric Association. Task Force on DSM-IV. (1994). *DSM-IV: Diagnostic and statistical manual of mental disorders*.
- Baron-Cohen, S., Wheelwright, S., Skinner, R., Martin, J., & Clubley, E. (2001). The autism-spectrum quotient (AQ): Evidence from asperger Syndrome/High-functioning autism, males and females, scientists and mathematicians. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 31(1), 5-17.
- Dakin, S., & Frith, U. (2005). Vagaries of visual perception in autism. *Neuron*, 48(3), 497-507.
- Klin, A., Jones, W., Schultz, R., Volkmar, F., & Cohen, D. (2002). Visual fixation patterns during viewing of naturalistic social situations as predictors of social competence in individuals with autism. *Archives of General Psychiatry*, 59(9), 809-816.
- Lord, C., Rutter, M., DiLavore, P., & Risi, S. (2002). *Autism diagnostic observation schedule: ADOS*. Western Psychological Services.
- Ronconi L., Gori S., Ruffino M., Molteni M., & Facoetti A. (submitted a). Zoom-out attentional impairment in children with autism spectrum disorder.
- Ronconi L., Gori S., Ruffino M., Molteni M., Franceschini S., Molteni M. & Facoetti A. (submitted b). Is dorsal stream deficit the only responsible for poor coherent motion discrimination in autism spectrum disorder?
- Rutter, M., Bailey, A., Lord, C., & Berument, S. (2003). *Social communication*

questionnaire. Los Angeles, CA: Western Psychological Services.

- Vlamings, P. H., Jonkman, L. M., van Daalen, E., van der Gaag, R. J., & Kemner, C. (2010). Basic abnormalities in visual processing affect face processing at an early age in autism spectrum disorder. *Biological Psychiatry*, 68(12), 1107-1113.

SERIOUS VIDEOGAME E TRATTAMENTO DELLA DISLESSIA EVOLUTIVA

DR. ANDREA FACOETTI

E-MAIL: ANDREA.FACOETTI@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Proponente

IRCCS "E. Medea"

Periodo di svolgimento

27.09.2011 – 30.09.2012

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Le basi neurocognitive della decodifica fonologica nella Dislessia Evolutiva

Molte ricerche hanno dimostrato che il normale sviluppo delle abilità di lettura è mediato sia da processi uditivo-fonologici sia da processi visuo-ortografici. La lettura è, infatti, un processo neurocognitivo complesso che ci permette di riconoscere parole familiari in modo semplice e veloce (via lessicale; McCandliss et al., 2003) e che si basa primariamente sull'acquisizione dell'abilità ad associare correttamente la rappresentazione ortografica delle parole (mediata dall'area occipitotemporale sinistra) alla corrispondente rappresentazione fonologica (mediata dall'area temporoparietale sinistra). È importante notare che per un bambino che sta imparando a leggere tutte le parole sono all'inizio delle non parole poiché la via lessicale non si è ancora sviluppata. Infatti, la maggior parte degli studi longitudinali hanno mostrato che nei bambini che iniziano a leggere è la via sub-lessicale ad essere usata primariamente sia per la lettura silente che per quella non silente (Sprenger-Charolles et al., 2003, Share, 1995). La via sub-lessicale promuoverebbe, quindi, l'acquisizione della lettura in base ad un processo seriale di conversione grafema-fonema ben strutturato (Perry et al., 2007) che può essere

scomposto nelle seguenti funzioni neurocognitive:

1. segmentazione visiva della stringa di lettere (Facoetti et al., 2006; Ruffino et al., 2010), 2. percezione e manipolazione dei suoni linguistici (Ziegler et al., 2005; Goswami, 2003; Tallal, 2004), 3. associazione del grafema selezionato al suono linguistico corrispondente (Blommert, 2010), 4. sintesi dei fonemi tenuti nel buffer di memoria (Ramus, 2003).

Scopo dello studio: miglioramento delle abilità di lettura attraverso l'utilizzo di un videogioco

L'obiettivo di questo progetto sperimentale è quello di verificare l'efficacia e l'efficienza di due modalità di trattamento delle abilità legate allo sviluppo delle competenze cognitive causalmente relate alle abilità di lettura. Entrambi i trattamenti proposti si baseranno sull'utilizzo di un videogioco finalizzato alla riabilitazione delle difficoltà neurocognitive che caratterizzano la DE. Tale ipotesi riabilitativa nasce dalle recenti evidenze scientifiche che studiano, attraverso l'utilizzo dei videogiochi, il cambiamento delle competenze attenzionali e percettive (Green & Bavelier, 2003, 2007, 2010; Donohue & Riesenhuber, 2010; Woldorff & Mitroff, 2010). Questo metodo di intervento scelto si mostrerebbe di facile utilizzo e accattivante per i bambini a cui è rivolto, minimizzando la fatica nell'utilizzo delle abilità che di solito risultano carenti. Molti degli strumenti già disponibili sono, infatti, costruiti senza tener conto delle possibilità di drop-out da parte dei partecipanti, per l'eccessiva focalizzazione diretta delle prove proposte sulle funzioni carenti. È per questo che si è pensato di utilizzare una modalità di presentazione delle prove formative che sia il più possibile indiretta, e che favoriscano la compliance necessaria per il buon andamento del percorso riabilitativo.

Il primo dei due trattamenti prevede l'utilizzo di un videogioco che ricalcherà le caratteristiche di quelli dimostratisi efficaci nel migliorare le prestazioni attentive e visuo-spaziali dei soggetti adulti (Green & Bavelier, 2003, 2007, 2010; Li et al., 2009); la valutazione dell'età di gioco considerata adeguata secondo la classificazione Pan European Games Information è da sette anni in poi. Il secondo trattamento, utilizzerà, invece, un videogioco sviluppato all'interno del Dipartimento di Psicologia Generale dell'Università degli Studi di Padova, formalizzato dal gruppo di ricerca di cui è responsabile Andrea Facoetti, composto da Simone Gori, Milena Ruffino, Luca Ronconi e Sandro Franceschini, in collaborazione con i tecnici informatici del Professor Luciano Gamberini. Il videogioco, mantenendo le caratteristiche dei "serious games", si proporrà di allenare le competenze neurocognitive, in modo più ripetitivo e rigidamente strutturato, rendendolo sovrapponibile alle prove per l'acquisizione delle abilità di lettura. Il gioco si ispirerà in modo indiretto ai giochi pro-

posti (Wii Play) ai bambini per familiarizzare con consolle quali la Nintendo Wii e commercializzati per bambini al disopra di sei anni.

PROCEDURA

Struttura del trattamento e soggetti partecipanti

Il progetto prevede un primo momento di test delle abilità di lettura e cognitive del partecipante, una fase di trattamento, ed una fase di retest dove si valutano le variazioni di performance ottenute (vedi paragrafo “*Metodi di valutazione dell’efficacia del trattamento*”).

Il trattamento, che verrà svolto nelle prime tre settimane del mese di Luglio, prevede la partecipazione di bambini con diagnosi di DE (effettuata presso l’IRCCS “E. Medea”). I bambini ai quali verrà proposto di partecipare al trattamento sperimentale, saranno tutti coloro che hanno una età compresa fra i 7 ed i 16 anni, e risultano al momento inseriti nella lista di attesa per un trattamento. Tale lista, risulta composta al momento da circa 60 bambini.

Entrambi i trattamenti prevedono che il soggetto svolga le prove del videogioco in due sessioni giornaliere da 40 minuti ciascuna, per tre giorni settimanali per un totale di 18 incontri complessivi (in totale il trattamento si svolgerà in un periodo di tre settimane).

Complessivamente, considerando anche i due momenti di valutazione iniziale e finale del trattamento, il bambino parteciperà quindi a 20 incontri.

Al fine di poter valutare l’efficacia del trattamento, verranno osservati tre gruppi di bambini: a due gruppi, composti da tutti coloro che aderiranno al progetto, verranno proposti singolarmente i due trattamenti (N=15 per gruppo); il terzo gruppo sarà composto da coloro che rifiuteranno di partecipare al progetto (N=15) e a cui verrà chiesto di poter comunque registrare le loro abilità di lettura in due momenti diversi, corrispondenti, per gli altri, al momento prima dell’inizio del trattamento e la fine dello stesso. In caso di effettiva efficacia di uno dei due trattamenti, riscontrata nei gruppi che vi parteciperanno, al gruppo di bambini che inizialmente hanno rifiutato di partecipare al progetto verrà comunque data la possibilità di partecipare ad una successiva somministrazione del programma di intervento. Ogni partecipante verrà inserito nel gruppo di trattamento più adeguato in base alle risposte che i rispettivi genitori daranno ad una serie di domande relative alle abitudini di utilizzo dei videogiochi del bambino.

Sia le fasi di trattamento che di valutazione iniziale e finale, avranno luogo presso le strutture dell’IRCCS “E. Medea”.

Metodi di valutazione dell’efficacia del trattamento

Il principale indice di efficacia del trattamento sarà costituito da un miglio-

mento statisticamente significativo delle abilità di lettura da parte di ciascun partecipante, valutabile attraverso la somministrazione di prove di lettura, rispetto al normale sviluppo delle abilità lettura stesse, atteso per l'età del soggetto partecipante. Il grado di miglioramento sarà inoltre valutato mettendo a confronto le variazioni nelle abilità di lettura applicando i due trattamenti, con le variazioni ottenute somministrando per tempi equivalenti un trattamento attualmente in uso, quale il metodo Bakker. I risultati relativi a quest'ultima condizione, sono ricavabili da una sperimentazione precedentemente condotta. Al fine di valutare in modo corretto l'efficacia del trattamento, ai bambini con DE all'interno dei tre gruppi sarà somministrata, prima e dopo il trattamento la seguente batteria di prove, della durata complessiva di circa 90 minuti:

- Misura della abilità di lettura (prove di lettura di brano (Prove MT di Cornoldi & Colpo, 1981) e le prove di lettura di liste di parole e non parole (Batteria per la valutazione della dislessia e della disortografia evolutiva, Sartori et al., 1995). Le abilità di lettura verranno misurate anche mediante una prova computerizzata (Zorzi et al., 2005);
- Efficienza della capacità di Ricerca Visiva Seriale Efficienza della Sintesi Fonemica;
- Efficienza della Memoria a Breve Termine fonologica;
- Efficienza della via Magnocellulare-Dorsale e Parvocellulare-Ventrale;
- Efficienza della capacità di escludere il rumore;
- Efficienza della capacità di orientamento dell'attenzione;
- Capacità di associazione stimolo-tasto.

PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE SELEZIONATE rispetto al trattamento riabilitativo proposto

- Green, C. S., & Bavelier, D. (2003). Action video game modifies visual attention. *Nature*, 423, 534-537.
- Green, C. S., & Bavelier, D. (2006). Effects of action video game playing on the spatial distribution of visual selective attention. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, 32, 1465-1478.
- Green, C. S., & Bavelier, D. (2006). Enumeration versus multiple object tracking: The case of action video game players. *Cognition*, 101, 217-245.
- Li, R., Polat, U., Makous, W., & Bavelier, D. (2009). Enhancing the contrast sensitivity function through action video game training. *Nature Neuroscience*, 12, 549-551.

STUDIO DELL'EFFETTO DELLA CRANIO AGOPUNTURA SULLE RAPPRESENTAZIONI SENSORIMOTORIE MEDIANTE IMAGING FUNZIONALE

DR.SSA BARBARA TOMASINO

E-MAIL: BTOMASINO@UD.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Proponente

IRCCS "E. Medea"

Collaborazioni

Azienda Ospedaliero Universitaria S. Maria della Misericordia di Udine: Soc. Neuroradiologia; Azienda Ospedaliero Universitaria S. Maria della Misericordia di Udine: Fisica Sanitaria

Periodo di svolgimento

13.05.2011 – 01.12.2012

Polo scientifico

San Vito al Tagliamento e Pasiàn di Prato

DESCRIZIONE SINTETICA

Introduzione

L'agopuntura, antica tecnica terapeutica d'origine orientale, è efficace per curare diverse disfunzioni. L'inserimento degli aghi in specifici punti del corpo, gli agopunti, distribuiti lungo particolari canali energetici, detti meridiani, è una metodica che è stata spesso guardata con sospetto dalla scienza medica tradizionale, eppure oggi molti studi affermano che sono molte le patologie che potrebbero essere efficacemente trattate con tale approccio terapeutico. L'antica pratica cinese, per esempio, può rivelarsi utile contro il mal di testa o per alleviare il dolore mestruale, anche quello profondo e insensibile ai comuni antidolorifici. Si è dimostrata efficace, tra l'altro, per controllare la nausea post chemioterapia, il dolore post chirurgico o post estrattivo dentale, la lombalgia in gravidanza, o per il rivolgimento nella mal-

posizione fetale. Una meta-analisi dimostra come l'agopuntura sia ad esempio un promettente trattamento per la paralisi post-stroke (Kai-hoi Sze et al., 2002).

La cranio-agopuntura, che sfrutta solamente i punti del cranio, consiste nell'infissione di aghi sullo scalpo in corrispondenza di specifici punti sulle 14 linee MS (da micro-system e scalp-point) della cranio-agopuntura (codificate dall'Organizzazione Mondiale della Sanità, OMS.) per stimolare aree corticali sottostanti dotate di funzioni motrici e sensitive. L'O.M.S. ha programmato di introdurre la Medicina Cinese in tutti i Servizi Sanitari Nazionali basandosi sui risultati clinici ottenuti in numerosi screening di massa, svolti in oriente ed occidente. L'ordine dei medici in Italia ha stabilito fin dal 1985 che l'agopuntura è un atto medico, per cui può essere praticata solo da laureati in medicina e chirurgia abilitati all'esercizio della professione. I campi di applicazione possono risultare particolarmente estesi, dalle patologie muscoloscheletriche a quelle gastrointestinali, dai disturbi dell'umore alle patologie ginecologiche e così via e esistono ormai indicazioni di conferma della sua efficacia. È un metodo particolarmente utilizzato nella riabilitazione del paziente che abbia subito un danno cerebrale di tipo ictale o danno corticale (Gomirato et al., 1976a, Gomirato et al., 1976b; Wang et al., 1993).

Mentre per le altre tecniche di agopuntura esistono ormai affidabili conferme ottenute anche attraverso studi fMRI e DTI (Hui et al., 2001; Liu et al., 2009; Li et al., 2010; Bai et al., 2010; Asghar et al., 2010; Liu et al., 2010b; Wong et al., 2009) la ricerca bibliografica sulla cranio agopuntura rileva pochi studi soltanto (Inoue et al., 2009 e Park et al., 2009), uno che descrive un modello animale di funzionalità della tecnica e uno che confronta l'effetto della cranio agopuntura e dell'agopuntura effettuata sull'arto superiore o inferiore. Vi è poi uno studio sulla correlazione topografica tra i punti della cranipuntura e i giri corticali (Pradal, et al 1979).

Si ritiene che la cranio agopuntura abbia effetto sulla attivazione delle aree corticali. Sulla base di uno studio di innervazione delle aree cutanee stimulate dalla cranio agopuntura, Gomirato et al. (1976b) propongono una classificazione neurofisiologica delle tecniche, considerando il bulbo come il primo sito di integrazione dei vasi afferenti attivati dall'agopuntura.

OBIETTIVI DELLO STUDIO

In questo progetto intendiamo utilizzare la risonanza magnetica funzionale 3 T presso l'Azienda Ospedaliera Universitaria "Santa Maria della Misericordia" di Udine (UD) per investigare i meccanismi sottostanti alla cranio agopuntura studiando le modificazioni funzionali delle aree sensorimotorie. A questo scopo si valuteranno i cambiamenti neurofunzionali che si manifesteranno

prima e dopo la seduta di cranio agopuntura. In particolare si ipotizza che l'infissione di aghi sullo scalpo in corrispondenza di punti specifici delle linee della cranio agopuntura corrispondenti all'area della mano oppure del piede, si rifletta nell'attivazione selettiva delle aree deputate al controllo dei movimenti della mano e del piede lungo l'homunculus sensorimotorio. Attualmente non esistono in letteratura studi che validino mediante fMRI l'efficacia di tale tecnica e il presente studio è volto a verificare tale ipotesi. Inoltre l'ipotesi è che tale attivazione si traduca in facilitazione motoria, che potrà essere misurata mediante l'analisi del BOLD durante lo svolgimento di compiti di movimento.

Si effettuerà una scansione anatomica e funzionale in 2 momenti: prima della seduta di cranio agopuntura, che fungerà da baseline, poi i volontari parteciperanno alla seduta di agopuntura (fuori dallo scanner) effettuata da un medico neuroradiologo specializzato in cranio agopuntura (Dr. Zanardi). L'ago verrà mantenuto in sede per 30 minuti, e poi estratto prima dell'introduzione del paziente nello scanner per la seconda scansione. Si escludono effetti collaterali legati a tale tecnica. Come accorgimento escluderemo mediante intervista i soggetti che non tollerino l'infissione dell'ago onde evitare sintomi neurovegetativi ad essa correlati. Si segnala come unico effetto che potrebbe risultare spiacevole è un piccolo ematoma nella sede di infissione. Inoltre, le reazioni alla puntura dell'ago nella craniopuntura comprendono reazioni di calore, formicolio, distensione, spasmo; sensazioni che si affievoliscono o scompaiono nel corso della seduta. L'area interessata dalla sensazione può essere vasta, può comparire sull'arto omolaterale, controlaterale, alcuni pazienti possono avere una sensazione di calore generale. Tali reazioni verranno documentate, anche in funzione dello studio, in modo da raccogliere una notazione della percezione reale somatosensoriale del partecipante in seguito ad applicazione del trattamento. La sensazione nella maggior parte dei pazienti può comparire da pochi secondi a 3 minuti dopo l'inserzione dell'ago, in casi particolari dopo ore o quando si tolgono gli aghi. La sensazione comincia a diminuire dopo 3 -10 minuti.

Se la cranio agopuntura attiva selettivamente delle aree deputate al controllo dei movimenti della mano e del piede e tale attivazione si traduce in facilitazione motoria, verificheremo se tale meccanismo si riflette anche a livello comportamentale, misurando in una serie di studi, in fMRI la prestazione dei volontari durante l'esecuzione di alcuni compiti. È noto infatti che le rappresentazioni sensorimotorie possono essere attivate attraverso compiti di simulazione mentale dei movimenti. La simulazione mentale motoria può essere evocata sia attraverso istruzioni esplicite (Jeannerod, 1999) che implicitamente (Jeannerod and Frak, 1999), ovvero quando, sebbene i partecipanti non ricevono esplicite istruzioni di immaginare o pensare al movimento,

simulano inconsapevolmente l'azione corrispondente mentre eseguono un altro compito, ad esempio durante la rotazione mentale (e.g., Kosslyn et al., 2001), la decisione di lateralità di un segmento corporeo (es. una mano) (e.g., Parsons and Fox, 1998), giudizi sulla facilità, difficoltà o impossibilità di eseguire una determinata azione (Johnson et al., 2002b), oppure nella comprensione e riconoscimento di azioni altrui (e.g., Jeannerod, 1999) o durante l'elaborazione linguistica di parole o frasi che descrivono azioni o verbi che descrivono un movimento attiva, oltre alle "classiche" aree linguistiche, anche la corteccia motoria primaria (M1) e la corteccia premotoria (e.g., Hauk et al., 2004; Tettamanti et al., 2005; Buccino et al., 2005; Oliveri et al., 2004; Tomasino et al., 2007; Tomasino et al., 2008). La causa della riportata attivazione della corteccia motoria durante la lettura di frasi o parole "motorie" potrebbe risiedere nella simulazione mentale (implicita) del movimento corrispondente. Nel presente studio per attivare le rappresentazioni sensorimotorie utilizzeremo due compiti impliciti (elaborazione di parole azione e decisione di lateralità di un segmento corporeo (mani destre e sinistre) assieme ad un compito esplicito (movimento delle mani e dei piedi).

Nella serie di studi che ci prefiggiamo di eseguire si approfondirà successivamente l'effetto della cranio agopuntura sulla sensibilità tattile e in un'altra serie di studi l'effetto di tale tecnica sul resting state (Damoiseaux et al., 2006). Se, da un lato, sono numerosi gli studi funzionali che dipingono l'attività del cervello durante lo svolgimento di compiti cognitivi, sensoriali e motori, relativamente recente è invece l'indagine dello stato di riposo: il soggetto in esame non svolge alcun compito particolare e rimane nello scanner MR come in una tecnologica, e molto rumorosa, sala d'aspetto. Negli ultimi anni infatti si è affermata tra i ricercatori l'ipotesi che a riposo il cervello sia impegnato in un'attività di fondo, definita in letteratura come default mode of brain function, baseline state, o anche conscious resting state. Le aree cerebrali coinvolte in tale attività di fondo costituirebbero una rete funzionale, detta default mode network (DMN). Per rete viene qui intesa l'attività spontanea simultanea di aree anatomicamente segregate, in accordo con il concetto di connettività funzionale: regioni che si attivano in maniera concorde appartengono ad una rete funzionale, cioè concorrono a realizzare una stessa funzione. La default mode network è costituita dalle aree cerebrali la cui attività aumenta durante lo svolgimento di compiti cognitivi semplici oppure a riposo rispetto all'esecuzione di task più complessi. Le regioni attribuite alla DMN da studi di risonanza magnetica funzionale corrispondono significativamente alle aree cerebrali metabolicamente più attive nello stato di riposo.

La correlazione delle informazioni di neuroimmagine funzionale con le prestazioni comportamentali potrà fornire indicazioni utili per la comprensione e l'intervento riabilitativo dei disturbi motori o sensoriali in pazienti cerebrolesi

e psichiatrici.

POPOLAZIONE

60 volontari destrimani sani (dai 18 ai 35 anni d'età). Sarà accertata l'assenza delle condizioni di controindicazione alla MRI. A ciascun partecipante sarà riconosciuto un rimborso per le spese di viaggio e un compenso fino ad un massimo di 15 euro per ora di test. Ciascun partecipante potrà decidere di interrompere lo studio in qualsiasi momento e senza alcuna penalizzazione.

PROTOCOLLO

- Sarà effettuata una prima scansione (t1) di risonanza magnetica funzionale ad alto campo (3 T) presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria "S. Maria della Misericordia" di Udine. Ciascuna sessione sperimentale prevede una scansione T1 anatomica, seguita da una scansione funzionale con sequenze EPI di durata inferiore a 30 minuti. Durante la sequenza funzionale ai partecipanti verranno presentati stimoli che in diversi esperimenti potranno essere, immagini, o frasi o singoli verbi, presentati visivamente attraverso opportuni occhiali fMRI compatibili. Ai partecipanti verrà richiesto di rispondere agli stimoli presentati per dimostrarne l'avvenuta elaborazione e riconoscimento mediante pressione di pulsanti.
- In un secondo momento (t2, giornata diversa una settimana dopo) gli stessi volontari parteciperanno alla seduta di agopuntura (fuori dallo scanner) effettuata da un medico neuroradiologo specializzato in cranio agopuntura (Dott. Zanardi). L'ago verrà mantenuto in sede per 30 minuti, e poi estratto prima dell'introduzione del paziente nello scanner per la seconda scansione. Si escludono effetti collaterali legati a tale tecnica. Come accorgimento escluderemo mediante intervista i soggetti che non tollerino l'infissione dell'ago. Si segnala come unico effetto che potrebbe risultare spiacevole è un piccolo ematoma nella sede di infissione. Inoltre, le reazioni alla puntura dell'ago nella craniopuntura comprendono reazioni di calore, formicolio, distensione, spasmo; sensazioni che si affievoliscono o scompaiono nel corso della seduta. L'area interessata dalla sensazione può essere vasta, può comparire sull'arto omolaterale, controlaterale, alcuni pazienti possono avere una sensazione di calore generale. La sensazione nella maggior parte dei pazienti può comparire da pochi secondi a 3 minuti dopo l'inserzione dell'ago, in casi particolari dopo ore o quando si tolgono gli aghi. La sensazione comincia a diminuire dopo 3 -10 minuti. Tali reazioni verranno documentate, anche in funzione dello studio, in modo da raccogliere una notazione della percezione reale somatosensoriale del partecipante in seguito ad applicazione del trattamento.

- Si eseguirà in seguito e nella stessa giornata (t2) una seconda scansione di risonanza magnetica funzionale ad alto campo (3 T) che prevede la ripetizione di una scansione T1 anatomica, seguita da una scansione funzionale con sequenze EPI di durata inferiore a 30 minuti.

Prima di cominciare l'esperimento a ciascun partecipante sarà consegnato un foglio informativo sulla Risonanza Magnetica e sugli scopi e il protocollo della ricerca in corso e gli sarà dato tutto il tempo necessario per leggerlo e per chiedere eventuali chiarimenti comprese le informazioni riguardanti il trattamento di cranio agopuntura. Verrà inoltre consegnato un modulo di consenso informato che conterrà una serie di domande relative alle condizioni di esclusione dalla Risonanza Magnetica e l'autorizzazione al trattamento dei dati personali e che ciascun partecipante dovrà compilare ed eventualmente firmare per acconsentire a partecipare alla ricerca. Tutte le procedure per l'effettuazione dell'esame di fMRI seguiranno le linee guida internazionali di sicurezza (Shellock & Crues, 2004; Shellock, 2008).

I dati di neuroimmagine funzionale saranno analizzati con programmi appositi (e.g., SPM5) e saranno condotte analisi basate su Regioni di Interesse e su tutto il cervello. Sarà analizzata l'accuratezza e la velocità di risposta, come parametri comportamentali da correlare ai dati di neuroimmagine funzionale.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI (ESTRATTO)

- Damoiseaux J.S., Rombouts S. A. R. B. , Barkhof F., Scheltens P., Stam C. J., Smith S. M., and Beckmann C. F. (2006). Consistent resting-state networks across healthy subjects. PNAS September 12, 2006 vol. 103 no. 37 13848-13853
- Frank Kai-hoi Sze, Eric Wong, Kevin K.H. Or, Joseph Lau and Jean Woo (2002). Does Acupuncture improve motor recovery after stroke? A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, Stroke.;33:2604.
- Gomirato G, Grimaldi L, Perfetti C, Roccia L. (1976). Cranial acupuncture in the treatment of spasticity. Clinical results. Minerva Med., 67(29):1895-8.
- Gomirato G, Grimaldi L, Perfetti C, Roccia L. (1976b). Cranial acupuncture in the treatment of spasticity. Neurophysiological findings. Minerva Med., 67(29):1899-901.
- Hauk, O., Johnsrude, I., & Pulvermüller, F. (2004). Somatotopic representation of action words in human motor and premotor cortex. Neuron, 41, 301-307.
- Hui KK, Napadow V, Liu J, Li M, Marina O, Nixon EE, Claunch JD, LaCount L, Sporko T, Kwong KK. (2010). Monitoring acupuncture effects on human

brain by fMRI. *J Vis Exp.* 38)

- Inoue I, Fukunaga M, Koga K, Wang HD, Ishikawa M. (2009). Scalp acupuncture effects of stroke studied with magnetic resonance imaging: different actions in the two stroke model rats. *Acupunct Med.* 27(4):155-62.
- Jeannerod, M. (1999) To act or not to act. Perspectives on representation of actions. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 52, 1-29.
- Jeannerod, M., Frak, V. (1999) Mental imagery of motor activity in humans. *Current Opinion in Neurobiology*, 9, 735-739.
- Johnson, S. H., Rotte, M., Grafton, S. T., Hinrichs, H., Gazzaniga, M. S. & Heinze, H. J. (2002) Selective Activation of a parietofrontal circuit during implicitly imagined prehension. *Neuroimage*, 17, 1693-1704.
- Kosslyn, S. M., Thompson, W. L., Wraga, M. & Alpert, N. M. (2001) Imagining rotation by endogenous versus exogenous forces: distinct neural mechanisms. *Neuroreport*, 12, 2519-2525.
- Li L, Qin W, Bai L, Tian J. (2010). Exploring vision-related acupuncture point specificity with multivoxel pattern analysis. *Magn Reson Imaging.*28(3):380-7.
- Liu B, Liu X, Chen J, Long Y, Chen ZG, Shang XJ, Mo WZ, Li XF. (2009). Study on the effects of acupuncture at acupoint and non-acupoint on functional connectivity of different brain regions with functional magnetic resonance imaging. *Zhongguo Zhen Jiu.* Dec;29(12):981-5. Chinese.
- Liu J, Qin W, Guo Q, Sun J, Yuan K, Liu P, Zhang Y, von Deneen KM, Liu Y, Tian J. (2010b). Distinct brain networks for time-varied characteristics of acupuncture. *Neurosci Lett.* 468(3):353-8.
- Oliveri, M., Finocchiaro, A., Shapiro, K., Gangitano, M., Caramazza, A., & Pascual-Leone, A. (2004). All talk and no action: a transcranial magnetic stimulation study of motor cortex activation during action word production. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 16, 374-381.
- Park SU, Shin AS, Jahng GH, Moon SK, Park JM. (2010). Effects of scalp acupuncture versus upper and lower limb acupuncture on signal activation of blood oxygen level dependent (BOLD) fMRI of the brain and somatosensory cortex. *J Altern Complement Med.* 15(11):1193-200.
- Parsons, L. M., Fox, P. T. (1998) The neural basis of implicit movements used in recognizing hand shape. *Cognitive Neuropsychology*, 15, 583-615.
- Pradal D , et al (1979.). Topographic correlation between the Chinese craniopuncture zones and the cerebral gyri.

- Shellock F.G., Crues J.V. (2004): MR Procedures: Biologic Effects, Safety, and Patient Care, Radiology, 232: 635-652.
- Shellock F.G. (2008): Reference Manual for Magnetic Resonance Safety, Implants, and Devices: 2008 Edition, Magmedix: Fitchburg, MA.
- Tettamanti, M., Buccino, G., Saccuman, M. C., Gallese, V., Danna, M., Scifo, P., Fazio, F., Rizzolatti, G., Cappa, S., & Perani, D. (2005). Listening to action-related sentences activates fronto-parietal motor circuits. Journal of Cognitive Neuroscience, 17, 273-281.
- Tomasino, B., Werner, C., Weiss, PH. & Fink, GR. (2007) Stimulus properties matter more than perspective: An fMRI study of mental imagery and silent reading of action phrases NeuroImage 36 128–141
- Tomasino, B., Weiss, PH., Sparing, R., Dafotakis, M., & Fink, GR. Action Verbs in the Primary Motor Cortex: a comparative TMS study of Silent Reading, Frequency Judgment and Motor Imagery. Re-submission to Neuropsychologia.
- Wang Yukang, et al. Treatment of apoplectic emiplegia with scalp acupunture in relation to CT findings, Journal of Traditional Chinese Medicine 1993; 13(3): 182-184.
- Wong M, Ming Y. (2009). Correspondence on “effect of acupunture on the brain in children with spastic cerebral palsy using functional neuroimaging (fMRI)”. J Child Neurol. 24(10):1324-5.

STUDIO DEL PROFILO EMOTIVO-COMPORTAMENTALE, DELLA QUALITÀ DELLA VITA E DELLO STRESS FAMILIARE IN UN GRUPPO DI SOGGETTI AFFETTI DA SINDROME DI BECKWITH-WIEDEMANN

DR. ROSARIO MONTIROSSO

E-MAIL: ROSARIO.MONTIROSSO@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 1

Neuropatologia

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Proponente

IRCCS "E. Medea" – con il contributo di: Associazione Sindrome di Beckwith-Wiedemann

Periodo di svolgimento

Giugno 2011 – Marzo 2013

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Introduzione e rationale dello studio

La sindrome di Beckwith-Wiedemann (BW) è una malattia genetica rara la cui eziologia più frequente è l'alterazione dell'imprinting di alcuni geni che risiedono sul braccio corto del cromosoma 11 (11p15.5), sebbene siano possibili altre cause come la disomia uniparentale o delezioni/inversioni del cromosoma 11. Da un punto di vista clinico la sindrome BW è caratterizzata da macrosomia, macroglossia, visceromegalia, nonché da una varietà di anomalie dello sviluppo (ad esempio difetti della parete addominale compresa onfalocele, emi-ipertrofia, difetti cardiaci congeniti, anomalie urogenitali) e una predisposizione ai tumori embrionali (più frequentemente il tumore di Wilms; Elliott e Maher, 1994).

Ad oggi la maggior parte degli studi relativi alla sindrome BW si è focalizzata sugli aspetti clinici ed eziopatogenetici, in particolare attraverso gli studi genetici. D'altra parte i bambini con sindrome di BW sperimentano una condizione cronica i cui effetti in termini di funzionamento cognitivo, emozionale

e di qualità della vita per chi ne è affetto non sono ancora stati pienamente indagati. Questo è un po' sorprendente poiché noto che i bambini con una malattia cronica hanno un maggior rischio di incorrere in problemi psicosociali. Diversi studi di popolazione riportano che questi bambini presentano un rischio che è circa il doppio rispetto ai bambini sani per le difficoltà di adattamento sociale e per i sintomi di internalizzazione e di esternalizzazione (Gortmaker, Walker, Weitzman, e Sobol, 1990). I bambini con patologie croniche possono inoltre presentare una più bassa qualità della vita dato che a causa della loro malattia possono avere significative limitazioni nelle interazioni con i coetanei; questo può dipendere da restrizioni dell'attività fisica, da difficoltà nelle attività quotidiane, da preoccupazioni per l'aspetto fisico, e da uno stile di vita condizionato da frequenti visite mediche e da eventuali trattamenti intensivi. Per quanto a noi noto, non ci sono studi dettagliati relativi all'organizzazione comportamentale e alla qualità della vita dei bambini con sindrome di BW, tranne una ricerca di un gruppo di ricercatori Inglesi che ha indagato il funzionamento neuro-evolutivo di questi bambini (Kent et al., 2008). In questa indagine i genitori di 87 bambini con la sindrome di BW (età media di 9 anni) hanno compilato un questionario che valutava i punti di forza e le difficoltà del bambino relativamente a cinque aree: (1) capacità prosociali, (2) iperattività, (3) sintomi emotivi, (4) problemi di comportamento, e (5) problemi nel rapporto con i coetanei. Sebbene non in modo significativo i bambini ottenevano punteggi più alti rispetto alla media della popolazione in tutte le aree di indagine. Inoltre, il 37,6% e il 43,0 % dei bambini superava la soglia di criticità rispettivamente per i problemi emozionali e per le relazioni con i coetanei. Rispetto al primo punto i bambini venivano descritti come molto preoccupati, con frequenti abbattimenti dell'umore, tendenti ad esprimere forte disagio di fronte a situazioni nuove o non familiari e lamentele somatiche non giustificate da cause mediche (es.: mal di testa, mal di pancia, etc.). Mentre per il secondo punto i genitori segnalavano che questi bambini avevano minori legami con i coetanei, tendevano a percepirsi "differenti" dagli altri, a sentirsi vittime di bullismo e il subire atti di prepotenza. Questi dati suggeriscono che i bambini con BW vanno incontro ad importanti problemi nell'area del funzionamento emotivo-comportamentale e dei rapporti sociali. Non è detto che le difficoltà rilevate da questo studio siano una diretta conseguenza del genotipo associato alla sindrome, ma tali evidenze suggeriscono che, come in altre patologie croniche (Meijer et al., 2000), convivere con una condizione clinica permanente come quella della BW diventa un fattore di rischio per lo sviluppo di problematiche emotive-comportamentali e per la qualità della vita.

Le condizioni di cronicità di un figlio costituiscono per le famiglie una fonte significativa di stress. La nascita di un bambino con una malattia cronica

rappresenta infatti una “frattura” rispetto al bambino idealizzato che ogni genitore vive nel corso della gravidanza. Questa condizione espone i genitori ad un forte stress psicologico dovuto in primo luogo al processo di accettazione della condizione del bambino. A questo si accompagnano una serie di vissuti di precarietà, incertezza e dolore che possono rendere gravoso il ruolo di genitore (Ray, 2002). Molti genitori sperimentano stati emozionali fortemente negativi, di rabbia, di impotenza, di angoscia, a cui spesso si affiancano il senso di incompetenza, il rischio di isolamento sociale e il timore per il futuro del bambino. Non va peraltro dimenticato che i genitori devono affrontare la gestione quotidiana e le inevitabili difficoltà e incertezze associate alla malattia (ad esempio, visite di controllo, trattamenti, esiti, ecc.). A cui si aggiungono problemi finanziari ed organizzativi che sono una diretta conseguenza del dover affrontare attività supplementari per la gestione della salute del proprio figlio. Infine, è importante considerare che spesso questi genitori debbano: rimodellare il loro ruolo, riorganizzare la loro vita e affrontare rinunce, in una situazione nella quale non è raro che vi sia una ridotta possibilità di soddisfare appieno i propri bisogni e le esigenze degli altri membri della famiglia (Dellve et al., 2005). Alcuni genitori sono in grado di far fronte con efficacia a queste sfide, mentre per altri l'impegno supera le risorse psicologiche, sociali ed organizzative che hanno a disposizione. Il grado con cui questa capacità è presente non è un dato assoluto, ma dipende da fattori individuali, dalle dinamiche familiari e da specifici elementi, incluso il tipo e le condizioni cliniche della patologia del bambino. Nonostante sia stato ampiamente documentato che i genitori con un figlio una malattia cronica hanno un maggiore rischio incorrere in problemi di salute e riportano una più bassa qualità della vita (Manuel et al. 2003), per quanto a noi noto non esiste uno studio che affronti specificatamente questi aspetti nel caso di famiglie con un bambino con sindrome di BW.

Alla luce di queste considerazioni di questo studio ha due principali obiettivi. Da una parte si vuole indagare il profilo emotivo-comportamentale e la qualità della vita di soggetti affetti da sindrome di BW in età pediatrica. Tali fattori rappresentano elementi basilari per delineare con maggiore accuratezza il quadro clinico di soggetti con questa sindrome. Dall'altra parte, poiché il livello di stress genitoriale può influenzare pesantemente il micro-ambiente affettivo e rappresentare un fattore di rischio aggiuntivo si vuole analizzare il grado di stress percepito dai genitori di questi bambini.

Accanto a questi obiettivi primari si ritiene utile indagare alcuni aspetti dello sviluppo dei bambini con sindrome di BW. In questi bambini infatti state segnalate alcune difficoltà nell'ambito psicomotorio, ma questi rilievi sono di natura aneddotica e basati sul singolo caso (Turleau et al, 1984), mentre generalmente non sono riportate specifiche problematiche dello sviluppo.

Eppure, nonostante manchino riscontri empirici, è ormai ampiamente riconosciuto che ci possa essere un contributo genetico alle difficoltà di apprendimento e dello sviluppo, frequentemente osservate in diverse condizioni sindromiche (Isles & Humby, 2006; Nicholls, 2000). È quindi per certi versi singolare che non siano ancora state svolte ricerche relative alla sindrome di BW in grado di documentare problematiche associate a specifiche aree dello sviluppo, quali ad esempio le competenze motorie (abilità grosso e fino motorie), il linguaggio (espressione e comprensione linguistica) e l'apprendimento formale. Pertanto un obiettivo secondario e circoscritto ai bambini in età prescolare è approfondire i livelli di sviluppo nelle aree di funzionamento testé menzionate. La scelta di limitare l'età ai solo bambini fino ai sei anni è dovuta a due ragioni sostanziali. La prima è che questa fase dello sviluppo rappresenta un periodo particolarmente importante per poter individuare possibili situazioni di rischio che non si sono ancora strutturate. Peraltro, in questa fase i genitori sono osservatori privilegiati rispetto ai periodi successivi della crescita quando i bambini frequentano ambienti extra-familiari come la scuola. In questi casi infatti le eventuali difficoltà dei bambini possono essere rilevati in prima battuta anche da operatori scolastici. Il secondo motivo è che data la complessità delle competenze che i bambini più grandi di sei anni cominciano a mostrare, un'analisi dello sviluppo richiederebbe un approccio più diretto che includa valutazioni di natura testologica.

OBIETTIVI DELLO STUDIO

Primari

Per i bambini con sindrome di BW tra il primo anno di vita e i diciotto anni di età e le loro famiglie:

1. descrivere il profilo emotivo-comportamentale;
2. analizzare la qualità della vita;

Per i genitori dei bambini partecipanti allo studio:

3. valutare il livello di stress familiare percepito separatamente dalla madre e dal padre.

Secondari

4. fornire un quadro dello sviluppo dei bambini tra i 15 mesi e i sei anni di età.

RICADUTE OPERATIVE

I risultati dello studio permetterebbero di costituire un know-how attualmente carente su tutte le aree di indagine prese in considerazione dal protocollo. Inoltre ci si attende che sulla base dei dati raccolti sia possibile evidenziare specifici bisogni psicologici, sociali e ambientali che potranno essere utilizzati per indirizzare specifici interventi socio-sanitari. In effetti è solo sulla

base di dati empirici che diventa possibile avanzare, nelle sedi istituzionali competenti, proposte di supporto ai soggetti con sindrome di BW e alle loro famiglie.

PROGETTAZIONE DELLO STUDIO

Popolazione

I soggetti in età evolutiva con sindrome di BW e le loro famiglie reclutabili su tutto il territorio nazionale tramite l'Associazione Italiana Sindrome di Beckwith-Wiedemann (AISBW).

Disegno dello studio e modalità di arruolamento

Lo studio sarà condotto con la collaborazione della AISBW, la quale si rende disponibile a contattare le famiglie dei bambini con sindrome di BW potenzialmente arruolabili.

Criteri di inclusione

Non sono previsti specifici criteri di inclusione.

Attività previste e procedura

La rilevazione dei dati avverrà attraverso il coinvolgimento delle famiglie dopo una loro esplicita adesione alla ricerca. Tutte le famiglie che intendono partecipare verranno contattate per fissare un colloquio telefonico finalizzato al supporto informativo e utile alla raccolta dei dati. Parallelamente verranno inviati per posta ordinaria i questionari che saranno in duplice copia, in modo che sia la madre che il padre possano compilarli, esprimendo autonomamente il loro parere.

METODI STATISTICI

Gestione dei dati

Tutti i dati ricavati dal presente studio saranno registrati ed archiviati presso l'Istituto "E. Medea".

Dopo l'inserimento dei dati, saranno effettuati sugli stessi dei controlli al fine di valutare la leggibilità, eventuali incoerenze interne o dati errati. Al termine del processo di verifica dei dati, sarà conservata una versione definitiva del database, utilizzata per le analisi statistiche.

Analisi statistiche

Sarà definito un piano di analisi al fine di guidare le analisi statistiche. Tale piano conterrà la descrizione dettagliata dei criteri di valutabilità per le analisi relative ai soggetti arruolato. Il primo step nella valutazione dei dati raccolti sarà un'analisi esplorativa volta a descrivere le caratteristiche generali, non-

ché le caratteristiche quali-quantitative dei dati. Verranno successivamente eseguita analisi univariate e multivariate per indagare possibili nessi tra le variabili prese in esame.

ASPETTI ETICI

Il protocollo è in accordo con i principi definiti dalla 18ma Assemblea Medica Mondiale (Helsinki, 1964) e successive modificazioni dalla 29ma (Tokyo, 1975), dalla 35ma (Venezia, 1983), dalla 41ma (Hong Kong, 1989) e dalla 52ma (Edimburgo, 2000) Assemblee Mediche Mondiali.

La partecipazione allo studio è libera e volontaria. Tutti i dati saranno utilizzati in modo tale da garantire il totale anonimato dei soggetti coinvolti, ai sensi dell'art. 7 d.lgs. 196/2003 relativa alla "Tutela delle persone e di altri soggetti rispetto al trattamento dei dati personali".

Lettera informativa e modulo per il consenso informato

Ai genitori partecipanti allo studio sarà fornita una lettera informativa ed un modulo per il consenso informato per la partecipazione alla ricerca. La lettera informativa contiene una definizione chiara ed esaustiva degli obiettivi dello studio.

Eventi indesiderati

Lo studio si basa sulla rilevazione di dati attraverso i genitori dei bambini, pertanto le metodiche e/o le procedure previste dal protocollo non comportano alcun rischio per il bambino e/o per i genitori.

PRODOTTI

Alla conclusione dello studio i risultati che emergeranno verranno restituiti all'Associazione sotto forma di un report cartaceo. Inoltre in base al tipo di risultati è possibile che almeno una parte dei dati siano oggetto di pubblicazioni scientifiche su riviste nazionali ed internazionali, nonché oggetto di presentazioni e poster a convegni scientifici nazionali ed internazionali.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- Dellve L., Samuelsson L., Tallborn A., Fasth A., Hallberg L.M.R. (2005). Stress and well-being among parents of children with rare diseases: a prospective intervention study. *Issues and innovations in nursing practice*, 392-402.
- Elliott M.L., & Maher E.R. (1994). Beckwith–Wiedemann syndrome. *J. Med. Genet.* 31:560–564.

- Gortmaker, S. L., Walker, D. K., Weitzman, M., & Sobol, A. M. (1990). Chronic conditions, socioeconomic risks, and behavioral problems in children and adolescents. *Pediatrics*, 85, 267-276.
- Kent L., Bowdin S., Kirby G.A., Cooper W.N, & Maher E.R. (2008). Beckwith Weidemann Syndrome: A Behavioral Phenotype–Genotype Study. *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)*, 147:1295–1297.
- Isles A. & Humby T. (2006). Imprinted gene action and learning disability. *Journal of Intellectual Disability Research* 50(5), 318-325.
- Meijer S.A., Sinnema G., Bijstra J. O., Mellenbergh G.J., Wolters W.H.G. (2000). Social Functioning in Children with a Chronic Illness. *J. Child Psychol. Psychiat.* 41(3), 309-317.
- Nicholls R.D. (2000). The impact of genomic imprinting for neurobehavioral and developmental disorders. *The Journal of Clinical Investigation.* 105(4), 413–418.
- Turleau C, de Grouchy J, Chavin-Colin F, Martelli H, Voyer M, Charlas R. (1984). Trisomy 11p15 and Beckwith–Wiedemann syndrome. A report of two cases. *Hum Genet*, 67(2), 219–221.

VALIDAZIONE DELLA VERSIONE ITALIANA DI UNA VALUTAZIONE DELLE ATTIVITÀ DELLA VITA QUOTIDIANA PER LE PERSONE CON APRASSIA

DR. ALEC VESTRI

E-MAIL: ALEC.VESTRI@CN.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 2

Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Coordinatore:

Centro di Ricerca in Riabilitazione Neuromotoria e Cognitiva, Università degli Studi di Verona

Collaborazioni

Ospedale Universitario "G.B. Rossi" di Verona; Ospedale di Trento – Presidio Ospedaliero Villa Rosa, Località Vigalzano di Pergine Valsugana; Istituto di Medicina Fisica e Riabilitazione "Gervasutta" di Udine

Periodo di svolgimento

Dal febbraio 2011

Polo scientifico

Conegliano e Pieve di Soligo

DESCRIZIONE SINTETICA

Background

Nell'ambito della riabilitazione del paziente neurologico con aprassia in esiti di ictus gli strumenti a disposizione per i terapeuti occupazionali, sia per la valutazione e il trattamento, sono limitati. In letteratura esiste solo una valutazione standardizzata per i terapeuti occupazionali, specifica per valutare la disabilità a causa dell'aprassia, l'ADL Observation, ed è stata sviluppata in Olanda (Van Heugten et al 1999 e 2000). Anche per quanto riguarda il trattamento, ne esiste solo uno specifico per i terapeuti occupazionali, denominato "Strategy Training", sviluppato sempre in Olanda, che è stato dimostrato efficace tramite un RCT (Van Heugten et al 1998, Donkervoort et al 2001). Lo strategy training è una tecnica di trattamento che fornisce delle strategie pra-

tiche che i terapisti occupazionali possono utilizzare per migliorare l'autonomia nelle ADL. L'apprendimento da parte del paziente di strategie permette l'esecuzione delle ADL attraverso l'utilizzo di capacità cognitive residue per compensare il deficit dell'aprassia. È stato dimostrato che gli apprendimenti avvenuti durante il trattamento vengono generalizzati in altre attività non trattate (Geusgens et al 2006, 2007).

Successivamente sono state create le linee guida che includono sia l'ADL Observation sia lo Strategy Training. L'intenzione del Centro di Ricerca in Riabilitazione Neuromotoria e Cognitiva è di promuovere l'utilizzo di queste linee guida specifiche che i terapisti occupazionali possono utilizzare nella pratica clinica con pazienti adulti con disturbi aprassici a seguito di ictus nell'emisfero sinistro. Inoltre, coordiniamo uno studio multicentrico per la validazione della valutazione standardizzata delle disabilità causata dall'aprassia.

OBIETTIVO DELLO STUDIO

L'obiettivo dello studio è testare l'affidabilità (inter-rater reliability e test-retest reliability) della versione italiana di una valutazione standardizzata di terapia occupazionale che valuta la disabilità nelle attività della vita quotidiana per le persone con aprassia conseguente ad ictus all'emisfero sinistro.

DESCRIZIONE DELLO STUDIO

I pazienti con aprassia partecipanti allo studio scelgono 2 attività della vita quotidiana importanti e significative per loro, in cui non sono però autonomi (per es. vestirsi, lavarsi i denti, fare un caffè con la moka...). Verranno fatte alcune domande dal terapeuta occupazionale, per assicurarsi che le attività scelte siano realmente significative e venissero svolte in autonomia prima dell'ictus.

Queste domande sono le stesse per tutti i TO partecipanti allo studio, e sono:

1. L'attività di _____ (scrivere il nome dell'attività scelta), era un'attività che svolgeva prima dell'ictus?
2. Prima dell'ictus, svolgeva in autonomia l'attività di _____ (scrivere il nome dell'attività scelta)?
3. In questo momento, è importante per Lei svolgere nuovamente l'attività di _____ (scrivere il nome dell'attività scelta)?

Il terapeuta occupazionale sceglie l'ambiente più ecologico possibile per lo svolgimento dell'attività scelta dal paziente (per es. momento della giornata adeguato, stanza appropriata, oggetti personali del paziente...) e chiede al paziente di eseguire l'attività. Durante l'esecuzione dell'attività, il terapeuta occupazionale darà assistenza verbale e fisica al paziente, nel momento in cui presenterà delle difficoltà di esecuzione in alcune parti dell'attività, o nel

momento in cui non riesca ad eseguire l'attività. L'esecuzione delle 2 attività verrà videoregistrata da un altro terapeuta occupazionale.

Nel momento in cui verranno reclutati 10-15 pazienti, quando ci saranno quindi 20-30 videoregistrazioni, i 10 TO coinvolti nello studio si incontreranno all'ospedale G.B. Rossi dell'Università di Verona per guardare questi video e somministrare la valutazione standardizzata.

Inter-rater reliability: I 10 TO guarderanno tutti i video e daranno indipendentemente l'uno dall'altro il punteggio di valutazione.

Test-retest reliability: I 10 TO ridaranno i punteggi di valutazione indipendentemente l'uno dall'altro per ogni video dopo un mese di tempo. È stato scelto questo arco di tempo perché è molto improbabile che i TO, dopo un mese, si ricordino esattamente i punteggi che avevano dato nei video la prima volta.

Il nome e le informazioni personali del paziente nel video saranno mantenuti anonimi per i 9 terapisti che non hanno in carico il paziente. Questi 9 terapisti occupazionali sono a conoscenza solamente del fatto che il paziente presenta aprassia, e ha quindi difficoltà a svolgere le attività della vita quotidiana mostrate nel video.

RECLUTAMENTO DI SOGGETTI

Verranno reclutati per questo studio i pazienti con aprassia causata da un ictus all'emisfero sinistro. Saranno pazienti ricoverati e ambulatoriali delle unità riabilitative dei seguenti centri:

- Ospedale universitario G.B. Rossi di Verona (Vr);
- Associazione La Nostra Famiglia, IRCCS “Eugenio Medea”, polo di Pieve di Soligo (Tv);
- Ospedale di Trento, Presidio Ospedaliero Villa Rosa, località Vigalzano di Pergine Valsugana (Tn);
- Istituto di Medicina Fisica e Riabilitazione “Gervasutta”, Udine (Ud).

I medici e i terapisti occupazionali degli stabilimenti ospedalieri sopra menzionati faranno una selezione iniziale per stabilire l'ammissibilità dei pazienti a questo studio.

Criteri di inclusione:

- Maschi o femmine che hanno un'età compresa tra i 25 e i 95 anni;
- Ictus all'emisfero sinistro del cervello causato da ischemia cerebrale o emorragia cerebrale, dimostrata da TAC e/o risonanza magnetica;
- Presenza di aprassia valutata tramite la valutazione per l'aprassia ideativa ed ideomotora;

- Forte padronanza della lingua italiana.

Criteria di esclusione:

- Una serie di altre patologie preesistenti o presenti al momento dello studio: patologie psichiatriche, dipendenza da alcool o altre sostanze, demenza, trauma cranico;
- Ritardo mentale, disturbi della personalità e disturbi dell'apprendimento;
- Conoscenza non funzionale della lingua italiana;
- Rifiuto di firmare il modulo per il consenso allo studio.

Al momento della valutazione verranno raccolte le seguenti informazioni demografiche e cliniche relative ai pazienti: età, sesso, scolarità, regime di trattamento (paziente esterno o interno), tempo dall'ictus (giorni), localizzazione della lesione, e comorbidità.

VALUTAZIONI

Versione italiana della valutazione di terapia occupazionale della disabilità nei pazienti con aprassia conseguente ad ictus all'emisfero sinistro.

Le attività osservate sono valutate con 4 punteggi differenti. Un punteggio dell'indipendenza relativo alla performance occupazionale dell'attività nel suo complesso, e tre punteggi che rappresentano le tre fasi della performance occupazionale: orientamento, esecuzione, controllo. I punteggi vengono dati su scale di 4 livelli di punteggio, da 0 a 3, in cui il paziente riceve un punteggio di: 0 = indipendente, 1 = necessita di intervento verbale, 2 = necessita di intervento fisico, 3 = totalmente dipendente rispetto all'attività. L'analisi statistica verrà completata sui dati raccolti dai terapisti occupazionali che daranno i punteggi con queste scale di valutazione.

Inoltre, la valutazione include una sezione conclusiva in cui il terapeuta occupazionale scrive suggerimenti sugli interventi che ha utilizzato nelle tre fasi della performance occupazionale: l'uso di istruzioni verbali o fisiche, l'assistenza verbale o fisica, e/o il feedback verbale o fisico. Il terapeuta occupazionale scrive anche suggerimenti su strategie compensative, che ha valutato essere efficaci durante la valutazione, per es. strategie interne utilizzate dal paziente stesso oppure strategie esterne fornite dall'ambiente. Infine viene registrato in quale delle tre fasi della performance occupazionale si focalizzerà l'intervento (Heugten, van, et al. 1999, 2000).

Valutazione per l'aprassia ideomotoria.

L'aprassia ideomotoria verrà valutata chiedendo al paziente di riprodurre una vasta gamma di gesti intransitivi (vale a dire che non richiedono l'uso di og-

getti). Non vengono utilizzati gesti che richiedono l'uso di oggetti (gesti transitivi). I gesti intransitivi possono essere simbolici, che hanno un significato (per es. il gesto di ok) oppure non simbolici, che non hanno un significato (per es. mettere la mano sotto il mento). Se un gesto non viene riprodotto correttamente dopo la prima dimostrazione, si procede con una seconda dimostrazione; nel caso in cui neanche al secondo tentativo il paziente riesca a riprodurre il gesto, viene mostrato una terza volta. Il paziente se eseguirà correttamente il gesto la prima volta otterrà un punteggio di 3, se lo eseguirà correttamente la seconda 2, se la terza 1. Se nessuno dei tre gesti eseguiti da paziente è soddisfacente o non è per niente corretto, il punteggio sarà di 0 punti. Il test include 24 items, quindi il punteggio può variare da 0 a 72. Si può dire che il paziente ha un'aprassia ideomotoria per punteggi inferiori a un punteggio di 53 (DeRenzi 1980).

Valutazione dell'aprassia ideativa.

L'aprassia ideativa verrà valutata chiedendo al paziente di usare oggetti reali (martello, spazzolino da denti, forbici, pistola, gomma da cancellare, lucchetto con chiave, candela e una scatola di fiammiferi). Il paziente verrà sollecitato con parole e gesti di prendere in mano gli oggetti e di mostrare come vengono solitamente utilizzati. Il paziente è libero di utilizzare entrambe le mani; se ha una paresi grave all'arto superiore destro, gli viene chiesto di usare la mano sinistra. Se il gesto viene svolto subito correttamente viene assegnato un punteggio di 2; viene invece assegnato il punteggio di 1 se l'esecuzione è corretta ma c'è stata esitazione, se c'è stato un periodo di tempo in cui il paziente esegue movimenti o gesti sbagliati o inadeguati, oppure se la performance è concettualmente corretta, ma i movimenti effettivi sono in qualche modo non accurati o impacciati; viene assegnato un punteggio di 0 per ogni altro tipo di errore nell'esecuzione. Il punteggio può variare, quindi, da 0 a 14; si può dire che il paziente ha un'aprassia ideativa per punteggi inferiori a 14 (De Renzi et al. 1968).

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- De Renzi E, Motti F, Nichelli P. (1980) Imitating gestures: a quantitative approach to ideomotor apraxia. *Archives of Neurology*, 37, 6-10.
- De Renzi, E, Pieczuro A, Vignolo L.A. (1968) Ideational apraxia: a quantitative study. *Neuropsychologia* 6, 41-52
- De Renzi E. Apraxia (1989) In Boller F, Grafman J eds. *Handbook of neuropsychology*, Vol. 2. Elsevier Science Publisher.
- Donkervoort, M., Dekker, J., Stehmann-Saris, J.C. & Deelman, B.G.

- (2001). Efficacy of strategy training in left hemisphere stroke patients with apraxia: a randomised clinical trial. *Neuropsychological rehabilitation*, 11, 549-566.
- Geusgens, Heugten, van, C.M., Donkervoort, M., van den Ende, E., Jolles, J., & van den Heuvel (2006) Transfer of training effects in stroke patients with apraxia: An exploratory study *Neuropsychological Rehabilitation* Aprile 2006
 - Geusgens, Heugten, van, C.M., Cooijmans, Jolles, & van den Heuvel (2007) Transfer effects of a cognitive strategy training for stroke patients with apraxia. *Journal of clinical and experimental neuropsychology* 29 (8), 831–841
 - Heugten, van, C.M., Dekker, J., Deelman, B.G., Stehmann-Saris, J.C. & Kinébanian, A. (1999). Assessment of disabilities in stroke patients with apraxia: internal consistency and inter-observer reliability. *OTJR Journal of research*, 19, 55-75.
 - Heugten, van, C.M., Dekker, J., Deelman, B.G., Dijk, van, A.J., Stehmann-Saris, J.C. & Kinébanian, A. (2000). Measuring disabilities in stroke patients with apraxia: a validation study of an observational method. *Neuropsychological rehabilitation*, 10, 401-414.
 - Heugten, van, C.M., Dekker, J., Deelman, B.G., Dijk, van, A.J., Stehmann-Saris, J.C. & Kinébanian, A. (1998). Outcome of strategy training in stroke patients with apraxia: a phase II study. *Clinical Rehabilitation*, 12, 294-303.

LA VALUTAZIONE DELLO SVILUPPO DEL LINGUAGGIO IN UN CAMPIONE ITALIANO DI BAMBINI IN ETÀ PRESCOLARE ATTRAVERSO LA LANGUAGE DEVELOPMENT SURVEY

DR.SSA ALESSANDRA FRIGERIO

E-MAIL: ALESSANDRA.FRIGERIO@BP.LNF.IT

Linea di Ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

Ente Proponente

IRCCS "E. Medea"

Periodo di svolgimento

15.03.2011 – 30.11.2011

Polo scientifico

Bosisio Parini

DESCRIZIONE SINTETICA

Introduzione e obiettivi

Questo progetto di ricerca si inserisce all'interno di una collaborazione pluriennale tra il nostro Istituto, il professor Achenbach (University of "Vermont") e la professoressa Rescorla (Università "Bryn Mawr").

Il professor Achenbach ha sviluppato una serie di questionari e interviste che si sono rivelate utili per lo screening dei problemi comportamentali di bambini, adolescenti e adulti provenienti da diversi contesti culturali; tali strumenti sono tra i più diffusi e utilizzati nella pratica clinica e nel campo della ricerca. Per questa ragione, abbiamo tradotto e validato i questionari per l'età prescolare e scolare (es. Frigerio et al., 2004; Frigerio et al., 2006) ed è attualmente in corso la validazione dei questionari per l'età adulta. Il nostro Istituto è l'unico distributore in Italia autorizzato da Achenbach alla vendita dei prodotti ASEBA (Achenbach System of Empirically Based Assessment). All'interno del sistema ASEBA la Prof.ssa Rescorla ha sviluppato una scala, Language Development Survey (LDS), per la valutazione dello sviluppo del linguaggio in età prescolare, che costituisce l'oggetto del presente progetto

di ricerca. Il protocollo dello studio è stato definito insieme alla professoressa Rescorla e alla professoressa Longobardi dell'Università La Sapienza di Roma; quest'ultima si occuperà di raccogliere i dati su un campione di Roma.

La valutazione del linguaggio in bambini di età inferiore ai tre anni risulta spesso difficile in quanto i bambini di questa età possono essere frequentemente intimoriti dall'esaminatore estraneo e possono mostrare resistenza ad un contesto strutturato di valutazione. Per questi motivi, il ricorso ai resoconti forniti dai genitori sul linguaggio utilizzato quotidianamente dai loro figli appare fondamentale per valutarne il livello di sviluppo. Per massimizzare il valore di queste informazioni è utile disporre di strumenti che siano standardizzati e che possano dunque offrire ai ricercatori e ai clinici dati normativi di riferimento.

La scala "Language Development Survey" (LDS) di Achenbach & Rescorla (2000) è una scala che valuta l'ampiezza e la composizione del vocabolario di bambini di età compresa tra i 18 e i 35 mesi, compilata dal genitore. Si tratta di un rapido strumento di screening utilizzabile sia in psicologia clinica, sia in contesti medici (per esempio dai pediatri) allo scopo di ottenere un inquadramento generale sulle acquisizioni linguistiche dei bambini. In entrambi i casi, attraverso il ricorso a tale strumento di rapida somministrazione, è possibile ottenere un primo profilo delle competenze linguistiche del bambino, che può essere utilizzato per identificare le principali aree problematiche da indagare.

Lo scopo principale dello studio è quello di fornire un contributo alla standardizzazione italiana della scala LDS. Inoltre, lo studio si prefigge di indagare i seguenti obiettivi specifici:

- 1) Analizzare gli effetti delle variabili sociodemografiche (sesso, età e livello socioeconomico) sulla manifestazione dei problemi di linguaggio;
- 2) Valutare l'affidabilità (consistenza interna, affidabilità test-retest) dello strumento;
- 3) Valutare l'associazione tra eventuali difficoltà nello sviluppo del linguaggio e problemi emotivo-comportamentali;
- 4) Confrontare i dati raccolti in due diverse popolazioni Italiane (Nord e Centro Italia) con i dati americani.

METODI

Procedura

Il campione verrà reclutato attraverso gli asili nido comunali di tre comuni urbani: Erba, Lecco e Monza-Brianza e sarà composto da 300 bambini, di età

compresa tra i 18 e i 35 mesi, equamente distribuiti per sesso e 3 fasce d'età (13-23 mesi, 24-29 mesi, e 30-35 mesi). Considerando la possibilità che una parte dei soggetti non aderisca alla ricerca, per ovviare alla perdita di dati, si effettuerà un sovracampionamento, arrivando a circa 400-450 soggetti. Verranno inoltre adottati i seguenti criteri di esclusione:

1. presenza di disturbi fisici che possono compromettere lo sviluppo linguistico del bambino (per es. sordità),
2. bilinguismo e/o nazionalità straniera.

La procedura di campionamento prevede un iniziale contatto, telefonico o via fax, con i referenti comunali e i responsabili delle scuole dell'infanzia distribuite sul territorio delle provincie di Como, Lecco e Milano; verranno così raccolte le adesioni da parte delle strutture. Verrà pianificato un incontro informativo con gli educatori che rappresenteranno il primo canale di contatto con le famiglie per il reclutamento dei soggetti. In seguito si fisserà con la scuola un incontro per la presentazione del progetto ai genitori interessati (si veda paragrafo contatti con le scuole).

Lo studio prevede la somministrazione della scala a tutti i genitori partecipanti e la somministrazione della stessa scala (LDS) e di un altro questionario (CBCL 1 ½-5) a due sottogruppi di partecipanti in base alle seguenti modalità:

1) A tutti i genitori delle scuole selezionate verrà consegnata la "Scala sullo Sviluppo del Linguaggio" (LDS) da riconsegnare entro 3 giorni, unitamente alla lettera informativa e al modulo di consenso informato; se il genitore non riesce a compilare la scala entro tale data verrà chiesto di indicare la data di compilazione. Sulla scala vi sarà riportato un codice e non saranno richieste informazioni (es. nome cognome, indirizzo) che possono rendere riconoscibile il partecipante .

2) Ad una parte del campione (circa 60 bambini suddivisi in tre fasce di età: 13-23 mesi, 24-29 mesi, 30-35 mesi) verrà consegnato, al ritiro del primo questionario (LDS), un altro strumento (CBCL/1½-5) che permette di valutare vari problemi emotivo-comportamentali in bambini di età compresa tra 1½ e 5 anni, da compilare entro una settimana dalla compilazione del primo. Lo scopo della somministrazione di questa scala è quello di valutare l'associazione tra lo sviluppo linguistico e la presenza di problemi emotivo-comportamentali.

Anche in questo caso, sulla scala vi sarà riportato un codice (lo stesso di quello riportato sulla scala LDS) e sarà espressamente richiesto al genitore di non scrivere il nome del bambino sul questionario nello spazio previsto sulla scala. Questo sottogruppo di partecipanti verrà selezionato in base agli asili nido che contengono il numero più elevato di bambini (per ragioni legate alle

scarse risorse disponibili).

Ad un altro sottocampione (circa 60 bambini suddivisi in tre fasce di età: 13-23 mesi, 24-29 mesi, 30-35 mesi), con la stessa modalità, verrà consegnata la stessa scala (LDS) al fine di controllare l'affidabilità test-retest dello strumento. Anche in questo caso, sulla scala vi sarà riportato lo stesso codice di quello attribuito sulla prima scala. Anche questo sottogruppo di partecipanti verrà selezionato in base agli asili nido che contengono il numero più elevato di bambini.

Nel caso in cui non sia stato possibile compilare lo strumento entro il tempo indicato verrà chiesto ai genitori di indicare la data effettiva di compilazione del questionario.

I due passaggi sono schematizzati nella tabella sottostante:

	LDS	LDS retest	CBCL
Prima fase (tempo zero)	300 soggetti	-	-
Seconda fase (a distanza di una settimana)	-	20 soggetti per fascia di età (13-23/24-29/30-35 mesi)	20 soggetti per fascia di età (13-23/24-29/30-35 mesi)

La consegna e il ritiro delle buste sarà effettuata da una psicologa che si recherà direttamente negli asili nido negli orari concordati con i referenti. La fase di raccolta dei dati terminerà entro la fine di giugno, mentre le analisi dei dati verranno effettuate durante l'estate del corrente anno.

Contatti con le scuole

Per quanto riguarda i contatti con le scuole, verranno osservati i seguenti passaggi operativi:

- 1) contatto telefonico con i responsabili comunali degli asili nido delle tre province per presentare lo studio
- 2) presentazione agli educatori degli asili nido e ai genitori del progetto di ricerca e della metodologia con particolare riferimento alle misure intraprese per garantire la riservatezza dei dati raccolti, in base alle modalità concordate con i responsabili dei nido.
- 3) stesura di un documento scritto in cui si concorda la partecipazione dell'asilo alla ricerca attraverso i metodi e la procedura (descritti nel presente progetto) e i tempi concordati con gli asili
- 4) distribuzione e ritiro dei questionari. A ciascun bambino dell'asilo nido, che risponde ai criteri di inclusione dello studio, verrà attribuito un codice che verrà riportato sulla busta e sui questionari. L'elenco (nome e cognome) dei bambini con il codice da attribuire verrà conservato dagli educatori dell'asilo

nido e sarà accessibile al ricercatore solo il giorno della consegna delle buste, mentre verranno richiesti alla scuola solo i dati riguardanti il genere e l'età dei bambini in modo da poter operare un confronto, rispetto a queste due variabili, tra partecipanti e non partecipanti allo studio. L'identità dei bambini non partecipanti allo studio rimarrà quindi estranea ai ricercatori.

5) restituzione dei risultati generali dello studio ai genitori e agli educatori degli asili nido che prenderanno parte alla ricerca, attraverso un elaborato scritto.

Strumenti

- **Language Development Survey (LDS)** di Achenbach e Rescorla (2000). È una scala sullo sviluppo del linguaggio. Tale strumento dovrebbe essere compilato dai genitori di bambini al di sotto dei 3 anni o di bambini che hanno più di 3 anni nel caso in cui sussista un sospetto di ritardo nel linguaggio. Nella prima parte vengono richieste informazioni di tipo socio-demografico (età dei genitori, titolo di studio e professione), medico (durata della gravidanza, peso alla nascita), e relative al linguaggio (lingua principalmente utilizzata, preoccupazioni riguardanti lo sviluppo linguistico, parole usate abitualmente, combinazioni di parole o frasi pronunciate naturalmente).

Nella seconda parte è presente una lista di 310 parole, che rappresentano il primo vocabolario del bambino. Al genitore che compila il questionario è richiesto di cerchiare le parole che il bambino usa spontaneamente. È inoltre presente uno spazio per inserire parole aggiuntive usate dal bambino.

Questo strumento fornisce due misure dello sviluppo linguistico del bambino. La prima è la lunghezza media delle frasi, la seconda è il numero di parole che il bambino usa spontaneamente.

- **La Child Behavior Checklist for Ages 1½-5 (Achenbach e Rescorla, 2000)** è un questionario compilato dai genitori che permette di valutare vari problemi emotivo-comportamentali in bambini di età compresa tra 1½ e 5 anni. È composto da 99 item valutati su una scala a tre livelli (0 = non vero; 1 = in parte o qualche volta vero; 2 = molto vero o spesso vero). La CBCL/1½-5 fornisce punteggi relativi a sette scale empiriche, derivate attraverso un'analisi fattoriale: Reattività Emotiva,

Ansia/Depressione, Lamentele Somatiche, Ritiro, Problemi del Sonno, Problemi Attentivi, Comportamento Aggressivo. Lo strumento, oltre a fornire un punteggio per ogni scala empirica, fornisce anche due punteggi per le scale globali dell'Internalizzazione (comprendente le prime quattro scale empiriche) e dell'Esternalizzazione (costituita dalle ultime due scale empiriche) ed un punteggio per la scala Totale dei Problemi (corrispondente alla somma di tutti gli item). Lo strumento consente anche una valutazione del compor-

tamento infantile in base a cinque scale DSM-oriented, costruite attraverso il giudizio di un team di esperti provenienti da differenti Paesi (per un approfondimento cfr. Frigerio e Montiroso, 2002). Le scale DMS-oriented sono: Problemi Affettivi, Problemi d'Ansia, Problemi Pervasivi dello Sviluppo, Problemi di Iperattività/Deficit di Attenzione, Problemi di Oppositività/Provocazione. Tali scale risultano fortemente associate alle categorie diagnostiche del DSM-IV; sebbene non equivalgano precisamente ad una diagnosi clinica, tuttavia, si sono dimostrate utili come strumento di screening per bambini con problemi comportamentali (Achenbach e Rescorla, 2000). La versione italiana della CBCL 1 ½-5 è già stata oggetto di standardizzazione da parte di alcuni ricercatori del nostro Istituto (Frigerio et al., 2006).

RISULTATI ATTESI

Lo studio intende fornire un contributo significativo alla standardizzazione dello strumento in Italia per consentire, di conseguenza, il suo impiego in campo sia clinico sia di ricerca. I risultati saranno, inoltre, oggetto di una pubblicazione in collaborazione con la professoressa Longobardi dell'Università La Sapienza e la professoressa Rescorla, autrice della scala.

BIBLIOGRAFIA

- Achenbach, T. M., & Rescorla, L. A. (2000). *Manual for the ASEBA Preschool Forms & Profiles*. Burlington, VT: University of Vermont, Research Center for Children, Youth, & Families.
- Frigerio A, Cattaneo C, Cataldo MG, Schiatti A, Molteni M, Battaglia M. "Behavioral and Emotional Problems Among Italian Children Aged 4 to 18 years as Reported by Parents and Teachers". *European Journal of Psychological Assessment* 20 (2): 124-133, 2004.
- Frigerio A, Cozzi P, Pastore V, Molteni M, Borgatti R, Montiroso R. "La valutazione dei problemi emotivo comportamentali in un campione italiano di bambini in età prescolare attraverso la Child Behavior Checklist e il Caregiver – Teacher Report Form". *Infanzia e Adolescenza* 5 (1): 24-37, 2006.
- Frigerio A, Montiroso R. "La valutazione su base empirica dei problemi emotivo-comportamentali in età evolutiva". *Infanzia e Adolescenza* 1: 38-48, 2002