

# LINEE DI RICERCA



# LINEA DI RICERCA N. 1

## NEUROLOGIA

### RESPONSABILE:

#### RENATO BORGATTI

Per il curriculum vitae si rimanda a pag. 18



### COLLABORATORI

Rita Grasso

Specialista in Neuropsichiatria Infantile  
*Responsabile Servizio di "diagnosi e riabilitazione del soggetto affetto da patologia rara"*

Anna Cavallini

Specialista in Neuropsichiatria Infantile  
*Responsabile Servizio di "valutazione e cura del neonato e del lattante con problematiche neurologiche"*

Maria Lorella Missaglia

Specialista in Neuropsichiatria Infantile  
*Assistente*

Marco Pessina

Specialista in Neuropsichiatria Infantile  
*Assistente*

Romina Romaniello

Specialista in Neuropsichiatria Infantile  
*Assistente*

Giuseppina Giammari Aldè

Specialista in Neuropsichiatria Infantile  
*Consulente – Centro Regionale di Ipovisione dell'Età Evolutiva*

Chiara Gagliardi

Specialista in Neuropsichiatria Infantile  
*Consulente – Servizio di Neuropsicologia dell'Età Evolutiva*

Susan Marelli

Specialista in Genetica Medica  
*Ricercatore*

Veronica Pinelli

Specialista in Neuropsichiatria Infantile  
*Ricercatore*

Maria Colombo

Specialista in Neuropsichiatria Infantile  
*Ricercatore*

Onorina Schiano Moriello

Psicologo

*Aiuto*

Rosario Montiroso

Psicologo

*Responsabile "Centro Medea per lo studio neo-comportamentale del bambino piccolo – Programma NNNS Italia"*

Barbara Premoli

Psicologo

*Consulente*

Patrizia Cozzi

Psicologo

*Ricercatore*

Guenda Ghezzi Perego

Psicologo

*Ricercatore*

Claudio Premarini

Pedagogista

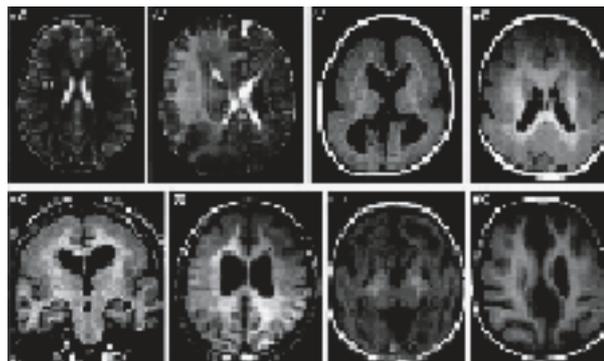
Massimo Guerreschi

Pedagogista

### INDIRIZZI STRATEGICI GENERALI

È possibile individuare sei ambiti principali di ricerca:

#### Studio delle malformazioni cerebrali



Le malformazioni cerebrali rappresentano l'ambito di ricerca di Neuropatologia caratterizzato da una più lunga tradizione. Da tempo per ogni paziente che afferisce al reparto viene predisposta una scheda di raccolta dati informatizzata per consentire una rapida consultazione a scopi di ricerca. La scheda comprende informazioni di tipo anamnestico, clinico e strumentale. Negli anni si sono sviluppati 3 filoni lungo i quali si sono aggregate le principali ricerche: I) Malformazioni dello Sviluppo Corticale; II) Malformazioni del Cervelletto e della Fossa Cranica Posteriore; III) Malformazioni delle Strutture Commessurali.

Per ognuno di questi quadri la ricerca genetica (cariotipo, ricerca delezioni sub-telomeriche, analisi di mutazione per geni noti) e la raccolta di pazienti, la loro precisa classificazione e lo studio in follow-up nel tempo rappresentano la base per i successivi studi di correlazione genotipo-fenotipo che consentono di valutare l'associazione fra le mutazioni identificate e la variabilità fenotipica.

### **Epilessia**

L'epilessia rappresenta insieme al ritardo mentale la patologia più frequentemente associata alle cerebropatie dell'età evolutiva indipendentemente dalla causa che le ha determinate. Le linee di ricerca che si sono sviluppate in questo ambito sono nate da esigenze cliniche di gestione della popolazione di pazienti che afferiscono ai centri dell'Istituto, per la maggior parte bambini e adolescenti affetti da epilessie sintomatiche e, solo più recentemente, si è posta particolare attenzione anche ad alcune forme idiopatiche (in particolare BFNC). Per quanto riguarda la ricerca si possono distinguere studi I) su epilessie sintomatiche associate a malformazioni dello sviluppo corticale su base genetica (geni *DCX*, *LIS1*, *FLN1*, *FCMD* e *RELN*); II) epilessie idiopatiche parziali (geni *CHRNA4* e *CHRNA2*; *LG1*); III) epilessie idiopatiche generalizzate tipo GEFS+ (geni *SCN1A*, *SCN1B*, *SCN2A*, *GABRG2*); IV) epilessie idiopatiche con crisi sia generalizzate che parziali tipo BFNC e BFIC (geni *KCNQ2*, *KCNQ3*); V) epilessie associate ad altre manifestazioni parossistiche (emicranie, atassie periodiche) riconducibili a mutazioni di geni canale (geni *CACNA1A* e *ATP1A2*); VI) epilessie tipo sindrome di West X-linked associate a ritardo mentale e fenotipi complessi (geni *STK9* e *ARX*) tutte finalizzate a valutare la correlazione fra le mutazioni identificate ed il fenotipo epilettico.

### **Malattie rare con ritardo mentale**

La presa in carico sia a fini diagnostici che, ancor

di più, a fini riabilitativi, del paziente con ritardo mentale appartiene alla storia e alla tradizione dell'Associazione La Nostra Famiglia da cui l'IRCCS si è gemmato. Per quanto attiene all'Area di Neuropatologia la ricerca si è essenzialmente orientata allo studio delle cause e dei diversi quadri sindromici che accompagnano il ritardo mentale. Si possono così distinguere: 1) studi centrati sulla messa a punto di protocolli diagnostico-valutativi del Ritardo Mentale associato a patologie genetiche note (progetti di ricerca riguardano le Sindromi di Williams, Down, Angelman, Prader-Willy, Inv-dup15, Cornelia De Lange, Wolf). 2) Studi relativi a soggetti in cui il Ritardo Mentale è associato ad un quadro plurimalformativo complesso non ascrivibile ad alcun quadro sindromico noto attraverso l'impiego della tecnica CGH-array che consente l'analisi del genoma totale ad alta risoluzione fornendo informazioni direttamente rapportabili alle mappe genetiche e fisiche del genoma umano. 3) Studi di soggetti in cui il ritardo mentale non si associa ad alcun altro segno distintivo (RM Non Sindromico Idiopatico) e presenta un andamento familiare compatibile con una trasmissione X-linked (partecipazione al network nazionale "X-linked MR" coordinato dalla Professoressa Reineri di Siena).

### **Deficit neuropsicologici**

La neuropsicologia dell'età evolutiva è una branca delle neuroscienze che ha come scopo lo studio delle funzioni cerebrali superiori e la loro correlazione con le strutture cerebrali in una fase in cui i processi di plasticità e di progressiva organizzazione delle funzioni comportano rimodellamenti complessi. In particolare la ricerca nell'ambito dei deficit neuropsicologici si è concentrata sullo studio di alcune funzioni - integrazione percettivo/spaziale; organizzazione prassica e prassico-costruttiva; attenzione; memoria implicita e memoria procedurale; emozioni espresse dai volti; funzioni esecutive - in quadri sindromici/malattie rare e in lesioni cerebrali congenite e/o malformative.

### **Disturbi neuro-oftalmologici**

La neuro-oftalmologia, sorta inizialmente come branca di supporto allo studio dei disturbi visivi di bambini con patologie cerebrali complesse, ha acquisito nel corso degli anni un notevole sviluppo muovendosi ora come realtà autonoma anche nel campo della ricerca. Si possono individuare almeno tre principali ambiti di ricerca: I) le Degenerazioni Retiniche Eredo Familiari, un grup-

po eterogeneo di disordini genetici di frequente riscontro clinico che possono presentarsi come anomalie isolate in soggetti peraltro normali o, più raramente, associarsi ad altre anomalie sistemiche nell'ambito di quadri sindromici a prevalente carattere malformativo. II) I Disturbi Visivi di Origine Centrale, ambito all'interno del quale viene affrontata la complessa problematica della disfunzione visiva conseguente a lesioni cerebrali. Il medesimo evento che provoca il disturbo visivo può anche interessare il nervo ottico o altre aree cerebrali per cui la maggior parte dei soggetti sono portatori di multihandicap, rappresentati in genere da paralisi cerebrale infantile, ritardo mentale, epilessia. III) Infine un terzo ambito di ricerca è rappresentato dallo studio dei Disturbi dei Movimenti Oculari, un capitolo di estrema importanza in un approccio globale al paziente di età pediatrica. Infatti le anomalie della motilità oculare e della visione binoculare hanno un'alta incidenza nella popolazione generale (4-8%), percentuale che sale fino al 50% se ci si riferisce solo a soggetti portatori di handicap.

### Studio dello sviluppo emozionale nei primi tre anni di vita

La salute mentale del bambino da zero a tre anni può essere considerata sinonimo di un equilibrato sviluppo socio-emozionale. In quest'ambito l'attività clinica e di ricerca è rivolta a individuare segnali di disagio con l'obiettivo di prevenire e trattare precocemente eventuali difficoltà di sviluppo in soggetti a rischio evolutivo (ad esempio, nascita pretermine, ritardo psicomotorio, ecc.). La maggior parte dell'attività svolta ha come area di indagine specifica l'analisi della qualità della relazione madre-bambino e dello sviluppo affettivo. La metodologia di indagine è basata prevalentemente sull'osservazione del comportamento infantile nel corso della quale il bambino è posto in una condizione di stress relazionale compatibile con la sua età. Si tratta della procedura nota come paradigma Still-Face - messo a punto dal prof. Tronick della Harvard Medical School University of Boston - che oltre a prevedere due brevi periodi di interazioni viso-a-viso, implica anche un breve periodo nel corso del quale alla madre viene chiesto di mantenere un'espressione neutra, di non parlare e/o toccare il bambino. Tale condizione genera nel bambino una tipica reazione che permette di valutare la sua capacità di regolazione emozionale, nonché lo stile relazionale della madre nello scambio affettivo con il bambino.

## REPORT ATTIVITÀ SCIENTIFICA 2007-2008

### Ricerca Ministeriale Corrente 2007

- Screening ad alta risoluzione mediante CGH-array (comparative genomic Hybridization) in soggetti con quadro malformativo complesso.
- Studio della qualità delle cure, dei livelli di stimolazione e dei processi di regolazione precoce del bambino pretermine come fattori predittivi della qualità della relazione madre-bambino.
- Deficit visuocognitivi e disturbi della oculomozione in soggetti affetti da Paralisi Cerebrale Infantile (quadri di diparesi): frequenza, distribuzione, tipologia e correlazioni per l'inquadramento diagnostico ed il progetto riabilitativo.
- Sviluppo dei processi di attenzione e memoria in neonati sani e nati in condizioni di rischio evolutivo.
- Modelli di neurotossicità endogena ed esogena nel danno neurologico delle sfingolipidosi e possibili approcci terapeutici.
- Progetto sulle correlazioni fenotipo/genotipo nella Sindrome di Rett.

### Ricerca Ministeriale Corrente 2008

- Pragmatica della comunicazione e comportamento in soggetti con Sindrome di Williams.
- Studio della qualità delle cure, dei livelli di stimolazione e dei processi di regolazione precoce del bambino pretermine come fattori predittivi della qualità della relazione madre-bambino.
- Sindromi malformative cerebrali complesse: studio clinico, citogenetica e molecolare di un'ampia casistica.
- Sviluppo dei processi di attenzione e memoria in neonati sani e nati in condizioni di rischio evolutivo.
- Progetto sulle correlazioni fenotipo/genotipo nella Sindrome di Rett.

### Ricerca finalizzata

RICERCA FINALIZZATA – Bando 2006  
 Capofila IRCCS Policlinico Mangiagalli e Regina Elena – Coordinatore Irene Cetin  
 U.O. IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini - Renato Borgatti  
 "ONTOGENESI DELLO SVILUPPO DEL CERVELLO E DELLE ARTERIE NELL'UOMO: STUDIO IN EPOCA PERICONCEZIONALE, FETALE E NEONATALE"  
 Inizio ricerca 01/12/07 – Fine ricerca 30/11/09

**Altri progetti**

Istituto Superiore di Sanità - Bando 2006 – Malattie rare

Responsabile Renato Borgatti – IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini

“CALLOSAL AGENESIS: A BRAIN MALFORMATION WITH POLYGENIC ORIGIN. IDENTIFICATION OF CANDIDATE GENES AND LOCI THROUGH A MULTIDISCIPLINARY APPROACH OF CLINICAL, CYTOGENETIC AND MOLECULAR STUDIES OF A LARGE SET OF PATIENT WITH CORPUS CALLOSUM ANOMALIES”

Inizio ricerca 25/05/07 – Fine ricerca 25/05/09

Istituto Superiore di Sanità - Bando 2006 – Malattie rare

Capofila IRCCS Policlinico Mangiagalli e Regina Elena: Angelo Selicorni

U.O. IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini - Renato Borgatti

“CLINICAL, FUNCTIONAL, BEHAVIOURAL AND GENETIC CHARACTERIZATION OF A LARGE GROUP OF ITALIAN CDLS PATIENTS AND SEARCH FOR MUTATIONS IN NEW CANDIDATE GENES OF THE COHESION-CONDESIN COMPLEX”

Inizio ricerca 15/05/07 – Fine ricerca 14/05/09

Ricerca autofinanziata da IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini - Anno 2007

Integrazione della Ricerca Corrente 2007 “L'INTERAZIONE TRA MADRE E BAMBINO CON LABIOPALATOSCHISI PRIMA E DOPO L'INTERVENTO CHIRURGICO OLTRE I 6 MESI DI ETÀ” ALL'INTERNO DELLA RICERCA CORRENTE “STUDIO DELLA QUALITÀ DELLE CURE, DEI LIVELLI DI STIMOLAZIONE E DEI PROCESSI DI REGOLAZIONE PRECOCE DEL BAMBINO PRETERMINE COME FATTORI PREDITTIVI DELLA QUALITÀ DELLA RELAZIONE MADRE-BAMBINO”

Responsabile: Renato Borgatti

Iniziata nel 2005 – durata 4 anni

## **VALUTAZIONE RICADUTE CLINICHE (ASPETTO “TRASLAZIONALE” DELLE RICERCHE CONDOTTE)**

La linea di ricerca in Neuropatologia ha da sempre sviluppato progetti di ricerca strettamente connessi all'attività clinica di diagnosi e cura svolta all'interno dell'IRCCS “E. Medea” per cui ogni progetto di ricerca ha sempre avuto ricadute applicative dirette sull'attività clinica.

In particolare nel campo delle Malformazioni Ce-

rebrali sono stati messi a punto protocolli specifici di presa in carico clinica che possono risultare di aiuto al medico sia nel momento della diagnosi, sia nel formulare una prognosi, sia nel programmare un intervento riabilitativo.

Nel campo dell'epilettologia la ricerca ha consentito un sempre più preciso inquadramento diagnostico correlando il dato elettroclinico con quello genetico. Sempre in questo ambito lo sviluppo di ricerche che correlano il disturbo clinico, il dato neurofisiologico e farmacologico con le funzioni cognitive e neuropsicologiche ci ha consentito di documentarne la stretta interdipendenza. E ciò, oltre a trovare diffusione sulla letteratura internazionale attraverso alcune pubblicazioni, ci ha portato a modificare le condotte cliniche sviluppando una particolare attenzione nei confronti delle difficoltà di apprendimento che si possono accompagnare all'insorgenza di epilessie anche idiopatiche.

Nel campo dello studio delle malattie rare è proseguito l'impegno del nostro Istituto nell'ambito della ricerca di un più preciso inquadramento genetico. In tal senso l'impiego mirato di tecniche diagnostiche come la CGH-array si è rivelato di enorme utilità consentendo di individuare microdelezioni o sbilanci cromosomici in numerosi casi risultati negativi alle precedenti metodiche di indagine. Questo progresso diagnostico ha parallelamente migliorato il lavoro di counselling genetico che abitualmente viene condotto con le famiglie e, nei casi in cui si è potuto documentare un difetto genetico di nuova insorgenza, è stato possibile escludere per la coppia un rischio riproduttivo.

Il contributo delle ricerche svolte in ambito neurooftalmologico è risultato molto importante per facilitare l'inserimento sociale e territoriale dei soggetti ipovedenti. In questi ultimi anni il Centro Regionale di Ipovisione dell'Età Evolutiva che strettamente dipende ed opera all'interno dell'IRCCS, si è sempre più adoperato per promuovere interventi di “rete” che consentano di supportare il piccolo paziente affetto da una minorazione visiva nel proprio territorio, nella scuola, nella famiglia. Così vanno intesi gli sforzi per individuare i migliori ausili ingrandenti, le più opportune modificazioni o facilitazioni ambientali. Un approccio integrato di tipo neurooftalmologico e neuropsicologico ha inoltre consentito la messa a punto di specifici percorsi per l'apprendimento formalizzato e per l'integrazione scolastica.

Infine, per quanto riguarda le ricerche rivolte ai primissimi anni di vita (0-36 mesi), le principali ricadute hanno riguardato i neonati provenienti dalle patologie neonatali, perché nati in condizioni di grave sofferenza o prima del termine. Nel corso di

questi anni è stato messo a punto un protocollo finalizzato all'accompagnamento, dalla TIN al territorio, dei neonati a maggior onere riabilitativo e dei loro genitori. Si è sperimentato come un approccio globale a tutti i problemi che caratterizzano queste situazioni, la loro precoce gestione, con l'impostazione di un precoce e specifico trattamento, finisce con il prevenire successive complicanze, nuove frequenti ospedalizzazioni e, in definitiva, migliora la qualità della vita dei bambini e dei loro familiari. È proprio alla qualità della vita che è rivolto lo studio multicentrico NEO-ACQUA (NEOnatal Adequate Care For QQuality Of Life) che sotto la direzione del nostro Istituto coinvolge 27 TIN sparse su tutto il territorio nazionale con il fine di individuare quali siano gli standard di presa in carico che maggiormente si correlano ad un out-come positivo nel corso dei primi 7 anni di vita.

so R, Ciccone R, Van Duyvenvoorde HA, Aalbers AM, Guerrini R, Fazzi E, Nillesen WM, Mccullough S, Kant SG, Marcelis CL, Pfundt R, De Leeuw N, Smeets D, Sistermans EA, Wit Jan M, Hamel Ben C, Brunner Han G, Kooy F, Zuffardi O, De Vries Bert BA. (2008); CLINICAL AND MOLECULAR CHARACTERISTICS FOR 1QTER SYNDROME: DELINEATING A CRITICAL REGION FOR CORPUS CALLOSUM AGENESIS/HYPOGENESIS; *Journal of Medical Genetics*, 45:346-354

## PUBBLICAZIONI PRODOTTE

Bonaglia MC, Marelli S, Gottardi G, Zucca C, Prampero T, Giorda R, Grasso R, Borgatti R, Zuffardi O. (2007); SUBTELOMERIC TRISOMY 21Q: A NEW BENIGN CHROMOSOMAL VARIANT; *European Journal of Medical Genetics*, 50(1):54-59

Gagliardi C, Martelli S, Burt MD, Borgatti R. (2007); EVOLUTION OF NEUROLOGIC FEATURES IN WILLIAMS SYNDROME; *Pediatric Neurology*, 36(5):301-306

Katzaki E, Pescucci C, Uliana V, Papa FT, Ariani F, Meloni I, Priolo M, Selicorni A, Milani D, Fischetto R, Celle ME, Grasso R, Dallapiccola B, Brancati F, Bordinon M, Tenconi R, Antonio F, Mari F, Renieri A, Longo I. (2007); CLINICAL AND MOLECULAR HETEROGENEITY IN ITALIAN PATIENTS AFFECTED BY COHEN SYNDROME; *Journal of Human Genetics*, 52(12):1011-1017

Tavano A, Grasso R, Gagliardi C, Triulzi F, Bresolin N, Fabbro F, Borgatti R. (2007); DISORDERS OF COGNITIVE AND AFFECTIVE DEVELOPMENT IN CEREBELLAR MALFORMATIONS; *Brain*, 130:2646-2660

Piccinelli P, Borgatti R, Aldini A, Bindelli D, Ferri M, Perna S, Pitillo G, Termine C, Zambonin F, Balottin U. (2008); ACADEMIC PERFORMANCE IN CHILDREN WITH ROLANDIC EPILEPSY; *Developmental Medicine and Child Neurology*, 50:353-356

Van Bon Bregje WM, Koolen DA, Borgatti R, Magee A, Garcia-Minaur S, Rooms L, Reardon W, Zollino M, Bonaglia MC, De Gregori M, Novara F, Gras-

## LINEA DI RICERCA N.2 RIABILITAZIONE NEUROMOTORIA E NEUROPSICOLOGIA FUNZIONALE

### RESPONSABILI:

**ANNA CARLA TURCONI**

**SANDRA STRAZZER**

Per il curriculum vitae di Anna Carla Turconi si rimanda a pag. 30 mentre per quello di Sandra Strazzer a pag. 26.



Alessandra Bardoni  
Aiuto Neurologo

Elena Beretta  
Fisiatra

Sara Galbiati  
Neurologo

Francesca Formica  
Neuropsichiatra

Federica Locatelli  
Neurologo

Paolo Avantaggiato  
Neuropsichiatra

### INDIRIZZI STRATEGICI GENERALI

È possibile individuare attualmente i seguenti ambiti principali di ricerca:

### COLLABORATORI

#### *Riabilitazione funzionale*

Paolo Fraschini  
Aiuto Fisiatra

Luigi Piccinini  
Aiuto Fisiatra

Maria Grazia D'Angelo  
Aiuto Neurologo

Sara Bonato  
Neurologo

Giovanna Cerina  
Fisiatra

Chiara Germinasi  
Fisiatra

Cristina Maghini  
Fisiatra

Simona Manzoni  
Fisiatra

Simona Pochintesta  
Fisiatra

#### *Unità Operativa NR3*

Geraldina Poggi  
Aiuto Neuropsichiatra

### Paralisi Cerebrali Infantili (PCI)

Si definisce PCI una turba persistente ma non immutabile della postura e del movimento dovuta ad alterazioni della funzione cerebrale per cause pre-peri-post natali, prima che se ne completi la crescita e lo sviluppo. L'attività di ricerca in questo campo ha portato alla realizzazione delle Linee Guida per la Riabilitazione nelle PCI sotto il patrocinio della S.I.M.F.E.R.-S.I.N.P.I.A. E' in atto una collaborazione continua con le iniziative formative e scientifiche del Gruppo Italiano Paralisi Cerebrali Infantili (GIPCI). È in atto uno studio multicentrico sull'efficacia della Constraint Induced Therapy (CIT) nel bambino emiplegico. Tale terapia prevede la penalizzazione mediante costrizione parziale dell'arto sano abbinata ad allenamento intensivo dell'arto plegico col proposito di migliorare l'utilizzo di tale arto sulla scorta delle evidenze sperimentali e cliniche che comprovano l'efficacia di tale approccio terapeutico.

**Malattie neuromuscolari:** comprende studi su patologie specifiche.

### *Distrofia Muscolare di Duchenne (DMD)*

È stato realizzato uno studio per descrivere il profilo cognitivo e neuropsicologico di 40 bambini italiani affetti da distrofia muscolare di Duchenne

valutando il livello intellettuale, le abilità linguistiche e di lettura, l'attenzione e la memoria. Nell'insieme i soggetti DMD non presentano disturbi specifici di linguaggio; in alcune valutazioni linguistiche i bambini distrofici hanno ottenuto punteggi al di sotto dei valori medi, sono emerse difficoltà di comprensione grammaticale e sintattica e lievi difficoltà nelle prove che esaminano le modalità visive, in particolare nell'attenzione visiva.

Le caratteristiche del cammino di bambini affetti da distrofia muscolare di Duchenne sono state valutate tramite GAIT Analysis in uno studio successivo. È stato evidenziato un tilt pelvico anteriore molto marcato ed un pattern iperestensorio del ginocchio; la velocità e la cadenza del passo erano simili ai controlli sani di pari età ma non la lunghezza del passo (ridotta) e l'ampiezza dello stesso (aumentata). La separazione dei ragazzi in relazione alla terapia steroidea ha consentito di evidenziare un aumento della potenza della caviglia nei soggetti distrofici trattati con steroide.

#### **Paraparesi spastica familiare**

Studio clinico funzionale e correlazione genotipica. Molti soggetti sono stati definiti da un punto di vista genetico. Nello studio funzionale è inclusa l'analisi optoelettronica del cammino che evidenzia pattern tipici di iperestensione di ginocchio in mid-terminal stance di durata ed entità maggiore rispetto al pattern dei diparesi da esiti di sofferenza neonatale. In alcuni dei soggetti è documentabile un aumento dell'area della base di appoggio a supporto della presenza di segni di coinvolgimento cerebellare.

#### **Distrofie Muscolari dei Cingoli**

Lo studio si inserisce in una collaborazione multicentrica italiana che ha portato alla raccolta di un'ampia casistica di pazienti e ad una dettagliata descrizione del rapporto fenotipo/genotipo.

Nella casistica è stato selezionato un gruppo di 41 pazienti sulla base della presenza di un fenotipo clinico cingolare, di un'anamnesi positiva per iperCPKemia sintomatica o di un quadro distrofico all'analisi morfologica della biopsia muscolare, in presenza di una normale espressione della distrofina. I pazienti sono stati quindi suddivisi in base al deficit proteico all'analisi di WB o, se già disponibile, all'esito dell'analisi genetica. Correlazioni fenotipo/genotipo sono state poste in essere.

#### **Impiego di nuove tecnologie ingegneristiche nella valutazione delle disabilità**

Questa linea, introdotta dopo l'installazione di laboratori dedicati (Gait analysis e Pletismografia optoelettronica), ha permesso la valutazione di vaste

popolazioni di soggetti affetti da patologie neuromuscolari e con esiti di lesioni a carico del sistema nervoso centrale potendo studiare in modo approfondito i patterns di cammino specifici e i patterns respiratori anche in relazione degli effetti della ventilazione non invasiva.



Il progetto di ricerca in ambito BioIngeneristico applicato alle patologie neuromuscolari si propone di valutare due settori complessi: da un lato la misurazione dei volumi polmonari nelle diverse fasi della distrofia di Duchenne (DMD) tramite la pletismografia optoelettronica, e dall'altro la valutazione del metabolismo dell'emoglobina cerebrale nel corso dello svolgimento di specifici test neurocognitivi nella distrofia miotonia di Steinert, tramite la NIRS. La prima parte dello studio si è sostanzialmente centrata sulla Pletismografia Optoelettronica applicata a pazienti affetti da distrofia muscolare di Duchenne e da altre distrofie muscolari.



È stato messo a punto un protocollo che includeva la valutazione di: respirazione spontanea a riposo, manovre di capacità vitale lenta, respirazione profonda, tosse, diverse posture (seduto, supino).

L'analisi dei dati ottenuti sulla popolazione di soggetti affetti da distrofia Muscolare di Duchenne durante respirazione spontanea evidenzia una significativa riduzione del contributo percentuale del compartimento addominale al volume corrente, indice di una ridotta attività del diaframma.

Sono stati inoltre acquisiti tramite Pletismografia Optoelettronica i dati di capacità respiratoria di 42 soggetti affetti da distrofie diverse da quella di Duchenne, quali distrofia di Becker, distrofie dei cingoli, distrofia facio-scapolo-omerale e amiotrofie spinali.

I lavori scientifici sono in corso di Pubblicazione.

Le **Gravi Cerebrolesioni Acquisite** (GCLA) rappresentano sempre più un problema ad alta rilevanza medica e sociale anche in età evolutiva. Per GCLA si intendono, secondo le linee guida italiane,

le patologie acquisite (traumatiche, anossiche, infettive...) che determinano nel soggetto un coma grave in fase acuta (GCS <8). Accanto alle GCLA un'altra patologia acquisita del Sistema Nervoso Centrale, frequente in età pediatrica, è rappresentata dai tumori cerebrali.

Gli ambiti di ricerca per le GCLA sono diversi e hanno riguardato uno Studio Nazionale multicentrico prospettico sulle caratteristiche cliniche delle gravi cerebrolesioni acquisite e riabilitazione nel bambino 0-14 anni, promosso dal nostro Istituto, iniziato a maggio 2004 e terminato ad agosto 2006, che ha visto la partecipazione di diversi Centri Italiani (STUDIO GISCAR ETÀ EVOLUTIVA). Attualmente stiamo partecipando allo studio multicentrico sempre legato al gruppo GISCAR (Gruppo Italiano Studio Cerebrolesioni Acquisite e Riabilitazione) sull'"Outcome delle persone con spasticità da grave cerebrolesione acquisita trattate con pompe impiantabili per l'infusione di baclofene intratecale". Tale studio multicentrico permetterà di raccogliere una casistica numerosa, necessaria per valutare la sicurezza del dispositivo di infusione del baclofene intratecale a medio e lungo termine e la percentuale di pazienti incorsi in effetti collaterali legati all'assunzione di baclofene intratecale, nonché l'outcome clinico e funzionale a medio e lungo termine dei pazienti affetti da spasticità conseguente a grave cerebrolesione acquisita trattata.

La sopravvivenza anche di casi gravi di GCLA rende necessario un approccio multidisciplinare specializzato e complesso sia nella fase acuta, con interventi tempestivi e appropriati, che nella fase post-acuta, dove assumono particolare rilevanza gli interventi riabilitativi. In età pediatrica l'evento lesivo interviene su strutture nervose e funzioni in fase di maturazione, e questo può determinare una regressione, un arresto o una distorsione dei processi di sviluppo motorio, sensoriale, cognitivo ed affettivo comportamentale, rendendo spesso più complesso e prolungato l'iter riabilitativo. Non va dimenticato che trattandosi di soggetti in età scolare vengono spesso anche pregiudicati gli apprendimenti formalizzati. Ne deriva la necessità di una valutazione clinica e di un progetto riabilitativo ad hoc che richiede lo studio di casistiche rilevanti per numerosità dei pazienti.

È stata pubblicata nel 2008 la metodologia di tipo cognitivo comportamentale, utilizzata nel nostro Istituto, nella riabilitazione precoce dal risveglio dallo stato vegetativo, frutto del lavoro di molti anni di studio. Dopo tale risultato stiamo valutando le modifiche elettrofisiologiche e di neuroimaging nel risveglio dal coma.

Sono stati inoltre condotti due studi riguardanti la

riorganizzazione cerebrale in pazienti con esiti di trauma cranico: "Analisi funzionale ed elettrofisiologica dei meccanismi di plasticità neuronale alla base del recupero clinico a distanza" e lo "Studio di risonanza magnetica funzionale delle funzioni attentive in pazienti con danno assonale diffuso dopo trauma cranico." Gli studi in oggetto si prefiggevano di comprendere i meccanismi di riorganizzazione cerebrale in pazienti che dopo un trauma cranico severo recuperano la capacità di mantenere l'attenzione, facoltà neuropsicologica sempre compromessa nelle GCLA. I risultati evidenziano come l'attivazione cerebrale nei pazienti che hanno eseguito un trattamento riabilitativo migliori in modo significativo rispetto ai non trattati e come anche l'attivazione a livello cerebrale si modifichi con attivazione di aree cerebrali diverse, evidenziando una plasticità neuronale maggiore favorita dal trattamento riabilitativo.

La valutazione dell'effetto della riabilitazione sull'outcome del paziente postraumatico è un altro campo di primario interesse per la linea di ricerca. È in corso di valutazione uno studio sul beneficio del trattamento neuropsicologico sulle funzioni cognitive e la valutazione della plasticità neuronale tramite tecniche neurofunzionali (NIRS).

L'altro principale ambito di ricerca è sui pazienti affetti da tumore cerebrale, tale patologia ha subito un notevole incremento in questi ultimi anni occupandosi prevalentemente della valutazione e riabilitazione: fino ad oggi sono stati seguiti nel nostro Istituto più di 300 pazienti e la casistica si sta costantemente ampliando. I bambini vengono inviati dai Reparti di Oncologia Pediatrica e dalle Neurochirurgie di diversi Istituti italiani. Negli anni sono state condotte diverse ricerche finalizzate e correnti per valutare l'effetto dei trattamenti medici (chirurgici, chemio-radioterapici) sulle prestazioni neurologiche e neuropsicologiche e per valutare l'eventuale indicazione all'avvio di trattamenti riabilitativi finalizzati al miglioramento delle competenze deficitarie. In particolare, è in corso uno studio su pazienti affetti da esiti di ependimoma. I soggetti studiati presentano generalmente problemi in ambito visuospatiale, attentivo, mnemonico ed esecutivo. Tali problematiche sono, in generale, più accentuate nei pazienti con ependimomi a sede sovratentoriale; in questi pazienti i disturbi neuropsicologici sono generalmente correlati alla sede della lesione. L'entità della compromissione rilevata non risulta così estesa come nei pazienti che hanno ricevuto la radioterapia cranio-spinale per altri tipi di tumori (ad esempio medulloblastoma).

## REPORT ATTIVITÀ SCIENTIFICA 2007-2008

### Ricerca Ministeriale Corrente 2007

- La penalizzazione terapeutica dell'arto conservato (Constraint induced therapy).
- Disfagia e problemi correlati in bambini con patologia neurologica: delineazione di protocolli di valutazione e trattamento.
- Impiego di nuove tecnologie bioingegneristiche nella valutazione delle patologie neuromuscolari.
- Rischio di compromissione cognitiva in pazienti trapiantati nell'età evolutiva: ruolo della terapia immunosoppressiva nella genesi del danno cerebrale.

### Ricerca Ministeriale Corrente 2008

- Valutazione mediante fMR di pazienti emiplegici pre e post trattamento con constraint therapy.
- Disfagia e problemi correlati in bambini con patologia neurologica: delineazione di protocolli di valutazione e trattamento.
- Impiego di nuove tecnologie bioingegneristiche nella valutazione delle patologie neuromuscolari. Valutazione cinematica mediante 3D-gait analysis di pazienti affetti da distonia primaria secondaria pre e post-trattamento con Deep Brain stimulation.
- Valutazione di elementi prognostici nel risveglio dal coma con tecniche combinate di fRMN, studio polisonnografico e Tecnica NIRS (Near Infra-red Reflectance Spectroscopy).
- Integrazione sensori-motoria nella DCD. Studio multidisciplinare.

### Ricerca finalizzata Ex Art. 56

Bando anno 2005 - Medicina Riabilitativa  
Maria Grazia D'Angelo – IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini

“L'UTILIZZO DI TECNOLOGIE INNOVATIVE (TECNICA DELLA PLETISMOGRAFIA OPTO-ELETTRONICA) NELLA VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI DELLA VENTILAZIONE NON INVASIVA CON MODALITÀ VOLUMETRICA E PRESSOMETRICA SULLA MECCANICA RESPIRATORIA IN PAZIENTI AFFETTI DA DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE”  
Inizio ricerca 02/07/07- Fine ricerca 01/07/09

Bando anno 2005 - Medicina Riabilitativa  
Sandra Strazzer - IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini

“IL RUOLO DELLA RIABILITAZIONE NEUROPSICOLOGICA PER IL RECUPERO DELLE FUNZIONI COGNITIVE NEL PAZIENTE POST-TRAUMATICO IN ETÀ PEDIATRICA: VALUTAZIONE CLINICA E

CON TECNICHE NEUROFUNZIONALI (NIRS)”  
Inizio ricerca 02/07/07- Fine ricerca 01/07/09

### Altri progetti

Progetto finanziato dalla Fondazione Cariplo  
Responsabile: Anna Carla Turconi – IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini  
“HEALTH INNOVATION NETWORK TECHNOLOGY @ LECCO” - HINT@LECCO  
Inizio ricerca 21/05/04 – Fine ricerca 31/12/07

Progetto Telethon Bando 2004  
Responsabile: Anna Carla Turconi - IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini  
“LANGUAGE AND READING DISORDERS IN DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY: NEUROPSYCHOLOGICAL EVALUATION”  
Inizio ricerca 21/04/05 – Fine ricerca 20/04/07

AIRC Associazione Italiana Ricerca Cancro – Regional Grant Proposal 2005  
Capofila: Istituto Nazionale dei Tumori - M. Massimino  
U.O. IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini - Geraldina Poggi  
“COMPREHENSIVE DIAGNOSIS AND TREATMENT FOR INTRACRANIAL PEDIATRIC EPENDYMOMA”  
Inizio ricerca 22/02/05 – Fine ricerca 21/02/08

Fondazione Cassa di Risparmio di Puglia  
“LO STUDIO DEL CAMMINO NEI DISORDINI DEL MOVIMENTO IN ETÀ EVOLUTIVA”  
Responsabile: Antonio Trabacca - IRCCS “E. Medea” di Ostuni  
Inizio ricerca 28/06/07 – Fine ricerca 28/06/08

Grant proposal 2003 - Fondazione Città della Speranza  
Responsabile: Elisabetta Viscardi - Division of Haematology-Oncology - Department of Paediatrics, University Hospital of Padua  
U.O. IRCCS “E. Medea” di Conegliano - Andrea Martinuzzi  
“PILOT STUDY ON NEUROCOGNITIVE REHABILITATION IN LONG TERM SURVIVORS OF CHILDHOOD BRAIN TUMORS”  
Inizio ricerca 01/10/04 – Fine ricerca 30/09/07

### VALUTAZIONE RICADUTE CLINICHE (ASPETTO “TRASLAZIONALE” DELLE RICERCHE CONDOTTE)

La linea di ricerca in Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale ha sviluppato da

sempre progetti di ricerca strettamente connessi all'attività di diagnosi e cura svolta all'interno dell'IRCCS "E. Medea" per cui ogni progetto di ricerca ha sempre avuto ricadute applicative dirette sull'attività clinica.

In particolare nel campo delle PCI e delle Malattie Neuromuscolari sono state messe a punto le linee guida riabilitative in collaborazione con le Società Scientifiche Italiane di Riabilitazione Funzionale e Neuropsichiatria Infantile.

Esistono inoltre dei protocolli specifici di presa in carico clinica di queste patologie che sono strumenti di lavoro quotidiano e che sono derivate da tutte le attività di ricerca sul campo.

Tali protocolli sono validati e certificati UNI EN ISO 9001/2000.

In particolare, in riferimento ai progetti in atto, si specifica che nel campo PCI, il trial in corso consentirà di definire dei protocolli clinici-guida per la CTI che attualmente non sono definiti dalla letteratura internazionale.

Sono inoltre stati messi a punto programmi specifici di trattamento relativamente all'addestramento alle attività manuali-prassico-manipolative che costituiscono dei protocolli guida operativi per la riabilitazione.

Nel campo delle malattie neuromuscolari prosegue l'impegno del nostro Istituto nell'ambito di ricerca del coinvolgimento cognitivo in questa classe di disturbi.

Il contributo conoscitivo in questo settore è stato molto importante in quanto in alcune categorie di pazienti le turbe cognitive venivano sottovalutate o addirittura misconosciute.

Grazie agli studi e alle conoscenze in questo campo molti disturbi di apprendimento, soprattutto in età scolare, hanno potuto essere contenuti, supportati e corretti.

Tutti gli studi complessi di correlazione genotipo-fenotipo hanno permesso un approccio clinico più mirato al paziente.

Ciò si è tradotto in un miglioramento e affinamento delle procedure diagnostiche con riconoscimento precoce di tipologie di disturbi e inquadramento prognostico preciso.

Si sono inoltre migliorati gli approcci in termini di presa in carico terapeutica e riabilitativa di malattie a coinvolgimento tipicamente multisistemico. Per quanto riguarda le GCLA sono in corso di definizione protocolli riabilitativi sull'età evolutiva per migliorare e seguire nel tempo l'outcome dei piccoli pazienti; tale definizione è di primaria importanza, data la complessità di valutazione e gestione delle problematiche cliniche in età

evolutiva. Al momento attuale mancano dati di letteratura che supportano in modo adeguato l'attività clinica, e la mancanza di casistiche sufficientemente ampie rende difficoltosa la stesura di protocolli di intervento scientificamente validi. Lo studio nazionale appena concluso ha potuto raccogliere una delle più grandi casistiche di questo tipo di patologia in età evolutiva, dando informazioni sulle cause determinanti le GCLA nel bambino che differiscono da quelle più note dell'adulto. Inoltre ha potuto evidenziare le principali problematiche mediche e riabilitative da affrontare, ha uniformato il percorso valutativo funzionale tra i diversi Centri italiani e in prospettiva permetterà la definizione di percorsi riabilitativi più idonei. Tale attività è continuata all'interno del nostro Istituto e ha permesso di aumentare la numerosità dei pazienti e di dare informazioni importanti sulla prognosi rispetto alle varie eziologie di GCLA in età infantile.

È stata pubblicata nel 2008 la metodologia di tipo cognitivo comportamentale utilizzata nel nostro Istituto nella riabilitazione precoce dal risveglio dallo stato vegetativo, frutto del lavoro di molti anni di studio e di lavoro sul campo. La ricaduta di tale ricerca è notevole perché non ci sono ad oggi altre metodologie che si siano rivelate scientificamente efficaci nel trattamento di questi pazienti. Altrettanto importanti saranno le ricadute della valutazione degli effetti dei trattamenti riabilitativi sugli aspetti cognitivi dei pazienti posttraumatici, conferendo importanza ai percorsi riabilitativi intrapresi potendo fare da guida agli operatori del settore (pubblicata una ricerca sull'effetto della riabilitazione in ambito attentivo sulle funzioni cognitive e sulla ricaduta ecologica nelle attività di vita quotidiana di un numeroso gruppo di pazienti posttraumatici).

Anche sulla patologia tumorale la numerosità e l'esperienza acquisita hanno permesso lo sviluppo di competenze specifiche e portato alla collaborazione clinica e scientifica con i principali Centri italiani di riferimento per la cura dei tumori cerebrali che, sempre più, sono sensibilizzati agli eventuali effetti collaterali disfunzionali legati ai diversi protocolli terapeutici in uso. Inoltre dobbiamo ricordare come gli esiti di tumori cerebrali condizionano fortemente la qualità della vita del piccolo paziente e compromettono anche gli apprendimenti scolastici. Un intervento riabilitativo specifico o un adeguato supporto per l'attività didattica possono modificare in modo significativo l'outcome a distanza, migliorando di conseguenza la qualità della vita del paziente.

**PUBBLICAZIONI PRODOTTE**

Liscio M, Adduci A, Galbiati S, Poggi G, Sacchi D, Strazzer S, Castelli E, Flannery J. (2008); COGNITIVE-BEHAVIOURAL STIMULATION PROTOCOL FOR SEVERELY BRAIN-DAMAGED PATIENTS IN THE POST-ACUTE STAGE IN DEVELOPMENTAL AGE. *Disabil Rehabil.* 30(4):275-85.

Massimino M, Spreafico F, Biassoni V, Simonetti F, Riva D, Trecate G, Giombini, S, Poggi G, Pecori E, Pignoli E, Casanova M, Ferrari A, Meazza C, Luksch R, Terenziani M, Cefalo G, Podda M, Polastri D, Clerici CA, Fossati-Bellani F, Gandola L.; DIFFUSE PONTINE GLIOMAS IN CHILDREN: CHANGING STRATEGIES, CHANGING RESULTS? A MONO-INSTITUTIONAL 20-YEAR EXPERIENCE. *J Neurooncol.* 2008 May;87(3):355-61

Spreafico F, Gandola L, Marchianò A, Simonetti F, Poggi G, Adduci A, Clerici CA, Luksch R, Biassoni V, Meazza C, Catania S, Terenziani M, Musumeci R, Fossati-Bellani F, Massimino M.; BRAIN MAGNETIC RESONANCE IMAGING AFTER HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY AND RADIOTHERAPY FOR CHILDHOOD BRAIN TUMORS. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008 Mar 15;70(4):1011-9

Guglieri M., Magri F, D'Angelo MG, Prella A, Morandi L, Rodolico C, Cagliani R, Mora M, Fortunato F, Bordoni A, Del Bo R, Ghezzi S, Pagliarani S, Lucchiari S, Salani S, Zecca C, Lamperti C, Ronchi D, Aguenouz M, Ciscato P, Di Blasi C, Ruggieri A, Moroni I, Turconi AC, Toscano A, Moggio M, Bresolin N, Comi GP. (2008); CLINICAL, MOLECULAR, AND PROTEIN CORRELATIONS IN A LARGE SAMPLE OF GENETICALLY DIAGNOSED ITALIAN LIMB GIRDLE MUSCULAR DYSTROPHY PATIENTS; *Human Mutation*, 29 (2) 258-266

Cimolin V, Piccinini L, D'Angelo MG, Turconi AC, Berti M, Crivellini M, Albertini G, Galli M. (2007); ARE PATIENTS WITH HEREDITARY SPASTIC PARAPLEGIA DIFFERENT FROM PATIENTS WITH SPASTIC DIPLEGIA DURING WALKING? GAIT EVALUATION USING 3D GAIT ANALYSIS; *Functional Neurology*, 22(1):23-28

Torrente Y, Belicchi M, Marchesi C, D'Antona G, Cogiamanian F, Pisati F, Gavina M, Giordano R, Tonlorenzi R, Fagiolari G, Lamperti C, Porretti L, Lopa R, Sampaolesi M, Vicentini L, Grimoldi N, Tiberio F, Songa V, Baratta P, Prella A, Forzenigo L, Guglieri M, Pansarasa O, Rinaldi C, Mouly V, Butler-Browne GS, Comi GP, Biondinetti P, Moggio

M, Gaini SM, Stocchetti N, Priori A, D'Angelo MG, Turconi AC, Bottinelli R, Cossu G, Rebullà P, Bresolin N. (2007); AUTOLOGOUS TRANSPLANTATION OF MUSCLE-DERIVED CD133+ STEM CELLS IN DUCHENNE MUSCLE PATIENTS; *Cell Transplantation*, 16(6):563-577

## LINEA DI RICERCA N. 3 PSICOPATOLOGIA DELLO SVILUPPO, DEL LINGUAGGIO E DELL'APPRENDIMENTO

### RESPONSABILE:

#### MASSIMO MOLteni

Per il curriculum vitae si rimanda a pag. 22



### COLLABORATORI

#### *Polo di Bosisio Parini*

Marco Battaglia  
Psichiatra  
Cecilia Marino  
Psichiatra  
Maria Nobile  
Psichiatra  
Andrea Facchetti  
Psicologo  
Alessandra Frigerio  
Psicologa  
Sara Forti  
Psicologa  
Maria Luisa Lorusso  
Psicologa  
Eleonora Maino  
Psicologa  
Monica Bellina  
Psicologa borsista  
Elisa Ceppi  
Psicologa borsista  
Alessandra Citterio  
Psicologa borsista  
Milena Ruffino  
Psicologa dottoranda  
Michele Burigo  
Psicologo borsista

#### *Poli di San Vito al Tagliamento e Conegliano*

Franco Fabbro  
Neuropsichiatra  
Alberto Angarano  
Psichiatra  
Loredana Urgesi  
Psicologo  
Ombretta Carlet  
Neuropsichiatra infantile  
Susanna Villa  
Psicologa  
Paolo Brambilla  
Psichiatra

#### *Polo di Ostuni*

Angelo Massagli  
Neuropsichiatra Infantile  
Rita Galluzzi  
Neuropsichiatra Infantile  
Vililde Ancona  
Neuropsichiatra Infantile  
Maria Grazia Pasca  
Neuropsichiatra Infantile  
Luigi Russo  
Psicologo  
Mario Liso  
Psicologo  
Alessia Zaccaria  
Psicologa  
Daniela Zizzi  
Psicologa  
Anna Lerna  
Psicologa

### INDIRIZZI STRATEGICI GENERALI

Obiettivo principale dell'attività della linea è quello di creare nuove conoscenze e nuove competenze nell'ambito della "developmental psychopathology", branca delle neuroscienze che si fonda nello studio psicopatologico su un modello eziologico multifattoriale, che considera la complessità dello sviluppo a partire dalle determinanti individuali, relazionali e sociali che ne determinano il corso,

attraverso l'individuazione precoce dei fattori di rischio, dei fattori protettivi e dei periodi critici in cui questi fattori vanno ad agire e che possono poi influenzare lo sviluppo delle competenze emotive, relazionali e cognitive dall'infanzia, attraverso l'adolescenza fino all'età adulta.

La linea si è strutturata attraverso diversi percorsi di sviluppo tra loro correlati.

**Primo percorso:** studio epidemiologico dei fenomeni psicopatologici dell'età evolutiva, accompagnato, come ricaduta traslazionale, dall'adattamento e validazione nel contesto italiano dei principali strumenti di valutazione adottati a livello internazionale.

Questo ha portato da una parte alla raccolta di dati epidemiologici (progetto PRISMA) oggetto di pubblicazioni internazionali e di comunicazioni ai principali congressi psichiatrici e di Neuropsichiatria infantile italiani, all'adattamento italiano e alla validazione delle scale

- ASEBA (Child Behavior CheckList) un gruppo di questionari autosomministrati, rivolti a genitori, insegnanti e ragazzi, per la valutazione delle problematiche emotive e comportamentali dall'età infantile all'adolescenza;
- delle Conners' Rating Scale Revised, questionari autosomministrati volti alla valutazione dei problemi comportamentali legati alla presenza di disattenzione e iperattività;
- dell'intervista diagnostica strutturata DAWBA (Development and Well Being Assessment);
- della Vineland Adaptive Behavior Scale che valuta l'adattamento dei bambini affetti da autismo;
- PEP3 Profilo Psicoeducativo, uno strumento che, oltre a contribuire alla raccolta di informazioni utili alla diagnosi, assiste nella programmazione educativa nei casi di autismo e disturbi pervasivi dello sviluppo.

Questi stessi strumenti, adeguatamente standardizzati e adattati al contesto italiano, con il consenso degli autori, sono a disposizione della comunità clinica italiana e, per favorirne la diffusione, sono stati messi a disposizione dei colleghi dei servizi territoriali su una piattaforma WEB con la possibilità, per alcuni strumenti, di una correzione on-line, a libero accesso, - previa iscrizione - per gli specialisti operanti nei servizi: questo ha permesso e permette ai ricercatori di questo settore di disporre di strumenti adeguati ed accettati internazionalmente per poter proseguire in un percorso di ricerca e di clinica qualificata.

**Secondo percorso:** studio della genetica del comportamento, finalizzato ad individuare l'interazione complessa tra fattori genetici e fattori ambientali anche in età evolutiva in alcuni comportamenti e caratteristiche neuropsicologiche.

In particolare, i risultati emersi nel campo della dislessia hanno permesso di evidenziare come il gene DYX1C1 sia associato alla memoria a breve termine, coinvolta nella fenomenica della dislessia, come possibile endofenotipo di alcuni sottotipi di dislessia.

In un altro campo, è stato evidenziato come varianti del gene del trasportatore della serotonina e del gene codificante per la catecol-O-Metil Transferasi (un enzima coinvolto nella sintesi delle catecolamine) siano in grado di influenzare la risposta cerebrale (registrata tramite ERP) al riconoscimento delle espressioni facciali nei bambini, in stretta interazione con l'assetto di personalità degli stessi.

A partire dal campione epidemiologico è stato possibile dimostrare come sia il trasportatore della serotonina sia il recettore Dopaminergico D4, in interazione complessa con fattori socioculturali, influenzino la comparsa di comportamenti aggressivi nei preadolescenti italiani.

Si è infine dato inizio ad un protocollo di ricerca multicentrica per la creazione di una banca dati e biobanca di pazienti autistici e familiari, per lo studio clinico, genetico e di marcatori biologici sull'autismo, patrocinato dalla Fondazione SmithKline in collaborazione con diverse Università e centri clinici italiani.

**Terzo percorso:** studio neuropsicologico e neurofisiologico di fenomeni complessi come la lettura, il linguaggio e l'attenzione ai fini di caratterizzare possibili anomalie funzionali dei circuiti sottesi, verificare la reale efficacia dei trattamenti riabilitativi intrapresi e caratterizzare meglio i percorsi riabilitativi più efficaci. Questo percorso trova nella partecipazione ad un progetto europeo, finalizzato allo studio sulle possibili modalità di acquisizione dei concetti astratti, la parte teorica più speculativa, e negli studi neurofisiologici e neuropsicologici sulla dislessia – attenzione visuospaziale e uditiva e loro implicazioni nei meccanismi della lettura – la parte pre-clinica propedeutica agli studi di outcome dei diversi tipi di intervento.

È stato condotto uno studio che ha messo in evidenza come un trattamento tachiscopico sia non solo clinicamente efficace ma anche in grado di modificare i parametri dell'attenzione visuospaziale: questi diversi studi hanno portato alla possibilità di verificare in gruppi di pazienti l'efficacia di

sistemi di riabilitazione basati su stimolazioni visive emisfero-specifiche rispetto ad altri metodi riabilitativi più classici.

Diversi parametri neuropsicologici, soprattutto correlati all'impulsività e alle funzioni esecutive, sono stati esplorati nell'ambito del Disturbo da Deficit dell'Attenzione ed Iperattività e nell'ambito del Disturbo Depressivo, permettendo una migliore descrizione dei meccanismi neuropsicologici coinvolti e l'impostazione di trattamenti neuroriabilitativi centrati su tali meccanismi.

**Quarto percorso:** studio dei legami di attaccamento quali possibili fattori di protezione contro lo stress ambientale e la vulnerabilità intrinseca dell'individuo, affrontati sempre nella prospettiva della "developmental psychopathology", prendendo in considerazione sia l'assetto genetico che gli ormoni coinvolti nel sistema di stress e valutando, con parametri obiettivi, il comportamento dei bambini esposti a situazioni di stress nelle prime fasi di vita.

**Quinto percorso:** valutare il comportamento motorio nelle prime fasi della vita, in particolare alcuni movimenti di prensione e deambulazione, come possibili indicatori di segnale di allarme precoci per la possibile manifestazione di Disturbi pervasivi di sviluppo. Questo percorso si è sviluppato a partire dalla partecipazione ad un progetto europeo – Tact – finalizzato a sviluppare device e modalità ecologiche di osservazione del movimento nelle primissime fasi di vita, quale prima manifestazione dello sviluppo mentale di ogni individuo.

In conclusione, si sono affrontate diverse patologie con l'obiettivo principale di un'accurata definizione del fenotipo, attraverso lo sviluppo di metodi di indagine standardizzati, una definizione di alcune componenti dell'assetto genetico, una esplorazione dell'endofenotipo intermedio attraverso le valutazioni neuropsicologiche ed infine attraverso la raccolta di informazioni riguardanti possibili stressor ambientali, la creazione di modelli di interazione nell'ambito dello sviluppo che potessero servire per interventi particolarmente accurati non solo terapeutici ma anche di prevenzione primaria o secondaria.

## REPORT ATTIVITÀ SCIENTIFICA 2007-2008

### Ricerca Ministeriale Corrente 2007

- L'attenzione spaziale e il movimento nell'Autismo
- Interferenza spaziale e temporale nella dislessia

evolutiva.

- Reattività adrenocorticale e vulnerabilità genetica in funzione della relazione di attaccamento madre-bambino in un campione ad alto rischio.
- Funzioni prefonologiche e attentive nella dislessia evolutiva: uno studio cross-linguistico.
- Standardizzazione italiana della NEPSY: A developmental Neuropsychological Assessment (M. Korkman, U. Kirk, S. Kemp, 1998).
- Criteri di valutazione linguistico-clinica del disturbo pragmatico del linguaggio: definizione ed applicazione di un protocollo riabilitativo specifico per la pragmatica verbale.
- La possibilità di implementazione delle competenze comunicative nei bambini con disturbo autistico con l'uso del Picture Exchange Communication System (PECS).

### Ricerca Ministeriale Corrente 2008

- L'attenzione spaziale e il movimento nell'Autismo.
- Effetti della riabilitazione sui sistemi motori nei pazienti affetti da autismo.
- Ruolo della simulazione mentale durante l'elaborazione linguistica.
- Funzioni prefonologiche e attentive nella dislessia evolutiva: uno studio cross-linguistico.
- Standardizzazione italiana della NEPSY: A development Neuropsychological Assessment (M. Korkman, U. Kirk, S. Kemp, 1998).
- Criteri di valutazione linguistico-clinica del disturbo pragmatico del linguaggio: definizione ed applicazione di un protocollo riabilitativo specifico per la pragmatica verbale.
- La possibilità di implementazione delle competenze comunicative nei bambini con disturbo autistico con l'uso del Picture Exchange Communication System (PECS).
- Dislessia evolutiva: ruolo del sistema Magnocellulare-Dorsale, del sistema Attentivo-Parietale e del Cervelletto.

## ALTRE RICERCHE

Ricerca Europea

Tipo di progetto: STREP (Specific Targeted Research Project)

Codice di attività: NEST-2004-Path-HUM

No. Progetto: 028714

Capofila: DIBIT Milano – prof. Cappa

"THE ORIGINS, REPRESENTATIONS AND USE OF ABSTRACT CONCEPTS" – ABSTRACT

Responsabile scientifico Maria Luisa Lorusso – IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

Inizio ricerca 01/05/06 - Fine ricerca 30/04/09

Ricerca Europea

Type of Instrument: FP6-2003-NEST-B-3 activity ADVENTURE

Project number: 015636

Coordinator: F. Keller, Campus Biomedico, Roma "THOUGHT IN ACTION" – TACT

Partner - Responsabile scientifico Massimo Molteni IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

Inizio ricerca 1/1/20 – Fine ricerca 31/12/08

Bando Fondazione Provincia di Lecco – Lions Club

"IL LIBRO PARLATO"

Responsabile Maria Luisa Lorusso – IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

Inizio ricerca 03/07/06 – Fine ricerca 02/07/07

Studio promosso da - Eli Lilly

"AN OPEN-LABEL STUDY ON THE EFFICACY OF ATOMOXETINE HYDROCHLORIDE ON QUALITY OF LIFE OF CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH ATTENTION-DEFICIT/HYPERACTIVITY DISORDER WITH OR WITHOUT COMORBID CONDITIONS" B4Z-IT-LYDS (Studio in aperto per valutare l'efficacia di Atomoxetina Cloridrato sulla qualità della vita nei bambini e negli adolescenti affetti da ADHD in comorbidità o meno con altre patologie psichiatriche)

Principal Investigator: Angelo Massagli - IRCCS "E. Medea" di Ostuni, Massimo Molteni - IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

CCM - Ministero della Salute

Capofila ASL di Rimini – F. Nardocci

"IL DISTURBO MENTALE IN ADOLESCENZA: LA COMPARSA DEL BISOGNO, I PERCORSI DEL DISTURBO"

U.O. Responsabile scientifico Massimo Molteni - IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

Inizio ricerca 05/03/07 – Fine ricerca 05/03/09

Progetto di ricerca 2007-2009 autofinanziato da IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

"PRECURSORI DELLE ABILITÀ MATEMATICHE PREDITTORI DELLA DISCALCULIA EVOLUTIVA"

Responsabile Maria Luisa Lorusso - IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

Inizio ricerca: giugno/luglio 2007 – Fine ricerca: giugno/luglio 2009

Progetto di ricerca 2007-2009 autofinanziato da IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

"CORRELATI NEUROFISIOLOGICI DELL'ELABORAZIONE SINTATTICA IN BAMBINI CON DISTURBO SPECIFICO DEL LINGUAGGIO E DISLESSIA EVOLUTIVA"

Responsabile Maria Luisa Lorusso - IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

Inizio ricerca: giugno/luglio 2007 – Fine ricerca: giugno/luglio 2009

Progetto promosso da Eli Lilly

"SVILUPPO DI UN SISTEMA DI NETWORK TRAMITE WEB TRA SERVIZI AL FINE DI RENDERE OMOGENEI I SISTEMI DI DIAGNOSI, IN PARTICOLARE PER L'ADHD"

Responsabile Massimo Molteni - IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

Progetto realizzato con contributi da privati:

"VALUTAZIONE DELLE COMPETENZE DISCORSIVE IN BAMBINI CON SVILUPPO ATIPICO DEL LINGUAGGIO"

Responsabile Andrea Marini - IRCCS "E. Medea" di San Vito al Tagliamento.

## PUBBLICAZIONI PRODOTTE

Basile E, Villa L, Selicorni A, Molteni M. (2007); THE BEHAVIOURAL PHENOTYPE OF CORNELIA DE LANGE SYNDROME: A STUDY OF 56 INDIVIDUALS; Journal of Intellectual Disability Research, 51(9):671-681

Battaglia M, Zanoni A, Giorda R, Pozzoli U, Citterio A, Beri S, Ogliari A, Nobile M, Marino C, Molteni M. (2007); EFFECT OF THE CATECHOL-O-METHYLTRANSFERASE VAL158MET GENOTYPE ON CHILDREN'S EARLY PHASES OF FACIAL STIMULI PROCESSING; Genes, Brain and Behavior, 6(4):364-374

Brambilla P, MacDonald III Angus W, Sassi RB, Johnson MK, Mallinger AG, Carter Cameron S, Soares JC (2007); CONTEXT PROCESSING PERFORMANCE IN BIPOLAR DISORDER PATIENTS; Bipolar Disorders, 9(3):230-237

Marino C, Citterio A, Giorda R, Facchetti A, Menozzi G, Vanzin L, Lorusso ML, Nobile M, Molteni M. (2007); ASSOCIATION OF SHORT-TERM MEMORY WITH A VARIANT WITHIN DYX1C1 IN DEVELOPMENTAL DYSLEXIA; Genes, Brain and Behavior, 6:640-646

Nobile M, Giorda R, Marino C, Carlet O, Pastore V,

Vanzin L, Bellina M, Molteni M, Battaglia M. (2007); SOCIOECONOMIC STATUS MEDIATES THE GENETIC CONTRIBUTION OF THE DRD4 AND 5-HTTLPR POLYMORPHISMS TO EXTERNALIZATION IN PRE-ADOLESCENCE; *Development and Psychopathology*, 19 (2007) 1147-1160

Tavano A, Sponda S, Fabbro F, Perlini C, Rambaldelli G, Ferro A, Cerruti S, Tansella M, Brambilla P. (2008); SPECIFIC LINGUISTIC AND PRAGMATIC DEFICITS IN ITALIAN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA, *Schizophr Res.*, 102 (1-3) 53-62

## LINEA DI RICERCA N. 4

# NEUROFISIOPATOLOGIA

### RESPONSABILE:

#### CLAUDIO ZUCCA

Nato a Milano il 12.08.1960



### Corso di studi

- Il 21 Marzo 1986 si è laureato in Medicina e Chirurgia, con il massimo dei voti e la lode, discutendo una tesi sperimentale su "Il potenziale evocato uditivo a media latenza: studio in soggetti normali".
- Il 13 Luglio 1990 ha conseguito la Specializzazione in Neurologia, con il massimo dei voti e la lode, discutendo una tesi intitolata: "Sospensione del trattamento cronico con farmaci antiepilettici: studio prospettico".
- Il 7 luglio 1994 ha conseguito la Specializzazione in Neurofisiopatologia con il massimo dei voti e la lode discutendo una tesi intitolata: "Anomalie della migrazione neuronale: studio degli aspetti neurofisiopatologici e clinici in 25 pazienti".

### Esperienze professionali

- Nell'Aprile 1991 è stato assunto come Assistente medico presso il Servizio di Neurofisiopatologia dell'IRCCS "E. Medea" - Associazione La Nostra Famiglia di Bosisio Parini.
- Dall'Ottobre 1992 è stato nominato Aiuto presso il Servizio di Neurofisiopatologia dell'IRCCS "E. Medea" - Associazione La Nostra Famiglia di Bosisio Parini.
- Dal Settembre 2005 è stato nominato Dirigente di secondo livello del Servizio di Neurofisiopatologia dell'IRCCS "E. Medea" - Associazione La

Nostra Famiglia di Bosisio Parini.

- È socio della Lega Italiana Contro l'Epilessia, dell'Associazione Italiana di Medicina del Sonno e dell'European Network for research on Alternating Hemiplegia (ENRAH).
- Dall'Aprile 1999 fa parte del Comitato Scientifico dell'Associazione Italiana per la Sindrome Emiplegia Alternante.

### Attività Didattica

- Negli anni scolastici 1994-1995 e 1995-1996 è stato titolare dei corsi di "Anatomia e fisiologia del sistema nervoso" e "Neurologia" presso la Scuola Regionale per Terapisti della Riabilitazione dell'IRCCS "E. Medea".
- Negli anni accademici 1996-1997 e 1997-1998 è stato titolare dei corsi integrati di "Anatomo-fisiologia Speciale del Sistema Nervoso" e di "Neurologia" del I e II anno del Corso di Diploma Universitario per Fisioterapisti dell'Università di Milano.
- Negli anni accademici 1999-2000, 2000-2001 e 2001-2002 è stato titolare dei corsi integrati di "Neuroanatomia" e "Neurofisiologia" per il I anno e "Neurologia" per il II anno di Corso del Diploma Universitario per Fisioterapisti dell'Università degli Studi dell'Insubria di Varese.
- Negli anni accademici 2002-2003 e 2003-2004 è stato docente di "Neuroanatomia" del primo anno del Corso di Laurea di Fisioterapista dell'Università degli Studi dell'Insubria di Varese.
- È stato docente in 8 Corsi accreditati per il Programma Ministeriale ECM (Educazione Continua in Medicina).

### Estratto delle pubblicazioni

È autore e coautore di oltre 150 lavori scientifici di argomento neurologico, neurofisiopatologico ed epilettologico; vengono di seguito riportati i 5 più significativi.

Zucca C, Redaelli F, Epifanio R, Zanotta N, Romeo A, Lodi M, Veggiotti P, Airoidi G, Panzeri C, Romaniello R, De Polo G, Bonanni P, Cardinali S, Baschiroto C, Martorell L, Borgatti R, Bresolin N, Bassi MT.; CRYPTOGENIC EPILEPTIC SYNDROMES RE-

LATED TO SCN1A: TWELVE NOVEL MUTATIONS IDENTIFIED. *Arch Neurol.* 2008 Apr;65(4):489-94

Bassi MT, Bresolin N, Tonelli A, Nazos K, Crippa F, Baschiroto C, Zucca C, Bersano A, Dolcetta D, Boneschi FM, Barone V, Casari G.; A NOVEL MUTATION IN THE ATP1A2 GENE CAUSES ALTERNATING HEMIPLEGIA OF CHILDHOOD. *J Med Genet.* 2004 Aug;41(8):621-8

Borgatti R, Zucca C, Cavallini A, Ferrario M, Panzeri C, Castaldo P, Soldovieri MV, Baschiroto C, Bresolin N, Dalla Bernardina B, Tagliatalata M, Bassi MT.; A NOVEL MUTATION IN KCNQ2 ASSOCIATED WITH BFNC, DRUG RESISTANT EPILEPSY, AND MENTAL RETARDATION. *Neurology.* 2004 Jul 13;63(1):57-65

Zucca C, Binda S, Borgatti R, Triulzi F, Radice L, Butte C, Barkhaus PE, Barbi M.; RETROSPECTIVE DIAGNOSIS OF CONGENITAL CYTOMEGALOVIRUS INFECTION AND CORTICAL MALDEVELOPMENT. *Neurology.* 2003 Sep 9;61(5):710-2

Guerreiro MM, Andermann E, Guerrini R, Dobyns WB, Kuzniecky R, Silver K, Van Bogaert P, Gillain C, David P, Ambrosetto G, Rosati A, Bartolomei F, Parmeggiani A, Paetau R, Salonen O, Ignatius J, Borgatti R, Zucca C, Bastos AC, Palmi A, Fernandes W, Montenegro MA, Cendes F, Andermann F.; FAMILIAL PERISYLVIAN POLYMICROGYRIA: A NEW FAMILIAL SYNDROME OF CORTICAL MALDEVELOPMENT. *Ann Neurol.* 2000 Jul;48(1):39-48

### PERSONALE MEDICO ADDETTO ALLA LINEA DI RICERCA PRESSO IL POLO DI BOSISIO PARINI

Nicoletta Zanotta

Neurologa

*Dirigente di primo livello*

Roberta Epifanio

Neuropsichiatria Infantile

*Dirigente di primo livello*

### PERSONALE MEDICO ADDETTO ALLA LINEA DI RICERCA PRESSO I POLI DI CONEGLIANO, OSTUNI E SAN VITO AL TAGLIAMENTO

Antonio Trabacca

Neurologo

*Polo di Ostuni*

De Rinaldis Marta

*Polo di Ostuni*

Paolo Bonanni

*Polo di Conegliano*

Gianni Depolo

*Polo di Conegliano*

Domenico Restuccia

*Polo di S. Vito al Tagliamento e Pasian di Prato*

Barbara Micoli

*Polo di S. Vito al Tagliamento e Pasian di Prato*

### INDIRIZZI STRATEGICI GENERALI

Il Servizio di Neurofisiopatologia è stato costituito presso la sede di Bosisio Parini de La Nostra Famiglia ancor prima della fondazione dell'IRCCS "E. Medea". Fin dall'inizio si è occupato di: 1) attività clinico-diagnostica e riabilitativa a favore dei pazienti affetti da Epilessia. 2) Attività diagnostica elettroencefalografia, anche dinamica e videopoligrafica in telemetria. 3) Ricerca in tema di epilettologia infantile. Successivamente il Servizio ha ampliato le sue competenze nell'ambito della neurofisiologia clinica, occupandosi anche di elettromiografia e potenziali evocati e della diagnostica differenziale dei fenomeni parossistici anche nell'adulto. In relazione al numero e alla tipologia delle prestazioni diagnostiche e al carico di pazienti di cui si occupa, il Servizio è stato inserito nella rete dei centri per l'epilessia della Regione Lombardia (Epinetwork) come centro di terzo livello per l'età infantile e di secondo livello per l'età adulta.

La casistica è costituita in prevalenza da bambini e adolescenti affetti da sindromi epilettiche sintomatiche, seguiti per gli aspetti riabilitativi presso le U.O. ed i centri di riabilitazione dell'IRCCS; per questo motivo le Ricerche Ministeriali di tipo corrente (RC) e finalizzato (RF) sono state incentrate sempre su tre tematiche principali:

1. **Epilessie Focali Sintomatiche**, in particolare:

Classificazione ed aspetti funzionali neuropsicologici (RC 1986, RC 1987, RC 1988), correlazioni tra quadri elettroclinici ed alterazioni strutturali (RC 1990), espressività età dipendente (RC 1991), encefalopatie infantili malformative (RC 1996, 1997).

2. **Forme atipiche di Epilessia Generalizzata Idiopatica ed Epilessie Generalizzate Criptogeniche**, in particolare:

Forme atipiche di Epilessia tipo Assenze dell'Infanzia (RC 1993,1995), fotosensibilità come tratto genetico (RC 1994)

3. **Farmacoresistenza**, in particolare:

I markers neurochimici (RF 1993, 1997), definizio-

ne precoce ed indicazioni neurochirurgiche (RF 1998), criteri elettroclinici predittivi (RC 2001, 2002, 2003), basi farmacogenomiche (RF 2003).

Ricerche ministeriali sono state effettuate anche su tematiche più generali di neurofisiologia clinica come: l'analisi degli standard di valutazione neurofisiologici nelle diverse tipologie minorative (RC 1987, RC 1988), lo studio degli aspetti neurofisiopatologici delle disfasie evolutive (RC 1998), lo studio elettroencefalografico e dei potenziali evocati nei pazienti con esiti di traumi cranici in fase subacuta e cronica, lo studio del mioclono nelle cerebropatie epilettiche e non epilettiche.

Dal 1998, con l'inclusione all'interno dell'IRCCS dei Poli di Conegliano, Ostuni e S. Vito al Tagliamento, l'attività della Linea di Ricerca è stata riorganizzata con la costituzione di un Gruppo di Ricerca che si fonda sulla condivisione delle competenze e delle attrezzature strumentali presenti nelle singole sedi dell'Istituto.

L'attività di questo Gruppo, fondata su regolari riunioni periodiche di discussione dei casi clinici, di confronto dei dati ottenuti e di progettazione di nuove proposte, pur dovendo affrontare problemi di organizzazione del lavoro e logistici è riuscita a garantire un coordinamento stabile dell'attività di ricerca relativa all'Epilettologia e più in generale alla Neurofisiologia Clinica.

Dal 1999 la Linea di Ricerca in Epilettologia esprime progetti di Ricerca Ministeriale non solo proposti dalla Sede di Bosisio Parini ma anche da altre Sedi dell'IRCCS, con un costante interscambio di dati e di casistica.

La Linea di ricerca ha completato programmi di ricerca non ministeriali in collaborazione con:

a) **Istituti Universitari:** Università dell'Insubria di Varese (Studio degli aspetti neuropsicologici in bambini con Epilessie idiopatiche o criptogeniche). Facoltà di ingegneria Politecnico di Milano e di Lecco (Analisi automatica del segnale EEG spontaneo ed evocato in soggetti sottoposti a test neuropsicologici di monitoraggio dell'attenzione sostenuta).

b) **Lega Italiana contro L'Epilessia:** il Servizio ha partecipato al progetto di ricerca EPISCREEN fornendo dati di 650 pazienti ed oltre 2300 visite; aderisce inoltre ai gruppi di studio LICE sulla genetica delle epilessie, sulla neuropsicologia e su epilessia e gravidanza.

c) **Unione Europea:** il Servizio ha partecipato ad uno studio sugli aspetti neurofisiopatologici e genetici dell'Emiplegia alternante inserito nel Sixth Framework Program dell'EC. Attualmente è Associated partner dello studio European Network of

expertise for Rare Pediatric Neurological Diseases – Neuroped cofinanziato dall'UE nell'ambito del Public Health Program 2007.

Sono stati effettuati inoltre studi controllati (fase IIIb/IV) e trials clinici in merito all'utilizzo, tollerabilità ed efficacia di farmaci antiepilettici.

## REPORT ATTIVITÀ SCIENTIFICA 2007-2008

### Ricerche Ministeriali Correnti 2007

- Cerebropatie epilettogene in età evolutiva: studio clinico, ricerca di indicatori precoci di farmacoresistenza e valutazione di nuovi sistemi di processazione del segnale elettroencefalografico.
- Caratteristiche Neurofisiopatologiche delle cerebropatie epilettogene e non epilettogene associate a canalopatie.
- Valutazione di funzioni cognitive specifiche in soggetti in età evolutiva con epilessia ed eventuali correlazioni con il trattamento farmacologico.

### Ricerche Ministeriali Correnti 2008

- Sindromi epilettiche criptogeniche associate o meno a compromissione neurologica: aspetti neurofisiologici e di genetica molecolare.
- Studio clinico-elettroencefalografico ed evoluzione prognostica delle epilessie sintomatiche con crisi a tipo spasmi con esordio di prima infanzia.
- Valutazione di funzioni cognitive specifiche in soggetti in età evolutiva con epilessia ed eventuali correlazioni con il trattamento farmacologico.

### Ricerche varie

Ricerca Europea

Tipo progetto SPECIFIC SUPPORT ACTION

Numero progetto: LSSM-CT-2005-516513

ENRAH FOR SMES "EUROPEAN NETWORK FOR RESEARCH ON ALTERNATING HEMIPLEGIA OF CHILDHOOD FOR PROMOTING SMES INTEGRATION - ENRAH FOR SMES

Responsabile scientifico: Claudio Zucca – IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

Inizio ricerca: 01/04/05 - Fine ricerca 30/06/07

Ricerca Europea

Type of instrument: PHEA Programme of community action in the field of public health (2003 - 2008)

- Call for proposals 2007

Priority Area: Health information exchange and responding to non-communicable health threats

Coordinator: Hospices Civils de Lyon, France

EUROPEAN NETWORK OF REFERENCE FOR

**RARE PEDIATRIC NEUROLOGICAL DISEASES – NEUROPED**

Responsabile scientifico Partner Medea: Claudio Zucca - IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini

Duration of the project: 36 months

In corso di attivazione

Studio promosso da: Janssen-Cilag SpA  
THERAPEUTIC OPTIONS IN REFRACTORY EPILEPSY TO MONOTHERAPY” – THEOREM

Responsabile scientifico: Andrea Martinuzzi– IRCCS “E. Medea” di Conegliano

Inizio ricerca: 21/11/05 - Fine ricerca: 20/05/08

## **VALUTAZIONE RICADUTE CLINICHE (ASPETTO “TRASLAZIONALE” DELLE RICERCHE CONDOTTE)**

Come è già stato anticipato, le attività della Linea di Ricerca di Neurofisiopatologia sono sempre scaturite dalle esigenze cliniche di assistenza dei pazienti seguiti presso le U.O. ed i Centri riabilitativi dell'IRCCS.

Per quanto riguarda le ricerche in ambito epilettologico i dati ottenuti hanno consentito di ricavare metodiche e protocolli mirati di inquadramento diagnostico e di gestione terapeutica. Hanno fornito inoltre importanti precisazioni sulla correlazione tra aspetti neurofisiopatologici e neuropsicologici di alcune sindromi nonché sull'influenza che il trattamento farmacologico esercita su entrambi questi aspetti.

Da questo punto di vista l'attività di ricerca si è costantemente integrata con l'attività clinica e di ricerca dell'Unità Operativa NR1 dell'IRCCS - che si occupa di Neuropediatria e di riabilitazione delle Sindromi malformative - soprattutto per quanto riguarda lo studio delle epilessie sintomatiche in età infantile e i percorsi diagnostici delle epilessie sintomatiche di malformazioni dello sviluppo corticale e di sindromi-plurimalformative.

L'attività di ricerca svolta in collaborazione con l'Unità Operativa NR3 - che si occupa delle lesioni cerebrali acquisite - ha fornito dati utili per la gestione terapeutica e il monitoraggio neurofisiologico delle epilessie sintomatiche post-tumorali in età infantile, post-atossiche e post-traumatiche anche dell'età adulta.

Gli studi di neurofisiologia clinica condotti in collaborazione con l'Unità Operativa NR2 - che si occupa della riabilitazione dei deficit neuropsicologici - hanno fornito contributi interessanti per la classifi-

cazione dei deficit neuropsicologici selettivi sia del linguaggio che della lettura.

Con la U.O. di Riabilitazione Funzionale si sono ottenuti dati di utilità clinica per le epilessie sintomatiche conseguenti a cerebropatie congenite non evolutive. Si sono ottenuti inoltre dati di analisi automatica del segnale EEG spontaneo ed evocato utili alla realizzazione dei progetti riabilitativi anche basati sull'utilizzo del segnale EEG evocato nell'interazione uomo-computer.

Infine la collaborazione con il Laboratorio di biologia molecolare ha prodotto risultati utili per la diagnosi non solo di forme di epilessia idiopatiche ma anche criptogeniche, con importanti ricadute anche sulla comprensione della fisiopatologia di queste ultime.

I dati ottenuti dall'attività di ricerca e i risultati della loro applicazione clinica sono stati oggetto di relazioni e lezioni esposte dal personale medico e tecnico del Servizio nell'ambito di corsi accreditati per i Programmi Ministeriali ECM (Educazione Continua in Medicina).

## **PUBBLICAZIONI PRODOTTE**

Molteni E, Bianchi AM, Butti M, Reni G, Zucca C.; COMBINED BEHAVIORAL AND EEG POWER ANALYSIS IN DAI IMPROVE ACCURACY IN THE ASSESSMENT OF SUSTAINED ATTENTION DEFICIT. *Ann Biomed Eng.* 2008 May 2. [IN PRESS]

Zucca C, Redaelli F, Epifanio R, Zanotta N, Romeo A, Lodi M, Veggiotti P, Airoldi G, Panzeri C, Romaniello R, De Polo G, Bonanni P, Cardinali S, Baschirrotto C, Martorell L, Borgatti R, Bresolin N, Bassi MT.; CRYPTOGENIC EPILEPTIC SYNDROMES RELATED TO SCN1A: TWELVE NOVEL MUTATIONS IDENTIFIED. *Arch Neurol.* 2008 Apr;65(4):489-94

Trabacca A, Profice P, Costanza MC, Gesualdi M, De Rinaldis M.; LEVETIRACETAM IN NON-CONVULSIVE STATUS EPILEPTICUS IN CHILDHOOD: A CASE REPORT. *J Child Neurol.* 2007 May;22(5):639-41

Restuccia D, Micoli B, Cazzagon M, Fantinel R, Piero ID, Della Marca G.; DISSOCIATED EFFECTS OF QUIET STANCE ON STANDARD AND HIGH-FREQUENCY (600HZ) LOWER LIMB SOMATOSENSORY EVOKED POTENTIALS. *Clin Neurophysiol.* 2008 Jun;119(6):1408-18

# LINEA DI RICERCA N. 5

## NEUROBIOLOGIA

### RESPONSABILE: NEREO BRESOLIN

Nato il 25.08.1952



#### Corso di studi

- Laureato in Medicina e Chirurgia il 13.7.77 con 110/110 e lode.
- Specializzato in Neurologia presso l'Università di Padova il 14.7.81.
- Specializzato in Neuropatologia presso l'Università degli Studi di Milano il 5.7.85.

#### Esperienze professionali

- Dall'1.11.92 è Professore Associato di ruolo di Clinica Neurologica presso l'Università degli Studi di Milano, Istituto di Clinica Neurologica.
- Dal 9.7.99 è Direttore Scientifico dell'IRCCS "E. Medea".
- Dal 1.3.01 è Professore Straordinario in Clinica Neurologica presso l'Università degli Studi di Milano, Istituto di Clinica Neurologica.
- Dal 1.10.01 è Direttore della Scuola di Specialità in Neurologia presso l'Università degli Studi di Milano.
- Dal 1.11.02 è Direttore dell'U.O. di Neurologia della Fondazione Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena di Milano.
- Dal 25.11.02 è Direttore del Centro Dino Ferrari per la diagnostica e la terapia delle Malattie Neuromuscolari e Neurodegenerative.

- Dal 01.10.2004 è Direttore del Dipartimento di Scienze Neurologiche dell'Università degli Studi di Milano.
- Presidente del "Centro di Eccellenza sulle Malattie Neurodegenerative del Sistema Nervoso Centrale e Periferico: studio dei meccanismi molecolari per diagnosi, prevenzione e trattamento" dell'Università degli Studi di Milano.
- Esperto del Consiglio Superiore di Sanità per il triennio 2003-2005 (decreto di nomina 31/01/2003).
- Componente del Comitato Tecnico Scientifico della Fondazione IRCCS "Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena" di Milano.

#### Attività Didattica

- Ha svolto continuamente attività didattica negli anni accademici dal 1985 al 2006 mediante lezioni e seminari per i corsi di Laurea in Medicina e Chirurgia e mediante seminari tenuti alla Scuola di Specializzazione in Neurologia e Neuropatologia dell'Università degli Studi di Milano. Docente di Clinica Neurologica alla Scuola di Specialità in Medicina Interna.
- Ha partecipato alla stesura di oltre 150 tesi di laurea di studenti in Medicina e Chirurgia e oltre 100 tesi di Specializzandi in Neurologia e Neuropatologia partecipando alle sedute di laurea e di specializzazione in qualità di relatore e correlatore.
- È titolare del corso di Clinica Neurologica per gli studenti di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Milano.
- È Direttore della Scuola di Specialità in Neurologia.
- È Coordinatore del Corso di Malattie del Sistema Nervoso – Polo Centrale Linea C della Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Milano.
- È titolare del Corso di Neurologia per la Linea H – Corso di Malattie del Sistema Nervoso Polo Centrale della Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Milano.
- Ha tenuto numerosi seminari in Italia e all'estero su invito delle più prestigiose Università.

**Estratto delle pubblicazioni**

Sampaolesi M, Torrente Y, Innocenzi A, Tonlorenzi R, D'Antona G, Pellegrino MA, Barresi R, Bresolin N, Cusella De Angelis MG, Campbell KS, Bottinelli R, Cossu G. (2003); CELL THERAPY OF ALPHA-SARCOGLYCAN NULL DYSTROPHIC MICE THROUGH INTRA-ARTERIAL DELIVERY OF MESOANGIOBLASTS; *Science*, 301(5632):487-492

Torrente Y, Belicchi M, Sampaolesi M, Pisati F, Meregalli M, D'Antona G, Tonlorenzi R, Porretti L, Gavina M, Mamchaoui K, Pellegrino MA, Furling D, Mouly V, Butler-B GS, Bottinelli R, Cossu G, Bresolin N. (2004); HUMAN CIRCULATING AC133+ STEM CELLS RESTORE DYSTROPHY EXPRESSION AND AMELIORATE FUNCTION IN DYSTROPHIC SKELETAL MUSCLE; *Journal of Clinical Investigation*, 114(2):182-195

Cagliani R, Magri F, Toscano A, Merlini L, Fortunato F, Lamperti C, Rodolico C, Prella A, Sironi M, Aguenouz M, Ciscato P, Uncini A, Moggio M, Bresolin N, Comi GP. (2005); MUTATION FINDING IN PATIENTS WITH DYFERLIN DEFICIENCY AND ROLE OF THE DYFERLIN INTERACTING PROTEINS ANNEXIN A1 AND A2 IN MUSCULAR DYSTROPHIES; *Human Mutation*, 26(3):283

Crippa F, Panzeri C, Martinuzzi A, Arnoldi A, Redaelli F, Tonelli A, Baschirotto C, Vazza G, Mostacciuolo ML, Daga A, Orso G, Profice P, Trabacca A, D'Angelo MG, Comi GP, Galbiati S, Lamperti C, Bonato S, Pandolfo M, Meola G, Musumeci O, Toscano A, Trevisan CP, Bresolin N, Bassi MT. (2006); EIGHT NOVEL MUTATIONS IN SPG4 IN A LARGE SAMPLE OF PATIENTS WITH HEREDITARY SPASTIC PARAPLEGIA; *Archives of Neurology*, 63(5):750-755

Locatelli F, Corti S, Papadimitriou D, Fortunato F, Del Bo R, Donadoni C, Nizzardo M, Nardini M, Salani S, Ghezzi S, Strazzer S, Bresolin N, Comi GP. (2007); FAS SMALL INTERFERING RNA REDUCES MOTONEURON DEATH IN AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS MICE; *Annals of Neurology*, 62(1):81-92

**COLLABORATORI****Strutturati**

Maria Teresa Bassi  
Biologa

Maria Clara Bonaglia  
Biologa

Rachele Cagliani  
Biologa

Roberto Giorda  
Biologo

Uberto Pozzoli  
Bioingegnere

Maria Elisabetta Raggi  
Biologa

Manuela Sironi  
Biologa

**Consulenti**

Emilio Clementi  
Farmacologo

**INDIRIZZI STRATEGICI GENERALI**

L'eterogenea attività della linea di Neurobiologia si articola su diversi fronti nell'ambito della Biologia molecolare, della Citogenetica, della Farmacologia e della Biochimica Clinica. Lo studio e la caratterizzazione da un punto di vista genetico molecolare delle patologie neuromuscolari ha rappresentato in passato e continua ad essere un campo in cui l'Istituto si è distinto per la casistica analizzata e per i risultati ottenuti sia dal punto di vista clinico che molecolare in collaborazione con la Clinica Neurologica dell'Università di Milano. Particolare attenzione è stata riservata allo studio delle distrofinopatie, distrofie dei cingoli e miopatie congenite. Nel triennio 2005-2007 questa stessa attività è stata estesa a forme di patologie neurodegenerative che interessano prevalentemente o in parte soggetti in età pediatrica, quali le malattie del motoneurone ad insorgenza precoce e le paraparesi spastiche, le epilessie (in particolare quelle dell'età pediatrica). In generale, per molte di queste forme (soprattutto le motoneuronali) si tratta di patologie genetiche molto rare caratterizzate da quadri clinici sindromici complessi e di difficile individuazione, in cui l'inquadramento clinico diagnostico definitivo è spesso reso possibile solo o prevalentemente dalla diagnosi genetico molecolare. In questi ambiti l'attività della linea è strettamente connessa con l'attività clinica condotta sia all'interno dell'Istituto che in collaborazione con altre Cliniche Neurologiche distribuite su tutto il territorio lombardo e nazionale. L'attività svolta riguarda la caratterizzazione genetico molecolare dei casi familiari raccolti per ciascuna delle patologie sopra menzionate e - ove possibile - lo studio funzionale delle mutazioni identificate, il tutto in collaborazione con altri laboratori specialistici (es. Prof. Tagliatela - Università del Molise, Prof. Clementi - Università di Milano, Prof. G. Villani, Univ. di Bari). Per quanto riguarda le

epilessie, gli studi clinici e genetici sono affiancati e coadiuvati dalla sezione di Biochimica clinica e Farmacologia con la messa a punto di tecniche di dosaggio di numerosi farmaci antiepilettici, condizione essenziale all'avvio di trial farmacologici.

In particolare, nel campo delle patologie neurodegenerative motoneuronali dell'età pediatrica, le collaborazioni intraprese hanno permesso di attuare un notevole rinnovamento delle attività del laboratorio, che parte dalla caratterizzazione genetico molecolare della casistica raccolta per approdare a studi funzionali sulle proteine mutate identificate grazie anche all'utilizzo di diversi modelli cellulari neuronali e non. Infatti è attualmente in corso un'attività di caratterizzazione biochimica e funzionale dei prodotti genici coinvolti, in particolare alsina e senataxina, proteine di recente identificazione e quindi poco conosciute, per l'identificazione del loro ruolo fisiologico e patogenetico di queste forme. Particolare attenzione è stata posta al ruolo di queste proteine nei processi degenerativi sia neuronali che muscolari, aspetto quest'ultimo poco studiato in generale in queste patologie: si è proceduto con la creazione di modelli cellulari per lo studio in vitro di queste proteine e di modelli animali, quali la *Drosophila*, il tutto in collaborazione con il Dott. Daga del Centro di Conegliano e Università di Padova. A questo proposito e sulla base dei primi risultati ottenuti, sono stati presentati e approvati diversi progetti attualmente in corso al Ministero della Salute, all'Associazione francese per le malattie muscolari e miopatie (AFM) e alla Fondazione Cariplo.

Altre aree di attività della linea di Neurobiologia sono rappresentate dallo studio di malattie rare e patologie di interesse psichiatrico e comportamentale (autismo, ADHD, dislessie) in stretta collaborazione con la linea di Psicopatologia dello sviluppo e del comportamento.

In questi ambiti sono stati compiuti notevoli sforzi per attuare un profondo rinnovamento in particolare nel campo della citogenetica, dove è stata introdotta l'analisi di CGH-arrays (in collaborazione con la Prof.ssa Zuffardi - Università di Pavia).

Tale tecnica, affiancata a tecniche standard di genetica molecolare e all'analisi computerizzata delle sequenze genomiche (in collaborazione con la linea di Bioinformatica), ha permesso l'avvio di uno studio sistematico delle basi molecolari dei riarrangiamenti cromosomici complessi. Analogamente lo studio dei pattern di espressione genica ha consentito un consistente rinnovamento di progetti di ricerca volti all'isolamento di nuovi geni responsabili di patologie rare. A tale riguardo, un esempio è dato dall'emiplegia alternante per la quale l'IRCCS

"E. Medea", in seguito all'isolamento del gene coinvolto, ha costituito e conserva al suo interno una banca di materiale biologico proveniente da tutti i pazienti italiani.

## REPORT ATTIVITÀ SCIENTIFICA 2007-2008

### Ricerca Ministeriale Corrente 2007

- Ruolo della dinamica intracellulare dei mitocondri nella patogenesi delle neuropatie periferiche.
- Valutazione clinica, modelli cellulari e approccio terapeutico in diverse patologie neurodegenerative e neuromotorie.
- Analisi di break point in riarrangiamenti cromosomici ricorrenti e non: studio citogenetico, molecolare, bioinformatico e verifica sperimentale attraverso l'uso di organismi modello.
- Sviluppo di un modello di Epilessia Mioclonica Giovanile in *Drosophila*.
- Atassie: valutazione clinico-strumentale e analisi genetica di un'ampia casistica di pazienti. Studio di modelli cellulari e animali.

### Ricerca Ministeriale Corrente 2008

- Ruolo della dinamica intracellulare dei mitocondri nella patogenesi delle neuropatie periferiche.
- Meccanismi molecolari di neurodegenerazione in forme di SLA ad esordio giovanile (ALS2-ALS4), meccanismi di protezione da apoptosi, citossicità e ipersensibilità al danno ossidativo: studio del ruolo delle proteine senataxina e alsina.
- Stress ossidativo e micotossine nella sindrome autistica.
- Sviluppo di un modello di Epilessia Mioclonica giovanile in *Drosophila*.
- Variazione strutturale del genoma umano: studio dei meccanismi molecolari che predispongono alla formazione dei riarrangiamenti cromosomici nell'uomo.
- Neuropatie periferiche sensitivo motorie: funzionalità mitocondriale in modelli cellulari.

### Ricerca Finalizzata

Bando 2005

"STRESS OSSIDATIVO E FATTORI DI PROTEZIONE IN MODELLI CELLULARI DI NEURODEGENERAZIONE"

Responsabile scientifico: Emilio Clementi - IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini

Inizio ricerca 27/04/06 – Fine ricerca 31/12/08

Bando 2006

“MALATTIA DEL PRIMO MOTONEURONE: INTEGRAZIONE DI APPROCCIO GENETICO-MOLECOLARE, CLINICO E STRUMENTALE”

Responsabile scientifico: Andrea Martinuzzi – IRCCS “E. Medea” di Conegliano

Inizio ricerca 20/11/07 – Fine ricerca 19/11/09

### Ricerca Finalizzata ex art. 56

Bando 2005 – Malattie Neurodegenerative

“MALATTIA DEL MOTONEURONE: PATHWAY MOLECOLARI E CELLULARI NELLA DEGENERAZIONE NEURONALE E MUSCOLARE COME CAUSA DI ETEROGENEITA' CLINICA E GENETICA”

Responsabile scientifico: Nereo Bresolin – IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini

Inizio ricerca 02/07/07 - Fine ricerca 31/12/09

Bando 2005 – Malattie Neurodegenerative

Capofila - IRCCS Fondazione Don Gnocchi di Milano

“STUDIO MULTIDISCIPLINARE NEL MILD COGNITIVE IMPAIRMENT (MCI): INDICATORI NEUROPSICOLOGICI, NEUROFISIOLOGICI, DI NEUROIMAGING E BIOLOGICI, UTILI PER LA DIAGNOSI PRECOCE E PREDITTIVI DI EVOLUZIONE IN DEMENZA”

U.O. IRCCS “E. Medea” di Bosisio - Prof. Nereo Bresolin

Inizio ricerca 15/07/07 – Fine ricerca 15/07/09

### Ricerche varie

Bandi chiusi 2005 – Fondazione CARIPL0

“GENOMICA E PROTEOMICA DI FORME SINDROMICHE DI RITARDO MENTALE ASSOCIATO AL CROMOSOMA X CON QUADRI PLURIFORMI ED EPILESSIA”

Responsabile: Maria Teresa Bassi – IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini

Inizio ricerca: 20/02/06 - Fine ricerca 19/02/08

Bando 2005 – Ricerca Finalizzata Regione Veneto

Progetto ULSS 7 – Pieve di Soligo

“SVILUPPO DI UN MODELLO DI JME IN DROSOPHILA”

U.O. IRCCS “E. Medea” di Conegliano - Responsabile scientifico: Andrea Daga

Inizio ricerca 14/03/06 - Fine ricerca 13/03/08

Bando 2005 – Ricerca Finalizzata Regione Veneto

Progetto ULSS 9 – Treviso

“STRATEGIE DI PREVENZIONE E TRATTAMENTO DEL DANNO OSSIDATIVO IN MODELLI CELLULA-

RI DI MALATTIE NEURODEGENERATIVE”

U.O. IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini - Responsabile scientifico: Nereo Bresolin

Inizio ricerca 01/03/06 - Fine ricerca 29/02/08

Bando 2006 - TELETHON

Capofila: Valerio Carelli - Dipartimento di Scienze Neurologiche, Università di Bologna

Partner 4 – Andrea Martinuzzi IRCCS “E. Medea” Polo di Conegliano

“PATHOGENIC MECHANISMS FOR DEGENERATION OF RETINAL GANGLION CELLS IN MITOCHONDRIAL OPTIC NEUROPATHIES” – Application GGP06233

Inizio ricerca 31/10/06 - Fine ricerca 30/10/09

Bando 2006 - TELETHON

Capofila: Carlo Sala – CNR, Istituto di Neuroscienze, Dipartimento di Farmacologia Università degli Studi di Milano

Partner 1- Responsabile scientifico: Maria Clara Bonaglia - IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini

Partner 2 - Responsabile scientifico: Roberto Giorda - IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini

“THE ROLE OF SHANK3/PROSAP2 IN THE NEUROLOGICAL SYMPTOMS OF PATIENTS AFFECTED BY THE 22Q13 DELETION SYNDROME” – Application GGP06208

Inizio ricerca 29/11/06 - Fine ricerca 28/11/08

Bando 2006 - Istituto Superiore di Sanità– Malattie rare

“ATAXIC DISORDERS AND PHARMACOLOGICAL TREATMENT: USE OF AN ANIMAL MODEL TO UNDERSTAND THE MOLECULAR BASES OF NEURODEGENERATION AND TO IDENTIFY POSSIBLE THERAPEUTIC TARGETS”

Responsabile scientifico: Nereo Bresolin – IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini

Inizio ricerca 25/05/07 - Fine ricerca 24/05/09

Bando 2007 - AFM Association Francaise contre le Myopathies

“MOLECULAR BASES OF ALSIN-INDUCED NEURODEGENERATION”

Responsabile scientifico: Maria Teresa Bassi – IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini

Inizio ricerca 06/08/07 - Fine ricerca 05/08/08

Bandi chiusi 2007 – Fondazione CARIPL0

“ETEROGENEITÀ GENETICA NELLA SLA FAMILIARE: APPROCCIO DI GENOMICA E PROTEOMICA PER L'IDENTIFICAZIONE DI NUOVI GENI RESPONSABILI DELLE FORME DI SLA IDIOPATI-

CA, VALIDAZIONE DEL LORO UTILIZZO PER LA DIAGNOSTICA PRECOCE E COME MARCATORI PROGNOSTICI DI UNA TERAPIA PREVENTIVA”

Responsabile scientifico: Emilio Clementi - IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini

Prevista data di inizio ricerca 01/07/08 - Fine ricerca 30/06/10

Ricerca europea

Type of funding scheme: Collaborative Project - Small or medium-scale focused research project

Work programme topics: HEALTH-2007- 3.2-6:

Health outcome measures and population ageing

Project Number 223071

“COURAGE IN EUROPE - COLLABORATIVE RESEARCH ON AGEING IN EUROPE”

Proposal acronym: COURAGE in Europe

Duration of the project : 36 Months

In fase di attivazione

Ricerca europea

Type of instrument: Large collaborative project

Work programme topics addressed: HEALTH-

2007-1.4-6: Stem cell lines for cell-based therapies

Project number: 223098

“OPTIMIZATION OF STEM CELL THERAPY FOR DEGENERATIVE EPITHELIAL AND MUSCLE DISEASES”

Proposal acronym OPTISTEM

Duration of the project: 60 months

In fase di attivazione

## VALUTAZIONE RICADUTE CLINICHE (ASPETTO “TRASLAZIONALE” DELLE RICERCHE CONDOTTE)

L'attività di tipo genetico molecolare condotta nell'ambito delle patologie neuromuscolari e neurodegenerative, in particolare nel campo delle malattie rare, ha consentito un notevole ampliamento delle potenzialità di diagnostica molecolare con una immediata ricaduta dal punto di vista del SSN. Il successivo avvio di studi funzionali e di caratterizzazione dei prodotti mutati identificati nei pazienti ha lo scopo essenziale di chiarire e definire i meccanismi patogenetici della patologia in esame come condizione essenziale e preliminare per l'identificazione di target terapeutici innovativi. Questo è particolarmente rilevante soprattutto nel caso di patologie rare dove le scarse conoscenze di tipo clinico, epidemiologico e genetico-molecolare impediscono la messa a punto di strategie terapeuti-

che e farmacologiche efficaci e razionali.

Analogamente, nel campo delle epilessie riveste particolare rilevanza dal punto di vista del SSN - dato il suo impatto sociale ed economico - l'avvio di studi farmacologici e di farmacogenomica volti alla comprensione dei meccanismi molecolari della farmacoresistenza, condizione questa presente in circa il 30% dei pazienti epilettici. All'interno di questa ampia casistica il dosaggio ematico dei farmaci più comunemente usati, seguito da un'accurata valutazione della loro cinetica di eliminazione, permette un utilizzo più razionale e ove possibile personalizzato del farmaco stesso, nell'ottica generale di un miglioramento della terapia antiepilettica.

In generale, gli sforzi strutturali ed organizzativi dell'Istituto, parallelamente alle collaborazioni instaurate nell'ultimo anno dagli operatori nell'ambito di ciascuna delle ricerche in atto, consentiranno una ulteriore evoluzione nella direzione di una ricerca sempre più collegata ed integrata alle necessità della clinica e mirata alla produzione di strategie e conoscenze da tramutarsi in linee guida e/o brevetti di immediato utilizzo per il paziente.

## PUBBLICAZIONI PRODOTTE

Beri S, Tonna N, Menozzi G, Bonaglia MC, Sala C, Giorda R. (2007); DNA METHYLATION REGULATES TISSUE SPECIFIC EXPRESSION OF SHANK3; *Journal of Neurochemistry*, 101(5):1380-1391

Deponti D, Francois S, Baesso S, Sciorati C, Innocenzi A, Broccoli V, Muscatelli F, Meneveri R, Clementi E, Cossu G, Brunelli S. (2007); NECTID MEDIATES SKELETAL MUSCLE REGENERATION BY PROMOTING MYOBLAST SURVIVAL AND DIFFERENTIATION; *The Journal of Cell Biology*, 179(2):305-319

Giorda R, Ciccone R, Gimelli G, Pramparo T, Beri S, Bonaglia MC, Giglio S, Genuardi M, Argente J, Rocchi M, Zuffardi O. (2007); TWO CLASSES OF LOW COPY REPEATS CO-MEDIATE A NEW RECURRENT REARRANGEMENT CONSISTING IN DUPLICATION AT 8p23.1 AND TRIPLICATION AT 8p23.2; *Human Mutation*, 28(5):459-468

Lissandron V, Rossetto MG, Erbguth K, Fiala A, Daga A, Zaccolo M. (2007); TRANSGENIC FRUITFLIES EXPRESSING A FRET-BASED SENSOR FOR IN VIVO IMAGING OF CAMP DYNAMICS; *Cellular Signalling*, (2007) 2296-2303

Tonelli A, Gallanti A, Bersano A, Cardin V, Ballabio E, Airolidi G, Redaelli F, Candelise L, Bresolin N, Bassi MT. (2007); AMINO ACID CHANGES IN THE AMINO TERMINUS OF THE NA, K-ATPASE ALPHA-2 SUBUNIT ASSOCIATED TO FAMILIAL AND SPORADIC HEMIPLEGIC MIGRAINE; Clinical Genetics, 2007:72:517-523

Del Bo R, Moggio M, Bonato S, D'Angelo MG, Ghezzi S, Airolidi A, Bassi MT, Guglieri M, Napoli L, Lamperti C, Corti S, Federico A, Bresolin N, Comi GP.(2008); MUTATED MITOFUSION 2 PRESENTS WITH INTRAFAMILIAL VARIABILITY AND BRAIN MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION, Neurology, in press

# LINEA DI RICERCA N. 6

## BIOINGEGNERIA

### RESPONSABILE:

#### GIANLUIGI RENI

Nato a Busto Arsizio (Va) il 12/10/1961



#### Istruzione

- Laurea in Ingegneria Elettronica presso il Politecnico di Milano

#### Esperienze professionali

- Consulente Tecnico d'Ufficio per il Tribunale di Busto Arsizio come esperto in tecnologie sanitarie.
- Consulente in automazione sanitaria per numerosi ospedali lombardi tra cui Ospedale San Raffaele di Milano, Ospedale Sant'Anna di Como, Policlinico di Milano.
- Progettista di sistemi informativi per società di servizi nel campo della proprietà intellettuale (brevetti e marchi).

#### Attività Didattica

- Docente di Informatica Medica e Telemedicina in qualità di cultore della materia presso il Politecnico di Milano.
- Docente di Infrastrutture per la Telemedicina nel Master in Telemedicina, presso CEFRIEL, Milano.
- Docente di Sistemi Informativi Sanitari, corso IFTS Regione Lombardia Tecnico Superiore di Informatica Medica, Bosisio Parini.

#### ESTRATTO PUBBLICAZIONI

Pinciroli F, Crippa F, Combi C, Reni G, Fava D. (2000); TANCLICO: TOOLS FOR THE ANALYSIS

OF INTER-DEPARTMENTAL CLINICAL COMMUNICATIONS; *Methods of Information in Medicine*, 39:44-49

Reni G, Molteni M, Arlotti S, Pinciroli F. (2004); CHIEF MEDICAL OFFICER ACTIONS ON INFORMATION SECURITY IN AN ITALIAN REHABILITATION CENTRE; *International Journal of Medical Informatics*, 73(3):271-279

Molteni E, Bianchi AM, Butti M, Reni G, Zucca C. (2007); ANALYSIS OF THE DYNAMICAL BEHAVIOUR OF THE EEG RHYTHMS DURING A TEST OF SUSTAINED ATTENTION; *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* (1) 1298 – 1301

Molteni E, Bianchi AM, Butti M, Reni G., Zucca C. (2008); COMBINED BEHAVIORAL AND EEG POWER ANALYSIS IN DAI IMPROVE ACCURACY IN THE ASSESSMENT OF SUSTAINED ATTENTION DEFICIT, *Ann Biomed Eng*, 2008 Jul; 36(7):1216-27

#### COLLABORATORI

Matteo Cavalleri  
Perito informatico  
Paolo Perego  
Ingegnere borsista  
Marta Re  
Ingegnere borsista  
Bruno Riccardi  
Ingegnere borsista  
Marianna Romei  
Ingegnere borsista

#### INDIRIZZI STRATEGICI GENERALI

L'attività di ricerca del Laboratorio di Bioingegneria si articola attualmente su varie linee:

1. Utilizzo di tecnologie elettroniche avanzate per lo sviluppo di apparecchiature elettromedicali originali.
2. Analisi e sperimentazione di modelli e tecnologie per la gestione di dati di pazienti.
3. Applicazione di modelli matematici per l'elaborazione di segnali bioelettrici.

### 1. Utilizzo di tecnologie elettroniche avanzate per lo sviluppo di apparecchiature elettromedicali originali

Lavorando nel campo della riabilitazione in età pediatrica, ci si scontra talora con l'inadeguatezza di apparecchiature elettromedicali specificamente progettate per soggetti adulti e con la scarsità di dispositivi di ausilio, considerati dalle aziende produttrici un settore troppo di nicchia per giustificare investimenti importanti.

Grazie alla stretta interazione tra ingegneria e medicina che si è promossa all'interno dell'Istituto, è invece possibile sperimentare tecnologie innovative e trovare soluzioni originali a problemi di natura diagnostica o riabilitativa ancora irrisolti.

Nell'ambito di questo filone sono stati sviluppati diversi dispositivi, divenuti anche oggetto di brevetto di invenzione industriale.

Tra i dispositivi realizzati si segnalano: "Sistema per la stimolazione oculomotoria nei soggetti in età pediatrica"; "Apparecchiatura per la valutazione della verticale propriocettiva"; "SOGNO: Sistema di Orientamento, Guida e Navigazione automatizzato all'interno di edifici pubblici"; "Dispositivo indossabile RF-ID per l'identificazione automatica del paziente e del personale in ospedale". "Dispositivo elettronico di controllo per un'ortesi, in particolare per un'ortesi atta ad essere applicata ad una mano di un paziente".

### 2. Analisi e sperimentazione di modelli e tecnologie per la gestione di dati di pazienti

Ancora oggi la maggior parte dei dati clinici dei pazienti viene maneggiata come se ci trovassimo nel 19° secolo, con note scritte a mano su fogli di carta. Secondo studi recenti (2005), negli Stati Uniti meno di un terzo degli ospedali si avvalgono dell'informatica per registrare dati medici.

Eppure il progresso della conoscenza nel campo della salute si fonda proprio sulla raccolta dei dati sanitari registrati da ciascun paziente.

Da questi dati, attraverso un processo interpretativo ed eventualmente di aggregazione, derivano le informazioni sulla base delle quali si prendono delle decisioni, a tutti i livelli del sistema sanitario: dalla decisione che riguarda il singolo, ad esempio per formulare una diagnosi o per stabilire una terapia, alla decisione che riguarda l'intera organizzazione del servizio sanitario, ad esempio per l'allocazione delle risorse, per il miglioramento della qualità erogata e così via.

È necessario dunque costruire sistemi informativi adeguati, che siano in grado di sostenere un campo in continua evoluzione, dal punto di vista

tecnologico, normativo e delle stesse necessità informative.

L'attività del Laboratorio in questo campo ha consentito di costruire un sistema completo di gestione del paziente, Clinsuite, entrato nell'uso quotidiano del personale sanitario dell'Istituto.

### 3. Applicazione di modelli matematici per l'elaborazione di segnali bioelettrici

La disponibilità di strumentazione elettromedicale sofisticata consente oggi di registrare l'attività elettrica cerebrale durante l'esecuzione di prove con contenuto cognitivo complesso. Analogamente esistono apparati che permettono di registrare immagini del cervello durante il suo funzionamento (ad es. fMRI). Diventa sempre più importante poter disporre di modelli che consentano di fondere i risultati di queste diverse tipologie di esame per ottenere un quadro clinico integrato. Le ricerche in corso presso il nostro Laboratorio sono particolarmente indirizzate allo studio dei segnali EEG in congiunzione con immagini da risonanza funzionale.

## REPORT ATTIVITÀ SCIENTIFICA 2007-2008

### Ricerca Ministeriale Corrente 2007

- The Rehabilitating Shoe: un dispositivo indossabile per la riabilitazione a domicilio del paziente post-chirurgico, mediante monitoraggio del carico plantare.
- Architetture IT per l'integrazione di dispositivi domestici in applicazioni di home care (Itaca).
- Integrazione di processi riabilitativi in dispositivi elettronici per il controllo di un esoscheletro della mano realizzato con materiali a memoria di forma.

### Ricerca Ministeriale Corrente 2008

- ANGLE: Angle Notifier for Guessing Limb Elevation.
- Indagine conoscitiva sui rischi connessi all'esposizione a campi magnetici ultraalti. Analisi delle problematiche con l'ausilio di simulazioni.

### Ricerche varie

Progetto finanziato dalla Fondazione Cariplo  
Partecipazione Laboratorio Bioingegneria: Gianluigi Reni – IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini  
"HEALTH INNOVATION NETWORK TECHNOLOGY @ LECCO" - HINT@LECCO  
Inizio ricerca 21/05/04 – Fine ricerca 31/12/07

## VALUTAZIONE RICADUTE CLINICHE (ASPETTO “TRASLAZIONALE” DELLE RICERCHE CONDOTTE)

I dispositivi realizzati dal Laboratorio sono utilizzabili per la diagnostica e la riabilitazione.

### *Sistema per la stimolazione oculomotoria nei soggetti in età pediatrica*

Permette di ottenere informazioni sul sistema visuo-oculomotore, uno dei sistemi sensoriali normalmente utilizzati per ottenere un corretto orientamento spaziale. L'analisi dei movimenti oculari costituisce inoltre un mezzo per effettuare una migliore diagnosi neurologica, in particolare per individuare patologie troncoencefaliche e cerebellari. Rispetto ad analoghi dispositivi commerciali, lo stimolatore realizzato è in grado di fornire una più vasta gamma di tipologie di stimoli visivi, anche complessi, e di rispondere alle esigenze di pazienti in età pediatrica o con limitata capacità di collaborazione.

### *Apparecchiatura per la valutazione della verticale propriocettiva*

Consente di indagare la percezione di verticalità che si ottiene attraverso i canali propriocettivi. Utilizza una tecnologia innovativa (M.E.M.S.), caratterizzata da una miniaturizzazione spinta di elementi semiconduttori in congiunzione con elementi elettromeccanici o chimici. Lo strumento è in grado di trasmettere i dati in modalità wireless dai sensori ad una unità di elaborazione remota, senza fornire punti di riferimento al paziente durante l'esecuzione del test. Il software appositamente sviluppato provvede alla ricostruzione e visualizzazione tridimensionale della posizione del rilevatore rispetto all'ambiente e al calcolo dei parametri clinici.

### *SOGNO: Sistema di Orientamento, Guida e Navigazione automatizzato all'interno di edifici pubblici*

È un dispositivo portatile in grado di fornire funzioni di NAVIGAZIONE: capacità di segnalare in anticipo la presenza di ostacoli fissi come scale, rampe, scivoli; ORIENTAMENTO: possibilità di conoscere la propria posizione all'interno dell'ambiente attrezzato; GUIDA: possibilità di predisporre molteplici percorsi lungo i quali il soggetto può essere accompagnato automaticamente.

Può essere facilmente utilizzato da qualunque tipologia di soggetti, ad esempio soggetti non vedenti, soggetti vedenti con difficoltà di orientamento spaziale, soggetti normodotati.

È configurabile ed adattabile ad ogni edificio, permettendo di attrezzare diversi ambienti con una in-

stallazione estremamente semplice e costi esigui.

### *Dispositivo indossabile RF-ID per l'identificazione automatica del paziente e del personale in ospedale*

È costituito da un badge con tecnologia RF-ID che può essere utilizzato all'interno delle strutture ospedaliere. Il sistema è stato integrato con il software di gestione documenti clinici in uso in Istituto, introducendo miglioramenti anche nel campo della sicurezza: per esempio si mascherano i dati sensibili quando l'operatore si allontana dalla postazione di lavoro e si riattiva l'accesso al suo ritorno.

### *Dispositivo elettronico di controllo per un'ortesi, in particolare per un'ortesi atta ad essere applicata ad una mano di un paziente*

È un sistema di controllo che ha la funzione di governare gli attuatori, realizzati in materiale a memoria di forma, che costituiscono una ortesi per la riabilitazione della mano. Permette di far muovere ogni attuatore in modo indipendente dagli altri, secondo schemi programmabili dal terapeuta in modo personalizzato per ciascun paziente. In questo modo il paziente può seguire percorsi riabilitativi ad hoc, direttamente al proprio domicilio.

La sperimentazione di modelli e tecnologie per la gestione di dati di pazienti ha portato alla messa in funzione in Istituto di un sistema completo di gestione documentale del paziente, Clinsuite, che supporta l'attività quotidiana del personale nella pianificazione dei percorsi di trattamento, nella produzione dei referti, nella distribuzione delle informazioni.

Integrato con Clinsuite è stato anche rilasciato il sistema Meals, che acquisisce le richieste di alimentazione dei pazienti e le trasmette alla cucina per l'opportuna lavorazione.

## PUBBLICAZIONI PRODOTTE

Molteni E., Bianchi A. M., Butti M., Reni G., Zucca C. (2007); ANALYSIS OF THE DYNAMICAL BEHAVIOUR OF THE EEG RHYTHMS DURING A TEST OF SUSTAINED ATTENTION; Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. (1) 1298 – 1301

Molteni E, Bianchi AM, Butti M, Reni G., Zucca C.; COMBINED BEHAVIORAL AND EEG POWER ANALYSIS IN DAI IMPROVE ACCURACY IN THE ASSESSMENT OF SUSTAINED ATTENTION DEFICIT, Ann Biomed Eng, 2008 Jul; 36(7):1216-27.

## BREVETTI

NAZIONALE

Titolare: IRCCS “Eugenio Medea” – Associazione

La Nostra Famiglia

Inventori: Matteo Cavalleri, Gianluigi Reni

APPARECCHIATURA PER IL RILEVAMENTO DELLE CONDIZIONI DI DEAMBULAZIONE DI UN INDIVIDUO.

Data deposito: 19/12/2006

N. della domanda/Appln. No. MI2006A002437

NAZIONALE

Titolare: IRCCS “Eugenio Medea” – Associazione

La Nostra Famiglia

Inventori: Matteo Cavalleri, Gianluigi Reni, Daniela Biolo

DISPOSITIVO ELETTRONICO DI CONTROLLO PER UN'ORTESI, IN PARTICOLARE PER UN'ORTESI ATTA AD ESSERE APPLICATA AD UNA MANO DI PAZIENTE.

Data deposito: 19/12/2007

N. della domanda/Appln. No. MI2007A2370

NAZIONALE

Titolare: IRCCS “Eugenio Medea” – Associazione

La Nostra Famiglia

Inventori: Matteo Cavalleri, Gianluigi Reni

DISPOSITIVO PER IL RILEVAMENTO DI ANGOLI FORMATI IN CORRISPONDENZA DI ARTICOLAZIONI DEL CORPO UMANO.

Data deposito: pratica in corso

# LINEA DI RICERCA N. 7

## BIOINFORMATICA

### RESPONSABILI:

**UBERTO POZZOLI**  
**MANUELA SIRONI**

### UBERTO POZZOLI

Nato a Lecco il 12.10.1965



#### Corso di studi

- 1994 Laurea in ingegneria ad indirizzo Bioingegneria, Politecnico di Milano.

#### Esperienze professionali

- 1995-2002: consulenze presso ospedali, università e aziende.
- 1995-oggi: ricercatore presso l'IRCCS "E. Medea", Associazione La Nostra Famiglia, laboratorio di bioinformatica.

#### Estratto delle pubblicazioni

Pozzoli U, Menozzi G, Fumagalli M, Cereda M, Comi GP, Cagliani R, Bresolin N, Sironi M.; BOTH SELECTIVE AND NEUTRAL PROCESSES DRIVE GC CONTENT EVOLUTION IN THE HUMAN GENOME. *BMC Evol Biol.* 2008 Mar 27;8:99

Pozzoli U, Menozzi G, Comi GP, Cagliani R, Bresolin N, Sironi M.; INTRON SIZE IN MAMMALS: COMPLEXITY COMES TO TERMS WITH ECONOMY. *Trends Genet.* 2007 Jan;23(1):20-4

Sironi M, Menozzi G, Comi GP, Cagliani R, Bresolin N, Pozzoli U.; ANALYSIS OF INTRONIC CONSERVED ELEMENTS INDICATES THAT FUNCTIONAL COMPLEXITY MIGHT REPRESENT A MAJOR

SOURCE OF NEGATIVE SELECTION ON NON-CODING SEQUENCES. *Hum Mol Genet.* 2005 Sep 1;14(17):2533-46

Sironi M, Menozzi G, Comi GP, Bresolin N, Cagliani R, Pozzoli U.; FIXATION OF CONSERVED SEQUENCES SHAPES HUMAN INTRON SIZE AND INFLUENCES TRANSPOSON-INSERTION DYNAMICS. *Trends Genet.* 2005 Sep;21(9):484-8

Battaglia M, Ogliari A, Zanoni A, Citterio A, Pozzoli U, Giorda R, Maffei C, Marino C.; INFLUENCE OF THE SEROTONIN TRANSPORTER PROMOTER GENE AND SHYNESS ON CHILDREN'S CEREBRAL RESPONSES TO FACIAL EXPRESSIONS. *Arch Gen Psychiatry.* 2005 Jan;62(1):85-94

### MANUELA SIRONI

Nata a Como il 30.11.1971



#### Corso di studi

- 1995 Laurea in Scienze Biologiche, Università degli Studi di Milano.
- 2001 Specializzazione in Genetica Applicata, Università degli Studi di Milano.

#### Esperienze professionali

- 1996-1998: borsa di studio presso la Clinica Neurologica dell'Ospedale Maggiore Policlinico, Milano. Campo d'interesse: miopatie mitocondriali, genetica delle distrofie muscolari;
- 1998-oggi: ricercatrice presso l'IRCCS "E. Medea" - Associazione La Nostra Famiglia, laboratorio di bioinformatica.

**Estratto delle pubblicazioni**

Pozzoli U, Menozzi G, Fumagalli M, Cereda M, Comi GP, Cagliani R, Bresolin N, Sironi M.; BOTH SELECTIVE AND NEUTRAL PROCESSES DRIVE GC CONTENT EVOLUTION IN THE HUMAN GENOME. *BMC Evol Biol.* 2008 Mar 27;8:99

Pozzoli U, Menozzi G, Comi GP, Cagliani R, Bresolin N, Sironi M.; INTRON SIZE IN MAMMALS: COMPLEXITY COMES TO TERMS WITH ECONOMY. *Trends Genet.* 2007 Jan;23(1):20-4

Sironi M, Menozzi G, Comi GP, Cagliani R, Bresolin N, Pozzoli U.; ANALYSIS OF INTRONIC CONSERVED ELEMENTS INDICATES THAT FUNCTIONAL COMPLEXITY MIGHT REPRESENT A MAJOR SOURCE OF NEGATIVE SELECTION ON NON-CODING SEQUENCES. *Hum Mol Genet.* 2005 Sep 1;14(17):2533-46

Sironi M, Menozzi G, Comi GP, Bresolin N, Cagliani R, Pozzoli U. FIXATION OF CONSERVED SEQUENCES SHAPES HUMAN INTRON SIZE AND INFLUENCES TRANSPOSON-INSERTION DYNAMICS. *Trends Genet.* 2005 Sep;21(9):484-8

Bardoni A, Sironi M, Felisari G, Comi GP, Bresolin N.: ABSENCE OF BRAIN DP140 ISOFORM AND COGNITIVE IMPAIRMENT IN BECKER MUSCULAR DYSTROPHY. *Lancet.* 1999 Mar 13;353(9156):897-8

**COLLABORATORI**

Rachele Cagliani

Biologa

Giorgia Menozzi

Matematica

Stefania Riva

Tecnica di laboratorio

Matteo Cereda

Bioingegnere

Matteo Fumagalli

Bioingegnere

**INDIRIZZI STRATEGICI GENERALI**

Il completamento del progetto genoma ha indicato che i geni umani sono molti meno di quanto ci si aspettasse e che la porzione genomica codificante rappresenta meno del 2%. Inoltre, la disponibilità delle sequenze genomiche di altri organismi ha consentito il confronto con quella umana identi-

cando un grande numero di sequenze conservate non codificanti e con funzione ignota. Studi recenti hanno inoltre dimostrato che circa il 60% del nostro genoma è trascritto e che molti trascritti rappresentano categorie molecolari “nuove” come, ad esempio, RNA antisenso o microRNA con probabile funzione regolatoria. Infine, alcuni lavori recenti hanno dimostrato che mutazioni in sequenze conservate non codificanti rappresentano la causa di patologie genetiche umane. Risulta evidente che lo studio delle regioni non codificanti del genoma umano rappresenta una delle sfide della genetica moderna.

Un obiettivo fondamentale della linea di ricerca in bioinformatica è proprio lo studio di tali sequenze, con particolare attenzione alla loro evoluzione e caratterizzazione funzionale.

Inerente a queste tematiche è lo studio dei meccanismi che regolano i fenomeni di splicing alternativo in cui le regioni non codificanti (e probabilmente anche i trascritti anti-senso) svolgono un ruolo importante. In particolare sequenze conservate introniche spesso rappresentano regolatori dell'efficienza di splicing. Analisi computazionali di sequenze conservate introniche hanno consentito di identificare nuovi elementi regolatori di splicing tessuto-specifici. Ma anche questo campo è aperto a nuove indagini, sia riguardo all'identificazione di regolatori in cis, sia per quanto concerne l'analisi di possibili trans-regolatori quali RNA-antisenso.

Un altro aspetto importante dell'attività di ricerca in bioinformatica riguarda lo studio di elementi genomici non codificanti nella regolazione di geni muscolo-specifici e l'identificazione di nuovi trascritti non-coding a funzione regolatoria con espressione muscolare. Ciò consente una migliore comprensione degli eventi molecolari coinvolti nei processi di differenziamento, crescita e apoptosi delle cellule muscolari e, auspicabilmente, l'identificazione di nuovi target mutazionali o loci modificatori.

Un altro indirizzo della linea di ricerca in bioinformatica riguarda lo studio degli eventi di ricombinazione legittima e illegittima nel genoma umano, con particolare attenzione ai meccanismi molecolari responsabili di aberrazioni cromosomiche e delezioni intrageniche. In questo ambito l'utilizzo di metodiche statistiche e computazionali rappresenta un utile strumento per l'identificazione di elementi strutturali o di sequenza che abbiano un ruolo nell'origine degli eventi di ricombinazione.

Infine l'esperienza maturata nell'impiego e nella messa a punto di strumenti di calcolo specifici e nella gestione dei database biologici ha consentito di evidenziare una serie di problematiche relative

alla condivisione dei dati e dei formati per un efficiente impiego mediante diversi software comunemente impiegati nel campo. Per questa ragione è stato sviluppato un sistema software in grado di integrare in maniera semplice e rapida diverse risorse di calcolo e sorgenti di dati, rendendone al contempo la fruizione semplice e immediata anche da parte di un pubblico non specialistico attraverso semplici e intuitive interfacce web.

## REPORT ATTIVITÀ SCIENTIFICA 2007-2008

### Ricerche Ministeriali Correnti 2007-2008

- Identificazione, analisi e caratterizzazione funzionale di SNPs, MCS ed elementi trasponibili nel genoma umano: le potenzialità dell'uso combinato di divergenza interspecifica e variabilità intraspecifica”.
- Identificazione sistematica di regolatori genici “cis-acting” specifici per il tessuto muscolare attraverso genomica comparativa e screening funzionale in vitro.

## VALUTAZIONE RICADUTE CLINICHE (ASPETTO “TRASLAZIONALE” DELLE RICERCHE CONDOTTE)

Il completo sequenziamento del genoma umano, così come di altre specie, va considerato più un punto di partenza che di arrivo. La sfida che questa grande mole di dati pone oggi è quella di comprenderne il funzionamento a tutti i livelli. È ormai superato l'approccio gene/proteina che ha pur dato risultati importantissimi in passato ma che oggi mostra tutti i suoi limiti nel fornire strumenti per la comprensione dei meccanismi patogenetici. Si sa che i nostri (relativamente pochi) geni interagiscono in modi complessi non solo a livello dei loro prodotti (le proteine) ma anche a livello genomico. La regolazione dell'espressione, l'editing post-trascrizionale, l'esistenza di forme alternative di splicing e, in generale, i fenomeni epigenetici sono meccanismi fondamentali e complessi per la cui comprensione abbiamo ancora moltissima strada da fare. Chiarirne il funzionamento è importante non solo da un punto di vista conoscitivo, ha implicazioni fondamentali nell'impiego di approcci innovativi alla cura e alla riabilitazione. Terapia geni-

ca, farmacogenomica, impiego di cellule staminali sono approcci nuovi e promettenti che necessitano di queste conoscenze per esprimere tutto il loro potenziale. Lo studio dei meccanismi che operano a vari livelli nel genoma umano ha dunque delle ricadute cliniche fondamentali, dalle più dirette, come ad esempio l'individuazione di target diagnostici finora ignoti, a quelle più sottili, ma non per questo meno importanti, che la disponibilità di conoscenze di questo tipo può indurre tra i clinici che hanno in tal modo a disposizione strumenti conoscitivi nuovi e in grado di affrontare problematiche difficili anche solo da immaginare fino a pochissimo tempo fa. Il nostro scopo è quello di rendere condivisi e fruibili i risultati ottenuti dall'attività di ricerca, anche attraverso lo sviluppo di appositi strumenti e interfacce informatiche.

## PUBBLICAZIONI PRODOTTE

Pozzoli U, Menozzi G, Fumagalli M, Cereda M, Comi GP, Cagliani R, Bresolin N, Sironi M.; BOTH SELECTIVE AND NEUTRAL PROCESSES DRIVE GC CONTENT EVOLUTION IN THE HUMAN GENOME. *BMC Evol Biol.* 2008 Mar 27;8:99

Pozzoli U, Menozzi G, Comi GP, Cagliani R, Bresolin N, Sironi M.; INTRON SIZE IN MAMMALS: COMPLEXITY COMES TO TERMS WITH ECONOMY. *Trends Genet.* 2007 Jan;23(1):20-4

Arnoldi A, Tonelli A, Crippa F, Villani G, Pacelli C, Sironi M, Pozzoli U, D'Angelo MG, Meola G, Martinuzzi A, Crimella C, Redaelli F, Panzeri C, Renieri A, Comi GP, Turconi AC, Bresolin N, Bassi MT.; A CLINICAL, GENETIC, AND BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF SPG7 MUTATIONS IN A LARGE COHORT OF PATIENTS WITH HEREDITARY SPASTIC PARAPLEGIA. *Hum Mutat.* 2008 Apr;29(4):522-31

Sironi M, Menozzi G, Comi GP, Cereda M, Cagliani R, Bresolin N, Pozzoli U. (2006); GENE FUNCTION AND EXPRESSION LEVEL INFLUENCE THE INSERTION/FIXATION DYNAMICS OF DISTINCT TRANSPOSON FAMILIES IN MAMMALIAN INTRONS. *Genome Biol.* 7(12):R120

# LINEA DI RICERCA N. 8

## ORGANIZZAZIONE DEI SERVIZI SANITARI

### RESPONSABILE

#### DAMIANO RIVOLTA

Nato a Como il 21.07.1971



#### Corso di studi

- Laureato in Ingegneria Gestionale presso il Politecnico di Milano a.a. 1998/1999 con una tesi su "Applicazioni strategiche della tecnologia internet nelle imprese di servizi".
- Ha frequentato numerosi corsi di organizzazione e management quali, ad esempio, "La Progettazione della Struttura Organizzativa", il "Project Management", "L'organizzazione delle aziende sanitarie".

#### Esperienze professionali

- Dal gennaio 1999 al febbraio 2005 ha lavorato come Management Consultant nella divisione "Sanità" della società di consulenza "Galgano & Associati" di Milano.
- Tra i principali progetti seguiti vi sono:
  - La definizione del Piano di Organizzazione dell'Istituto dei Tumori di Milano.
  - L'analisi della spesa sanitaria nella Regione Liguria.
  - La realizzazione dei Dipartimenti nell'Azienda Sanitaria Locale di Carbonia (Ca).
  - La progettazione ed implementazione del Sistema di Gestione per la Qualità di numerose aziende sanitarie pubbliche e private quali, ad esempio, il Policlinico di Milano, I.C.P. Milano, A.O. Ospedali Riuniti di Bergamo.
- A febbraio 2005 viene assunto dall'Associazione La Nostra Famiglia nel settore organizzazione

con la responsabilità di favorire lo sviluppo del sistema qualità nei Poli dell'Associazione e supportare la Direzione Generale in particolari progetti di organizzazione.

- A gennaio 2007 assume l'incarico di Coordinatore Organizzativo della Sede di Bosisio Parini entrando a far parte del Comitato Direttivo della Sede.
- A gennaio 2008 diviene Vice Direttore Generale Regionale per le sedi della Regione Lombardia con delega particolare alla gestione della Sede di Bosisio Parini.

#### Attività Didattica

- Dal 2001 al 2005 è stato docente per i corsi IREF-SDS in collaborazione, nelle diverse edizioni, con gli Istituti Clinici di Perfezionamento di Milano, l'Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori di Milano, l'ASL della Provincia di Sondrio.
- Negli anni accademici 2005 - 2006 e 2006 - 2007 è stato docente e responsabile del corso integrato di "Organizzazione Aziendale" del terzo anno del Corso di Laurea per Educatori Professionali dell'Università dell'Insubria di Varese/Como.
- È stato docente in numerosi Corsi accreditati per il Programma Ministeriale ECM (Educazione Continua in Medicina) attinenti l'Organizzazione Aziendale, lo sviluppo della Qualità dei Servizi, il Project Management.

#### INDIRIZZI STRATEGICI GENERALI

L'indirizzo generale della ricerca che l'Istituto sviluppa nel settore dedicato alla organizzazione dei servizi sanitari espressamente riferiti alla cura e riabilitazione delle disabilità in età evolutiva affronta l'evoluzione delle tecniche diagnostiche e riabilitative valutando la loro efficacia ed efficienza in termini di outcome rispetto alle risorse impiegate.

L'Istituto ha inteso affrontare alcuni profili di indagine che vengono suggeriti da problematiche nuove che derivano da tale quadro, il quale evoca, anzitutto, la necessità di ripuntualizzare strumenti affidabili ed efficaci al fine di definire il profilo funzionale del paziente.

L'acquisizione di nuove ipotesi patogenetiche e la maturazione di nuovi modelli neurofisiologici, che determinano a loro volta l'introduzione di innovative modalità di presa in carico del soggetto, tendono a scomporre il quadro di una uniforme applicazione di protocolli, per cui diventa importante verificare, attraverso una ricognizione degli approcci riabilitativi nelle disabilità neuropsichiche complesse, come si distribuiscono nelle nostre Regioni e tra diversi Paesi europei i punti di contatto e quelli di divergenza, in vista di una ricomposizione di linee di intervento convalidate e condivise.

Tale percorso di ragionata omogeneizzazione dei percorsi terapeutico-riabilitativi ha ovviamente bisogno di rapportarsi a strumenti attendibili di misurazione dell'efficacia del trattamento, che diano conto della "qualità della vita associata allo stato di salute", cioè di un parametro in cui confluiscono elementi oggettivi e percezioni soggettive.

Alla luce di questi parametri, diventa fondamentale quantificare non il mero assorbimento di risorse di un percorso riabilitativo, ma anche le successive ricadute e risparmi in termini di "costo sociale" durante la vita del paziente.

In un contesto che evolve rapidamente sotto il profilo tecnico, è necessario sviluppare una progettualità che, secondo una connotazione operativo-professionale di larga interdisciplinarietà, consenta di creare modelli a "rete" costituiti da una fattuale e concreta presenza di strutture ad hoc che permettano idealmente una uniforme facoltà di accesso ai servizi, creando diversi livelli assistenziali dove indirizzare le diverse esigenze e bisogni.

Diventa, altresì, evidentemente di estremo interesse studiare - in stretta connessione al territorio - dove si presentino eventuali colli di bottiglia che, al contrario, limitino o rendano diseguale, per diversi raggruppamenti di cittadini, l'esercizio del proprio diritto alla salute e l'effettiva fruizione delle nuove potenzialità offerte dallo sviluppo della ricerca scientifica.

## REPORT ATTIVITÀ SCIENTIFICA 2007-2008

Ente proponente: CCM Ministero della salute - Agenzia Regionale della Sanità Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia; Ente coordinatore: Agenzia Regionale della Sanità Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia

MESSA A PUNTO DI PROTOCOLLI DI VALUTA-

ZIONE DELLA DISABILITA' BASATI SUL MODELLO BIOPSIOSOCIALE E LA STRUTTURA DESCRITTIVA DELLA CLASSIFICAZIONE INTERNAZIONALE DEL FUNZIONAMENTO DISABILITA' E SALUTE (ICF9)

Periodo di riferimento: 27.09.2007-21.05.2009

## PUBBLICAZIONI PRODOTTE

Pradal M. (2007); LA CLASSIFICAZIONE ICF: PROSPETTIVE DI RICERCA; L'Integrazione Scolastica e Sociale, 6/1:60-75

Martinuzzi A, Frare M, Pradal M, Mion M, Dugone S, Durante M, Corò A, Francescutti C, Leonardi M. (2008); DISSEMINATING THE WHO INTERNATIONAL CLASSIFICATION OF FUNCTIONING HEALTH AND DISABILITY (ICF) IN THE VENETO REGION OF ITALY. Disability and Rehabilitation, 30(1):71-80

## LINEA DI RICERCA N. 9 BIOETICA

### RESPONSABILE:

#### LEONARDO LENZI

Nato a Firenze il 28.03.1962



#### Istruzione

- Laurea in Teologia presso la Pontificia Università Lateranense con votazione *Summa cum Laude* (1994).
- Specializzazione in Antropologia Teologica in corso presso la Facoltà Teologica dell'Italia Centrale – Firenze.
- Corso di Perfezionamento in Bioetica presso l'Università Cattolica del Sacro Cuore – sede di Roma (1998).
- Corsi di formazione in Bioetica (livello base/avanzato) presso la Fondazione Lanza (PD) (1997-1998).

#### Esperienze professionali e Attività Didattica

- Docente di Teologia Morale Generale e Speciale presso l'Università Cattolica del Sacro Cuore – sede di Milano.
- Docente di Bioetica e Deontologia Professionale nei Corsi OSS, post-diploma e post-laurea, promossi e organizzati dall'Associazione La Nostra Famiglia – sede di Bosisio Parini (LC).
- Componente esperto presso il Comitato di Etica dell'I.R.C.C.S. "Eugenio Medea".
- Docente del modulo "Mediazione dei conflitti in ambito sanitario" all'interno del Master Universitario di I livello *Il lavoro sociale in ambito clinico sanitario* (Università Cattolica del Sacro

Cuore).

- Docente Coordinatore dell'ambito *Etica della Cura* presso la Fondazione "Angelo Abriani" – Accademia della Carità – Milano.
- Dal 1997 al 2004 Ricercatore e borsista presso il Centro di Bioetica dell'Istituto Auxologico Italiano IRCCS (diretto dal Prof. Luciano Eusebi).

#### Pubblicazioni (ambito bioeticistico)

- "Medicina predittiva: un approccio antropologico" in C. Bresciani (ed.) *Genetica e medicina predittiva: verso un nuovo modello di medicina?*, Milano: Giuffrè 2000
- "Sul crinale fra due abissi: etica e neuroscienze" in L. Lenzi (ed.) *Neurofisiologia e teorie della mente - Etica e neuroscienze*, Vita e Pensiero 2005

#### INDIRIZZI STRATEGICI GENERALI

La linea di ricerca dedicata alla bioetica si propone di affiancare l'attività clinica e di sperimentazione dell'Istituto, non soltanto considerando i profili etici delle ricerche e delle pratiche già in atto – e quindi rendendosi disponibile alle varie Unità Operative e in particolare al Comitato di Etica in relazione alle questioni su cui esso deve pronunciarsi – ma, laddove sia possibile, anticipando gli scenari moralmente problematici su cui andrà a situarsi la ricerca nei vari ambiti; il proposito è che – in accordo con la storia e i principi fondamentali ispiranti l'IRCCS "E. Medea" – l'etica, pur nella evidente consapevolezza dei propri limiti di metodo e di contenuto, possa attivamente contribuire anche all'orientamento della ricerca stessa, collaborando quindi a individuare le direzioni possibili verso le quali l'Istituto di muoverà nel futuro.

In sintonia con l'attenzione specifica dedicata dall'IRCCS "E. Medea", fin dalla sua fondazione, all'infanzia e in generale all'età evolutiva, principale obiettivo della linea di ricerca in bioetica sarà quello di prendere in esame i problemi ad essa relativi: non tanto nel tentativo di costruire

una bioetica *dell'infanzia*, ma piuttosto una bioetica *con l'infanzia*, ovvero includendo bambino e famiglia nell'unico orizzonte della cura.

Di seguito saranno indicate alcune macroquestioni di carattere bioetico e biogiuridico inevitabilmente collegate al trattamento del paziente bambino, adolescente e giovane adulto:

- *la decisione* in ordine al trattamento sanitario e il tema del *consenso*. Si tratta evidentemente di un orizzonte altamente problematico, su cui interagiscono concetti (come la *potestà genitoriale*) elaborati dal diritto in altra epoca e soprattutto in relazione a questioni di carattere patrimoniale e l'evidente diritto del minore ad essere coinvolto nelle decisioni sanitarie che lo riguardano, che certamente non può essere rinviato alla maggiore età. Così come in altri ambiti dell'esistenza umana, anche nell'ambito sanitario il bambino *opponesse resistenza* ad approcci giuridicamente o eticamente formalistici: è necessario lo sviluppo di pratiche giocate all'interno di un *buonsenso* (senso-buono, che include naturalmente in sommo grado il rigore argomentativo) progettuale che dovrà essere necessariamente partecipativo e collaborativo. All'interno di questo tema sarà preso in esame il rapporto del personale medico, infermieristico e sociale con il paziente bambino, con i problemi di segreto professionale, della comunicazione della diagnosi, della riservatezza;

- *il dolore* – particolarmente cronico - del paziente bambino. Si tratta di un elemento di difficilissima rappresentabilità. L'insopportabilità del dolore del bambino per la famiglia e anche per il personale sanitario rischia di influenzare le scelte sanitarie, con la conseguenza di concepire il bambino *in relazione all'adulto* e non *in sé*. L'etica medica diventa cruciale al cospetto del dolore del bambino, perché essa ha il compito di contribuire a indicare quali sono le vie per promuovere il miglior interesse del bambino stesso laddove la psicologia del paziente, dei genitori e del personale sanitario vengono messe duramente alla prova;

- *la famiglia* e il suo ruolo nella terapia. Le decisioni sanitarie prese su bambini nel contesto di relazioni familiari complesse (genitori separati o in dissenso, bambini affidati o in affidamento preadottivo). La presenza dei genitori accanto al bambino ospedalizzato. La famiglia come nucleo di assistenza alternativo all'ospedalizzazione, con differente modulazione della terapia e evidenti ricadute sociali quanto ai costi dell'in-

tervento e quindi all'allocazione delle risorse. Le patologie e i disturbi provocati dalle condizioni di disagio familiare. Le abitudini nocive al bambino dell'ambiente e della famiglia (fumo, sedentarietà, alimentazione irregolare o dannosa). Le malattie dei genitori e le relative cure in quanto si riflettono sul bambino;

- *la sperimentazione* clinica e farmacologica, con particolare riferimento alla sperimentazione su bambini particolari (neonati, con handicap, etc.);

- *la bioetica nella sua dimensione internazionale*. Quale bioetica possibile per i bambini e le famiglie nei paesi in via di sviluppo. Possibile uso dei concetti messi a punto dalla bioetica al fine di esigere il rispetto dei diritti umani fondamentali. La bioetica del bambino *immigrato* in Italia: mediazione *culturale*, ma anche *diagnostica e terapeutica*.

**RICERCHE  
MINISTERIALI  
CORRENTI 2007**

---

**RISULTATI**

## SCREENING AD ALTA RISOLUZIONE MEDIANTE CGH-ARRAY (COMPARATIVE GENOMIC HYBRIDIZATION) IN SOGGETTI CON QUADRO MALFORMATIVO COMPLESSO

**DOTT.SSA RITA GRASSO**

e-mail: RITA.GRASSO@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.1

Neuropatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

## RIASSUNTO

È noto che la frequenza dei riarrangiamenti cromosomici criptici in soggetti con ritardo mentale, associato o meno a dimorfismi e/o a malformazioni maggiori, è superiore al 15%. La loro identificazione rappresenta pertanto un passo importante verso la definizione del difetto genetico responsabile del quadro clinico del paziente e soprattutto verso il riconoscimento di geni responsabili di nuove patologie sindromiche.

Nel periodo gennaio 2005-dicembre 2007 l'applicazione della metodica CGH-array in un numeroso gruppo di soggetti con ritardo mentale e/o sindromi plurimalformative afferito al nostro Istituto è stata conclusa in 60 casi, permettendo di:

- determinare rapidamente e con precisione l'estensione di un riarrangiamento cromosomico (delezione o duplicazione) già individuato con le comuni tecniche di analisi citogenetiche (cariotipo ad alta risoluzione e FISH per le regioni cromosomiche subtelomeriche) in 14 casi;
- individuare la presenza di un riarrangiamento cromosomico de novo in 15 soggetti (riscontro di delezione in 13 casi e di duplicazione in 2 casi).

I risultati ottenuti confermano l'importanza di una metodica come CGH-array nell'inquadramento diagnostico di soggetti con ritardo mentale e sospetta sindrome plurimalformativa.

La corretta (e rapida) formulazione di una diagnosi

trova numerose ripercussioni nella pratica clinica quotidiana, permettendo di:

- pianificare un adeguato follow-up pediatrico/internistico e neuropsichiatrico;
- formulare una prognosi corretta;
- formulare un corretto programma terapeutico e riabilitativo;
- fornire ai familiari un aiuto nella scelta delle varie opzioni riproduttive.

L'uso di CGH-array si conferma infine importante anche nell'ambito della ricerca. L'individuazione di sbilanci cromosomici e la determinazione esatta dei punti di rottura rappresentano infatti il punto di partenza per la scelta di geni candidati coinvolti in quadri clinici specifici.

## STUDIO DELLA QUALITÀ DELLE CURE, DEI LIVELLI DI STIMOLAZIONE E DEI PROCESSI DI REGOLAZIONE PRECOCE DEL BAMBINO PRETERMINE COME FATTORI PREDITTIVI DELLA QUALITÀ DELLA RELAZIONE MADRE-BAMBINO

**DOTT. ROSARIO MONTIROSSO**

e-mail: ROSARIO.MONTIROSSO@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.1

Neuropatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

## RIASSUNTO

### Background

La nascita pretermine viene considerata una condizione di rischio organico e psicosociale per il successivo sviluppo del bambino. Tuttavia poco si sa degli effetti delle esperienze precoci di ospedalizzazione sull'outcome socio-relazionale.

### Obiettivi

La Ricerca Corrente (RC) 2007 fa parte di uno studio longitudinale multicentrico che ha come obiettivo principale la valutazione degli outcome della nascita pretermine in funzione sia delle cure e dei livelli di stimolazione socio-ambientale ricevuti dal neonato durante la degenza nei reparti di Terapia Intensiva Neonatale (TIN), sia in associazione con le precoci capacità di regolazione manifestate dal bambino. Nel corso della RC 2006 hanno preso avvio, presso nove TIN della Lombardia, le valutazioni relative alla prima fase dello studio (corrispondente al periodo nascita-dimissione). Nel corso del 2007 sono state eseguite una parte delle valutazioni relative alla seconda visita (corrispondente ai sei mesi d'età). Le valutazioni relative alla prima fase dello studio hanno preso in considerazione le seguenti aree di indagine: 1. profilo neuro-comportamentale del neonato pretermine valutato tramite la scala

NNNS; 2. livello di stimolazione socio-ambientale e qualità delle cure offerte al neonato nel corso del ricovero in TIN; 3. stato emotivo della madre. Gli aspetti valutati durante la seconda fase dello studio, invece, riguardano le competenze socio-relazionali del bambino a sei mesi d'età. Obiettivo principale del presente report è quello di analizzare i rapporti tra le suddette aree di indagine, individuando come i diversi aspetti connessi alla nascita pretermine interagiscono tra loro influenzando lo sviluppo socio-relazionale del bambino.

### Metodo e procedura

Per quanto riguarda la prima fase dello studio, il profilo neuro-comportamentale dei bambini pretermine è stato confrontato con quello di un gruppo di controllo; successivamente, è stato messo in relazione con il livello di *care* ricevuta dal neonato durante l'ospedalizzazione. A tal fine sono stati individuati tre livelli di *care* (ridotta, media, buona) sulla base della presenza di alcuni indicatori di attenzione per il benessere del neonato. Il livello di *care* della TIN è stato messo in relazione anche con lo stato emotivo delle madri dei bambini pretermine al momento della dimissione dal reparto. A sei mesi madri e bambini sono stati osservati durante la procedura di interazione faccia-a-faccia Still-Face. I comportamenti socio-emozionali mostrati dal bambino nel corso delle tre fasi del paradigma (Play, Still e Reunion) sono stati analizzati per verificare la predittività della nascita pretermine e di alcune scale dell'esame neuro-comportamentale relative alle precoci capacità di regolazione infantile.

### Risultati e discussione

I risultati evidenziano un'immaturità neurologica e comportamentale dei neonati pretermine rispetto al gruppo di controllo. Alcune caratteristiche neuro-comportamentali, inoltre, risultano influenzate dal tipo di *care* fornito dalle TIN, suggerendo che una maggior attenzione per il benessere del neonato è in grado di favorire il suo livello di attenzione e di reattività e di migliorare le risposte riflesse. Una adeguata qualità della *care* sembra incidere positivamente anche sullo stato psico-emotivo della madre. Indipendentemente dalla prematurità, la tendenza a spostare l'attenzione verso oggetti inanimati mostrata dal bambino durante l'episodio di Still-Face è predetta da una minore capacità di abituarsi agli stimoli durante l'esame neuro-comportamentale. Globalmente nella fase di Reunion una minore attenzione verso la madre risulta associata

a maggiori capacità di regolazione e di abitudine precoci e ad una buona capacità di orientare l'attenzione verso lo stimolo durante l'esame NNNS. La nascita pretermine predice invece un minore coinvolgimento positivo e una minore attenzione verso la madre nel corso della Reunion. Questi dati confermano una più generale difficoltà da parte dei bambini nati pretermine a stabilire scambi efficaci e ottimali con il proprio partner sociale e suggeriscono l'esistenza di un rapporto tra caratteristiche comportamentali precoci e reazioni emotivo-comportamentali del bambino nel primo anno di vita. Nel corso della RC 2008 si prevede il completamento dei database relativi alle misure della seconda visita di follow-up e un'analisi più esauriente dei rapporti intercorrenti tra i diversi fattori che influenzano lo sviluppo socio-relazionale dei bambini pretermine.

## **DEFICIT VISUO-COGNITIVI E DISTURBI DELLA OCULOMOZIONE IN SOGGETTI AFFETTI DA PARALISI CEREBRALE INFANTILE (QUADRI DI DIPRESI): FREQUENZA, DISTRIBUZIONE, TIPOLOGIA E CORRELAZIONI PER L'INQUADRAMENTO DIAGNOSTICO ED IL PROGETTO RIABILITATIVO**

**DOTT. RENATO BORGATTI**

e-mail: RENATO.BORGATTI@BPLNF.IT

### **Linea di ricerca n.1**

Neuropatologia

### **Tipo di ricerca**

Corrente

### **Periodo di svolgimento**

2007

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

## **RIASSUNTO**

La Paralisi Cerebrale Infantile (PCI) è definita solo in base al danno motorio, mentre la maggior parte dei soggetti a cui viene posta tale diagnosi presentano anche disordini a livello sensoriale, comunicativo e intellettuale e possono avere severe limitazioni nelle autonomie e alterazioni del comportamento.

La ricerca si pone l'obiettivo di costruire un protocollo integrato di diagnosi e riabilitazione per soggetti affetti da PCI diagnosticati come diplegici valutando, oltre che l'area motoria, anche le compromissioni neurovisive e neuropsicologiche.

La popolazione è composta da 87 soggetti indagati per quanto riguarda lo sviluppo motorio attraverso la Gross Motor Function Measure; per l'eventuale presenza di disturbo visivo di origine centrale (CVI) con visita neurovisiva che valutava nistagmo, fissazione, oculomozione, percezione, acuità visiva e strabismo; per quanto riguarda le compromissioni visuocognitive tramite i test VMI, TPV, TVPS e Figura di Rey.

Si sono inoltre considerate la presenza/assenza di epilessia e l'età gestazionale classificata in base ai criteri del Vermont Oxford Network, attra-

verso i quali il campione è stato suddiviso in 3 categorie.

I risultati confermano i dati in letteratura: nei soggetti con diagnosi di diparesi il danno motorio è in genere di lieve entità, la presenza di CVI è assai significativa e le compromissioni visuocognitive sono marcate soprattutto nelle aree visuocostruttive e mnestiche in output.

I soggetti gravemente prematuri sono risultati meno compromessi dei lievemente prematuri nello svolgimento di compiti di tipo visuocostruttivo.

Questo dato suggerisce l'ipotesi che soggetti nati in periodi diversi (prima o dopo la 30a settimana gestazionale) possano essere esposti a danni differenti in rapporto non tanto alla noxa patogena quanto alla diversa fase dello sviluppo neuroanatomico.

Tale ipotesi dovrà essere confermata con le indagini neuroradiologiche previste nel prossimo futuro.

## **SVILUPPO DEI PROCESSI DI ATTENZIONE E MEMORIA IN NEONATI SANI E NATI IN CONDIZIONI DI RISCHIO EVOLUTIVO**

**DOTT. ROSARIO MONTIROSSO**

e-mail: ROSARIO.MONTIROSSO@BPLNF.IT

### **Linea di ricerca n.1**

Neuropatologia

### **Tipo di ricerca**

Corrente

### **Periodo di svolgimento**

2007

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

## **RIASSUNTO**

### **Background**

Quotidianamente a partire dai primi mesi di vita i bambini sono sottoposti ad un range di eventi socio-emozionali stressanti "normali", quali ad esempio, attendere che l'adulto soddisfi i loro bisogni. Tuttavia, molto poco è conosciuto circa la memoria del bambino di questi eventi stressanti e di come le differenze nel comportamento (inteso sia come profilo temperamentale che come risposta osservabile) e nella reattività fisiologica possano influenzare la memoria.

### **Obiettivo generale**

L'obiettivo generale della ricerca è indagare la memoria del bambino piccolo per uno stress socio-emozionale (la non responsività materna), valutando gli effetti di questo evento sia sulla reattività comportamentale che su quella fisiologica. Per ottenere una condizione stressante si utilizza il paradigma Still-Face, nel corso del quale il bambino è esposto ad uno stress socio-emozionale ottenuto tramite la richiesta fatta alla madre di guardare il bambino senza toccarlo e mantenendo il proprio volto inespressivo. Un numero elevato di studi ha dimostrato che questa condizione produce una tipica reazione nel bambino (definita come "effetto still-face") caratterizzata da un decremento del coinvolgimento positivo e un concomitante incremento del coinvolgimento negativo e di comportamenti auto-regolatori (ad esempio, la comparsa

della suzione non-nutritiva). Nel corso della condizione di non responsività materna i bambini manifestano inoltre segni fisiologici di stress, così come la riduzione del tono del nervo vago e l'attivazione dell'asse ipotalamo ghiandola pituitaria che controlla i livelli di cortisolo.

### Obiettivi intermedi per l'anno 2007

Presso il nostro laboratorio vi è una lunga esperienza sull'utilizzo del paradigma Still-Face e sull'applicazione di sistemi di codifica comportamentale del bambino piccolo e della madre. Tuttavia per rendere operativi gli obiettivi della ricerca è stato necessario attrezzare il laboratorio e implementare le misure di reattività fisiologica previste dal protocollo. Conseguentemente nel corso di quest'anno l'attività si è concentrata su alcuni step preliminari sia di natura organizzativa che metodologica. Dal punto di vista organizzativo è stato necessario individuare una strumentazione che andasse oltre i comuni elettrocardiografi. Ovvero un sistema in grado di acquisire il segnale ECG (da cui derivare le misurazioni dell'attività del tono del nervo vago) in contemporanea con le immagini video provenienti dalle due telecamere utilizzate per la procedura Still-Face. Dal punto di vista metodologico è stato necessario: 1. implementare un algoritmo per analizzare le variazioni dell'attività cardio-respiratoria (tono del nervo vago); 2. implementare la raccolta e l'analisi dei campioni salivari.

### Metodo e procedura

Sulla base del metodo sviluppato da Porges è stato messo a punto un algoritmo matematico che utilizza le applicazioni del software Mat-Lab. E' stato inoltre condotto uno studio pilota sia con adulti che cinque bambini. Questi ultimi hanno partecipato con le loro madri a due registrazioni la prima a 4 mesi e la seconda dopo un periodo di 15 giorni. In entrambe le sessioni sono stati effettuati prelievi di saliva prima e dopo la situazione di stress sperimentale indotto. I campioni salivari ottenuti sono stati utilizzati per standardizzare le procedure di laboratorio.

### Risultati e discussione

Sono stati eseguiti test per verificare l'operativa del software relativo all'analisi dell'attività cardio-respiratoria. Sono inoltre state applicate le procedure di analisi biologica del cortisolo salivare. Nel corso della RC 2008 è previsto l'avvio delle videoregistrazioni delle diadi madre-bambino con l'applicazione completa del protocollo di studio.

## MODELLI DI NEUROTOSSICITÀ ENDOGENA ED ESOGENA NEL DANNO NEUROLOGICO DELLE SFINGOLIPIDOSI E POSSIBILI APPROCCI TERAPEUTICI

### DOTT. DOMENICO RESTUCCIA

e-mail: RESTUCCIA@PPLNF.IT

#### Linea di ricerca n.1

Neuropatologia

#### Tipo di ricerca

Corrente

#### Periodo di svolgimento

2007

#### Polo scientifico

San Vito al Tagliamento

### RIASSUNTO

Il primo anno di attività di questo progetto di ricerca corrente si è focalizzato sulla selezione di un numero di pazienti con sfingolipidosi come casistica su cui valutare l'efficacia terapeutica del farmaco miglustat, come attività prevista nella prosecuzione della ricerca stessa. In questo primo anno di attività sono stati valutati clinicamente 6 pazienti con sospetta malattia di Niemann-Pick tipo C (3 femmine e 3 maschi; range d'età 4-16 anni).

Il sospetto diagnostico clinico di malattia di Niemann Pick di tipo C è stato confermato tramite analisi genetico molecolare e biochimico sui fibroblasti degli affetti. I risultati dell'analisi di tipo biochimico confermano e correlano con il quadro clinico, indicando che la mancanza completa e totale della proteina NPC1 si associa a un quadro grave e con insorgenza precoce, mentre livelli basali residui anche minimi di proteina sono associabili a un fenotipo meno grave e insorgenza ad età variabile.

La definizione del difetto molecolare in questa patologia costituisce uno step essenziale nella selezione di una casistica di pazienti da sottoporre a trial clinico per poter poi valutare più correttamente l'efficacia di qualsiasi farmaco si voglia poi testare.

## PROGETTO SULLE CORRELAZIONI FENOTIPO/GENOTIPO NELLA SINDROME DI RETT

**DOTT.SSA ALEXANDRA LIAVA**

e-mail: ALEXANDRA.LIAVA@CN.LNF.IT

### Linea di ricerca n.1

Neuropatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Conegliano

## RIASSUNTO

### Obiettivi

- Identificare correlazioni genotipo fenotipo, focalizzandosi sui parametri clinici dell'epilessia e della scoliosi.
- Individuare parametri clinici importanti per la prognosi e costituire uno score.
- Stabilire relazione tra diversi parametri (EEG, scoliosi, Q-T lungo, respirazione) e individuare aspetti specifici di diversi fenotipi.
- Valutare la correttezza di un modello patogenetico della scoliosi.
- Contribuire alla conoscenza della base patofisiologica del disordine.
- Delineare un protocollo modulare diagnostico riabilitativo globale e multisistemico.
- Ottimizzare l'efficienza degli interventi per far fronte ai complessi bisogni delle pazienti e delle famiglie.
- Ottenere un accurato e completo profilo funzionale della bambina con la sindrome di Rett.

### Metodi

Estrazione di DNA e trattamento per ottenere linee cellulari linfoblastoidi, in collaborazione con il Dipartimento di genetica molecolare dell'IRCCS "E. Medea", sede di Bosisio Parini e il Dipartimento di biologia strutturale e funzionale dell'Università dell'Insubria, prof.ssa Landsberger. Identificazione del gene (MECP2 o CDKL5), del

tipo di mutazione (missense, early truncating, late truncating, delezione parziale o totale), dell'alterazione nucleotidica e proteica.

Accurato studio longitudinale clinico, neurofisiologico, riabilitativo: valutazioni neurologiche, fisiatrichie, fisioterapiche, pneumologiche, monitoraggio EEG telemetria con EMG, ECG e PNG.

Applicazione di un protocollo diagnostico riabilitativo:

A Processo di definizione clinico diagnostica e valutazione funzionale, attraverso screening preliminare, visita neurologica ed indagini genetiche, neuroradiologiche e neurofisiologiche, visite specialistiche e valutazione delle funzioni adattive.

B Definizione funzionale, delineazione del progetto riabilitativo/educativo altamente individualizzato, sintesi diagnostica integrata.

C Realizzazione del progetto riabilitativo intensivo individualizzato, verifica dei piani di trattamento, individuazione di risorse presso il centro o il territorio, pianificazione di interventi con la famiglia.

D Gestione dell'evoluzione clinica e delle complicanze: epilessia, eventi parossistici non epilettici, difficoltà cardiorespiratorie, scoliosi e perdita delle funzioni prassico-motorie.

### Attività previste

- Fase 0: accoglimento di pazienti  
definizione clinico diagnostica
- Fase 1: valutazione clinico funzionale con visite specialistiche ed esami strumentali  
raccolta campioni per analisi molecolare  
somministrazione di questionari a genitori e medici di famiglia  
durata 3 mesi
- Fase 2: definizione funzionale individuale  
delineazione progetto riabilitativo  
durata 1 mese
- Fase 3: controllo clinico funzionale  
messa a punto di data base per le caratteristiche cliniche e molecolari  
durata 6 mesi
- Fase 4: verifica percorso riabilitativo  
durata 6 mesi
- Fase 5: controllo evoluzione clinica (epilessia, scoliosi, parametri cardiorespiratori)  
aggiornamento database  
durata 6 mesi
- Fase 6: elaborazione risultati  
durata 2 mesi

**Attività svolte**

Inclusione di 9 bambine con diagnosi molecolare di sindrome di Rett.

Valutazione NPI, epilettologica, respiratoria, fisiologica, pediatrica.

EEG in veglia e sonno, polisonnografia per identificazione di episodi di apnea, esami ematochimici.

Valutazione fisiochinesiterapica, logopedia, di terapia occupazionale, psicologico-relazionale per eventuale comunicazione facilitata, indicazioni ai genitori e ai centri riabilitativi territoriali.

In pazienti scelti RX colonna, ECG.

Invio di linee cellulari linfoblastoidi di una bambina con sindrome di Rett e severa scoliosi presso il Dipartimento di biologia strutturale e funzionale dell'Università dell'Insubria per:

- Stesura di database: "Data base Rett: phenotype/genotype correlation".

- Applicazione di un percorso diagnostico e riabilitativo clinico funzionale attraverso un approccio multidimensionale da un'equipe costituita da: Neuropediatra e psichiatra infantile, Fisiatra, Pediatra, Specialisti consulenti (cardiologo, pneumologo, oculista, ORL, ortopedico), Psicologo, Terapisti (fisiochinesiterapista, logopedista, terapista occupazionale, neuropsicomotricista), Educatore, Insegnanti della scuola, Assistente sociale.

- Stesura di un protocollo per monitorare la problematica della osteoporosi, basato sulla collaborazione dell'associazione sindrome di Rett francese.

**Risultati preliminari su correlazioni fenotipo/genotipo**

In accordo con la letteratura, abbiamo individuato la presenza della mutazione R294X in una bambina con la variante a linguaggio preservato e senza epilessia, vale a dire tale mutazione avrebbe un ruolo "protettivo" nei confronti di tali problematiche.

**LA PENALIZZAZIONE TERAPEUTICA DELL'ARTO CONSERVATO (CONSTRAINT INDUCED THERAPY)****DOTT.SSA ANNA CARLA TURCONI**

e-mail: ANNACARLA.TURCONI@BPLNF.IT

**Linea di ricerca n.2**

Riabilitazione neuromotoria e neuropsicologia funzionale

**Tipo di ricerca**

Corrente

**Periodo di svolgimento**

2007

**Polo scientifico**

Bosisio Parini

**RIASSUNTO**

La penalizzazione terapeutica dell'arto conservato (constraint induced therapy) viene definita come una terapia che abbina l'allenamento intensivo di un arto superiore leso dopo danno neurologico centrale, alla penalizzazione funzionale dell'uso dell'arto sano o meno colpito.

L'utilizzo e l'efficacia della CTI nel bambino con Paralisi Cerebrale Infantile sono stati dimostrati in recenti studi. Tutti i risultati depongono per un incremento dell'uso dell'arto leso ma la metodologia utilizzata è molto variabile sia nei tempi sia nelle proposte di trattamento.

Viene pertanto proposto uno studio su una popolazione di bambini emiplegici da sottoporre a constraint therapy e trattamento intensivo con l'obiettivo di dimostrare l'efficacia del trattamento per mezzo di una metodologia di valutazione rigorosa che definisca i risultati ottenuti in tempi successivi fino ad un anno dal termine.

Sono stati reclutati presso 10 Centri de La Nostra Famiglia 55 soggetti affetti da emiplegia di età compresa tra 2 e 9 anni.

La costrizione viene effettuata tramite splint in materiale termoplastico mano-polso – avambraccio (in asse) e fissaggio con bendatura (facile da mettere e togliere anche per la famiglia).

La costrizione viene mantenuta per 3 ore al giorno per 7 giorni la settimana.

Gli accessi alla terapia (intensiva) ai Centri sono di 3 volte la settimana per 3 ore di cui 1,30 di terapia, 1,30 di lavoro per la famiglia.

Il periodo complessivo della CTI è di 2 mesi. Alcuni soggetti si sono ritirati dal trattamento che viene effettuato su 40 casi.

Prima del trattamento, alla fine, a 3,6 e 12 mesi vengono effettuate valutazioni clinico funzionali per documentare le modificazioni del quadro.

Il trattamento con constraint therapy si è dimostrato efficace nei bambini con emiplegia in una popolazione di pazienti con un'età compresa tra 2 e 9 anni.

Si sono evidenziati miglioramenti a livello di gross motors generali che indica una partecipazione più efficace dell'arto plegico nelle abilità motorie globali.

Miglioramenti specifici si sono evidenziati nella presa, nelle attività bimanuali e nelle prassie.

Sono migliorate le autonomie nelle attività della vita quotidiana rilevate da osservazione dei genitori dei bambini.

I miglioramenti non riguardano solo il periodo immediatamente successivo alla conclusione del trattamento ma tendono a persistere nel tempo mantenendosi attivi in modo statisticamente significativo fino ad un anno dalla conclusione del trattamento stesso.

La compliance e la collaborazione delle famiglie sono state molto buone.

Solo 2 bimbi su 40 soggetti hanno presentato problemi alla tolleranza della costrizione tali da dover sospendere il trattamento. Per il resto della popolazione non sono stati segnalati problemi.

Vi è stata soddisfazione nell'aver completato questo trattamento sia nelle famiglie che nell'ambiente terapeutico. Tutti gli attori: bambino, genitori, terapisti, si sono sentiti partecipi di un progetto la cui riuscita era direttamente proporzionale al loro impegno e investimento.

## DISFAGIA E PROBLEMI CORRELATI IN BAMBINI CON PATOLOGIA NEUROLOGICA: DELINEAZIONE DI PROTOCOLLI DI VALUTAZIONE E TRATTAMENTO

**DOTT. PAOLO DUCOLIN**

e-mail: PAOLO.DUCOLIN@CN.LNF.IT

### Linea di ricerca n.2

Riabilitazione neuromotoria e neuropsicologia funzionale

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Conegliano

## RIASSUNTO

La ricerca corrente è volta alla strutturazione e applicazione di un protocollo di valutazione multidisciplinare per la raccolta e documentazione sistematica di un numero rilevante di casi di bambini con disturbi della deglutizione e respirazione secondari a Paralisi Cerebrale Infantile di tipo tetraplegico.

I risultati e prodotti conseguiti durante questo anno sono stati la realizzazione di un protocollo di valutazione condiviso da un team multidisciplinare di specialisti (fisiatra, neurologo, foniatra, pneumologo, logopedista) e l'applicazione del protocollo su pochi casi per verificare la praticità e l'accuratezza della valutazione. Dal 2008 il protocollo sarà esteso a un'ampia casistica afferente ai Centri coinvolti.

## IMPIEGO DI NUOVE TECNOLOGIE BIOINGEGNERISTICHE NELLA VALUTAZIONE DELLE PATOLOGIE NEUROMUSCOLARI

**DOTT.SSA MARIA GRAZIA D'ANGELO**

e-mail: GRAZIA.DANGELO@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.2

Riabilitazione neuromotoria e neuropsicologia funzionale

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### RIASSUNTO

Lo sviluppo di tecnologie di tipo bioingegneristico non invasive rappresenta senza dubbio uno degli scenari più promettenti per la valutazione diagnostica accurata e per la comprensione di meccanismi eziopatogenetici in patologie gravemente disabilitanti, quali le patologie neuromuscolari.

La nostra ricerca si propone di valutare due settori complessi, da un lato la misurazione dei volumi polmonari nelle diverse fasi della distrofia di Duchenne (DMD) tramite la pletismografia optoelettronica, e dall'altro la valutazione del metabolismo dell'emoglobina cerebrale nel corso dello svolgimento di specifici test neurocognitivi nella distrofia miotonica di Steinert, tramite la NIRS.

Le due metodologie sono accomunate dall'assoluta non invasività e dall'assenza di attiva collaborazione da parte del paziente nell'esecuzione dell'esame.

Il recente sviluppo presso il Dipartimento di Bioingegneria del Politecnico di Milano, della tecnica della pletismografia opto-elettronica (OEP) consente di superare i limiti delle metodiche tradizionali utilizzate per la valutazione della funzionalità respiratoria e ne ha dimostrato l'applicabilità allo studio dei pazienti affetti da DMD e da altre patologie neuromuscolari.

La OEP costituisce perciò un importante strumento per la valutazione funzionale respiratoria dei

pazienti DMD garantendo l'accuratezza di misura dei volumi totali e compartimentali della parete toraco-addominale; la possibilità di determinare in modo completo ed accurato il pattern ventilatorio in modo completamente non invasivo e senza l'utilizzo di boccagli e/o collaborazione da parte del paziente; la possibilità di analizzare il paziente in diverse posture (ad esempio seduto su carrozzina e in posizione supina); durante il sonno (le telecamere operano infatti nell'infrarosso e quindi è possibile effettuare le misure nell'oscurità) o in corso di diverse modalità di ventilazione meccanica.

La spettroscopia funzionale nel vicino infrarosso (Near-InfraRed Spectroscopy NIRS) è stata indicata negli "Annals of The New York Academy of Sciences" (939:101-113; 2001) come una tecnologia tra le più promettenti del prossimo decennio per il monitoraggio finalizzato alla neuro-protezione.

Essa è infatti in grado di misurare parametri come l'ossigenazione ed il flusso ematico tissutale cerebrale a livello regionale, utilizzando strumentazioni portatili, non invasive e relativamente a basso costo.

La possibilità di impiego di una metodica non invasiva quale la NIRS nello studio del metabolismo dell'emoglobina cerebrale in corso dello svolgimento di specifici test neurocognitivi in soggetti con noti deficit cognitivi risulta una possibilità di estremo interesse per la comprensione dei meccanismi eziopatogenetici potenzialmente responsabili dei deficit stessi.

Nell'ampia casistica di pazienti affetti da patologia neuromuscolare afferente al nostro Istituto, un gruppo di pazienti risulta particolarmente indicato per una valutazione anche tramite NIRS (che, allo stato attuale dell'arte, pare particolarmente idoneo allo studio delle aree frontali). Il gruppo di soggetti, per lo più adulti, affetti da distrofia miotonica di Steinert presenta infatti deficit cognitivi ascrivibili per lo più a funzioni coordinate dai lobi frontali e temporali.

### Risultati e prodotti conseguiti (anno 2007)

Lo studio tramite Pletismografia Optoelettronica ha avuto inizio lo scorso luglio 2006.

51 pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne (DMD), con età media:  $13.8 \pm 1.5$

21 soggetti sani, con età media di  $13 + 1,2$  anni

È stato messo a punto un protocollo di valutazione che includeva la valutazione di:

- Respirazione spontanea a riposo
- Manovre di capacità vitale lenta
- Respirazione profonda

- Tosse

- posizione SEDUTA (anche su carrozzina)

- posizione SUPINA

Per quanto riguarda i dati della popolazione di pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne, si è analizzato il pattern ventilatorio in posizione supina durante respiro spontaneo.

L'analisi dei dati ottenuti sulla popolazione di soggetti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne (51 pazienti, età media  $13.8 \pm 1.5$  anni, altezza  $151 \pm 0.3$  cm, peso  $51.1 \pm 2.7$  Kg) durante respirazione spontanea evidenzia una significativa riduzione del contributo percentuale del compartimento addominale al volume corrente ( $60.1 \pm 3.3\%$ ), indice di una ridotta attività del diaframma. L'intera popolazione è stata successivamente suddivisa in 3 categorie: deambulanti (A) (con capacità vitale, VC  $51.1 \pm 2.7$  Kg), in carrozzina da < di 3 anni (< WH3) (VC =  $1.903 \pm 0.168$  L), in carrozzina da > 3 anni (WH3) (VC =  $1.485 \pm 0.105$  L). 21 maschi sani di età corrispondente sono stati analizzati con il medesimo protocollo.

La ventilazione ed il volume tidal dei ragazzi deambulanti era equiparabile e quello dei controlli sani di pari età, mentre erano drammaticamente ridotti entrambi all'inizio dell'uso della carrozzina, suggerendo che la muscolatura respiratoria di questi pazienti diviene debole ed incapace di provvedere alla ventilazione richiesta e di espandere la gabbia toracica sia in posizione supina che seduta.

I soggetti sani, come atteso, durante il respiro spontaneo in posizione supina hanno un respiro diaframmatico preponderante (contributo addominale: 68%) ed un respiro soprattutto toracico nella posizione seduta (contributo toracico: 60%)

Nei soggetti distrofici (DMD) il contributo relativo era strettamente dipendente dall'età e dall'uso della carrozzina. Nella posizione supina, il contributo addominale al volume tidal era quasi normale nel gruppo A. All'inizio dell'uso della carrozzina, il contributo addominale si riduceva di circa l'80% in rapporto ai controlli, con contemporaneo contributo della gabbia toracica raddoppiato rispetto ai controlli. Nella posizione seduta non si sono rilevate differenze significative tra i pazienti DMD ed i controlli sani.

Sono stati inoltre acquisiti tramite Pletismografia Optoelettronica i dati di capacità respiratoria di un numero di 42 soggetti affetti da distrofie diverse da quella di Duchenne, quali distrofia di Becker, distrofie dei cingoli, distrofia facio-scapolo-omeroale e amiotrofie spinali. I dati sono in corso di valutazione.

Sul versante riguardante lo studio NIRS, sono sta-

ti definiti i criteri di inclusione ed esclusione nello studio dei soggetti affetti da distrofia miotonica di Steinert e dei controlli.

Sono state inoltre definite le modalità di somministrazione del test selezionato, CPT Continuous Performance Test (CPT), applicabile anche in ambito di RMN funzionale ed indagine NIRS è stato applicato su una piccola popolazione di soggetti sani.

## PRODOTTI DELLA RICERCA

### Presentazioni a congressi internazionali:

- Antonella Lo Mauro, Maria Grazia D'Angelo, Antonio Pedotti, Eraldo Marchi, Anna Carla Turconi and Andrea Aliverti: Respiratory kinematics in Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) European Respiratory Society Annual Congress 2007

- Antonella Lo Mauro, Maria Grazia D'Angelo, Antonio Pedotti, Eraldo Marchi, Daniele Colombo, Anna Carla Turconi, Nereo Bresolin and Andrea Aliverti: Respiratory kinematics in Duchenne Muscular Dystrophy World Muscle Society, Taormina, Sicily, October 2007

- Andrea Aliverti, Antonella Lo Mauro, Antonio Pedotti, Simona Pochintesta, Maria Grazia D'Angelo and Anna Carla Turconi: A Chest Wall Kinematics in Patients with Osteogenesis Imperfecta (OI) The ATS International Conference San Francisco, California, 2007

## **RISCHIO DI COMPROMISSIONE COGNITIVA IN PAZIENTI TRAPIANTATI NELL'ETÀ EVOLUTIVA: RUOLO DELLA TERAPIA IMMUNOSOPPRESSIVA NELLA GENESI DEL DANNO CEREBRALE**

**DOTT.SSA ALESSANDRA BARDONI**

e-mail: ALESSANDRA.BARDONI@BPLNF.IT

### **Linea di ricerca n.2**

Riabilitazione neuromotoria e neuropsicologia funzionale

### **Tipo di ricerca**

Corrente

### **Periodo di svolgimento**

2007

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

## **RIASSUNTO**

Lo scopo del nostro studio è stato di valutare clinicamente e strumentalmente un gruppo di pazienti con complicanze neurologiche secondarie a trapianto d'organo. I pazienti sono stati valutati prima e dopo un trattamento riabilitativo al fine di comprendere il grado di miglioramento funzionale nel tempo.

La ricerca è stata condotta su un numero di pazienti inferiore rispetto a quello che ci si attendeva dato che i reparti invianti hanno deciso di trasferirci solo pazienti con gravi complicanze neurologiche e di limitare il numero dei pazienti con solo complicanze lievi. Tale condizione inserisce inevitabilmente un bias nella valutazione dei risultati.

Infatti il numero di pazienti selezionati per tale studio è esiguo (solo 10 pazienti) ma se tale numero lo si valuta rispetto al gruppo di partenza, i dati possono assumere una importanza più rilevante. Infatti in termini percentuali, il campione oggetto di studio rappresenta il 16 % di tutti i pazienti che con danno cerebrale acquisito accedono per la prima volta alla nostra Unità di neuroriabilitazione nell'età evolutiva in fase subacuta.

È noto dai dati in letteratura che le complicanze neurologiche maggiori e minori possono essere legate alle condizioni pre-trapianto, agli eventi intraoperatori, nonché a fattori post trapianto quali la

neurotossicità della terapia farmacologica con immunosoppressori. Nel nostro studio non sono significativi i fattori pre-trapianto. Il danno cerebrale sembra essere infatti legato agli eventi intraoperatori. La severità del danno si manifesta clinicamente. Infatti tutti i pazienti presentano una condizione di grave compromissione cognitiva e funzionale all'ingresso in reparto. Il grado di recupero nel tempo dopo adeguato intervento riabilitativo sembra comunque minimale. Sicuramente un confronto fra diverse eziopatogenesi del danno acquisito (traumatico, atossico, vascolare, etc.) potrebbe fornire informazioni interessanti. Tale dato sarebbe infatti importante poiché indirettamente fornirebbe informazioni riguardo al ruolo dei farmaci immunosoppressori la cui neurotossicità può interferire con il recupero dei processi cognitivi.

Il nostro studio conferma anche in ambito pediatrico la presenza di complicanze neurologiche che data la loro gravità, prolungano la degenza ospedaliera in modo significativo (circa 3 mesi), aumentando peraltro i costi sanitari. Le conseguenti difficoltà psicologiche del paziente ma anche dei famigliari non facilitano il recupero neurologico.

Nel nostro lavoro, data l'esiguità del campione, non siamo riusciti a comprendere il reale ruolo dei farmaci immunosoppressori nella genesi del danno cerebrale. In letteratura sono sempre maggiormente presenti ricerche che dimostrano la tossicità di tali farmaci, peraltro indispensabili. Per tale motivo risulta indispensabile condurre altri studi valutativi al fine di dare indicazioni per effettuare una corretta diagnosi funzionale per poter condurre il miglior intervento riabilitativo possibile.

I risultati di tale studio inoltre forniscono, seppur parzialmente, elementi per la stesura dei protocolli di valutazione pre o post trapianto al fine di migliorare l'outcome a distanza, non solo in termini di sopravvivenza ma anche di qualità della vita.

## L'ATTENZIONE SPAZIALE E IL MOVIMENTO NELL'AUTISMO

**DOTT.SSA SARA FORTI**

e-mail: SARA.FORTI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

## RIASSUNTO

La ricerca misura l'interazione fra i deficit motori, attentivi e percettivi nei disturbi dello spettro autistico, analizzando la relazione tra le anomalie motorie e la scarsità di risorse attentive in compiti visuo-spaziali. Essa contribuisce allo studio della coordinazione occhio-mano nell'autismo, e attraverso la misurazione congiunta dei movimenti oculari e del movimento, può spiegare i meccanismi attentivi e motori che determinano i deficit di coordinazione. Inoltre, in linea con le più recenti ricerche, indaghiamo la similitudine sintomatica fra l'autismo e il neglect.

Misurando i movimenti oculari in un compito di attenzione spaziale lateralizzata, confermiamo un deficit di attenzione visuo-spaziale nell'autismo, che si manifesta con eccessivo ancoraggio agli stimoli. Nei soggetti autistici si riscontra una riduzione del "gap-effect": viene cioè ridotto il vantaggio che si ottiene nel processamento di stimoli lateralizzati in assenza di un concomitante punto di fissazione centrale. Ciò si verifica soprattutto per stimoli presentati nella parte destra del campo visivo, con similitudini evidenti con i sintomi mostrati da pazienti affetti da eminegligenza spaziale unilaterale.

Inoltre misuriamo l'interazione fra l'attenzione spaziale e il movimento nell'autismo, misurando il gap-effect sulle risposte manuali di puntamento a stimoli visivi lateralizzati. La velocità delle risposte saccadiche è così direttamente confrontabile con la velocità delle risposte manuali, consentendo di valutare nello specifico la componente attentiva del comportamento motorio.

### Il campione

Confrontiamo: (1) un gruppo di bambini fra i 4 e i 6 anni afferenti all'IRCCS "E.Medea", con diagnosi conclamata di Autismo Infantile secondo i criteri diagnostici del DSM-IV e le scale ADOS, ADI-R e CARS, il cui QI alla Griffith's Mental Development Scale sia superiore a 70; (2) un gruppo di controllo di bambini sani visione normale o corretta alla norma appaiati per sesso ed età mentale ai bambini del campione clinico.

### Il disegno sperimentale

*Esperimento 1:* Osservazione di stimoli semplici in veloce successione in posizione laterale in condizione overlap vs gap (con o senza concomitante fissazione centrale) - Risposte: movimenti oculari (TR).

*Esperimento 2:* Detenzione di stimoli semplici in veloce successione in posizione laterale in condizione gap vs. overlap - Risposte: (i) movimenti oculari e risposta a tastiera (non lateralizzata)(TR); (ii) movimenti oculari e risposta di puntamento (TR).

*Esperimento 3:* Compito di puntamento su imitazione - Risposte: (i) movimenti oculari e (ii) risposta di puntamento (analisi cinematografica).

### I progressi

Si è registrato un ritardo di 7 mesi nella consegna dell'eye tracker TOBII x50.

In esso è stato calibrato su un campione pilota di 15 bambini (età 3 – 14) ed è stato messo in sincronizzazione e in compatibilità di registrazione con il laboratorio di motion capture.

Gli esperimenti sono stati testati su un campione di 16 soggetti adulti.

Sono stati reclutati 10 bambini con disturbo generalizzato dello sviluppo o diagnosi di autismo e 30 bambini come campione di controllo.

L'esperimento viene testato in fase pilota su questo campione e le analisi preliminari mostrano un debole gap-effect e un forte effetto di lateralizzazione, con ritardi nel processamento di stimoli a destra.

## INTERFERENZA SPAZIALE E TEMPORALE NELLA DISLESSIA EVOLUTIVA

**DOTT. ANDREA FACOETTI**

e-mail: ANDREA.FACOETTI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

## RIASSUNTO

Le recenti evidenze sperimentali sembrano coerenti nel sottolineare che la dislessia evolutiva (DE), il disturbo specifico dell'apprendimento della lettura, sia caratterizzata da un difetto nell'elaborazione dell'informazione visiva (Livingstone e coll., 1991; Galaburda e coll., 1994; Stein e Walsh, 1997) e/o uditiva (Wright e coll., 2000) che coinvolgerebbe la capacità di "escludere il rumore" dall'elaborazione percettiva degli stimoli (Di Lollo e coll., 1983; Geiger e coll., 1994; Facoetti e coll., 2000; Sperling e coll., 2005). I dislessici manifestano, infatti, una specifica difficoltà nel "filtrare" il segnale dal rumore vicino sia nello spazio (i.e., interferenza spaziale) sia nel tempo (i.e., interferenza temporale). Tra i più importanti processi che permettono di escludere il rumore dall'elaborazione del segnale, l'attenzione selettiva (AS) sembra essere quella più specificamente implicata nella DE (e.g., Facoetti e coll., 2000, 2001, 2003, 2005; Hari e coll., 1999, 2001), in particolare implicata nei processi di segregazione grafemica (SG; Perry et al., 2007).

Nell'Esperimento 1 abbiamo voluto indagare la possibile relazione tra la componente temporale dell'AS (i.e., il sistema "quando" del LIP destro, Battelli et al., 2007) e la funzionalità della via sub-lessicale, evidenziando il difetto specifico della componente temporale dell'AS ed essa costituisce un fattore indipendente alla base della funzionalità della via sub-lessicale.

I risultati ottenuti dall'Esperimento 2 hanno evidenziato chiaramente che un difetto specifico nel-

l'orientare l'AS spaziale possa essere alla base di una generica disfunzione nei meccanismi di "esclusione del rumore" percettivo nei soli dislessici cattivi lettori di nonparole (Sperling et al., 2005; 2006), avvalorando l'ipotesi che un disturbo dell'AS spaziale possa causare un difetto nel ML che potrebbe compromettere selettivamente la SG della via sub-lessicale. Il segnale in presenza del rumore verrebbe cioè difficilmente elaborato dai bambini dislessici con disturbo della sua sub-lessicale. Si potrebbe ipotizzare che durante il processo di acquisizione della lettura siano coinvolte molte funzioni della selezione visuo-spaziale: l'elaborazione visuo-percettiva delle stringhe di lettere, durante la decodifica fonologica, richiede un filtro focale che è controllato da un rapido orientamento dell'AS visiva (Cestnick e Coltheart, 1999). Un difetto dell'AS spaziale potrebbe, quindi, disturbare la percezione delle lettere solo quando sono fiancheggiate da altre lettere vicine, che è la tipica condizione in cui avviene la lettura.

È plausibile ipotizzare, inoltre, che la DE possa essere causata da una scarsa elaborazione degli stimoli nelle diverse modalità sensoriali. Tale difetto potrebbe essere ricondotto ad un disturbo dell'attenzione (i.e. spaziale e temporale) ed essere manifesto ad un livello comportamentale oltre che neurofisiologico (Lyytinen e coll., 2004). L'Esperimento 3 ha indagato il correlato neurofisiologico del decorso temporale dell'AS visuo-spaziale, misurando la modulazione attenzionale sulla precoce componente sensoriale della componente P1 che origina nelle aree occipitali, testando l'ipotesi di un rallentamento dell'orientamento dell'AS come meccanismo responsabile di una inefficiente SG nei dislessici con un disturbo selettivo della via sub-lessicale. I risultati neurofisiologici così confermano che i bambini con disturbo specifico della lettura delle nonparole hanno un evidente rallentamento del meccanismo di orientamento dell'AS visiva, come precisamente suggerito da Hari e Renvall (2001). È stato ipotizzato che la modulazione della P1 possa essere l'indice elettrofisiologico più precoce mediante il quale l'AS filtrerebbe le informazioni sensoriali visive, attraverso l'azione congiunta di eccitazione del segnale atteso e di inibizione di distrattori laterali e presentati in rapida successione (Mangun e Hillyard, 1990; Mangun et al., 1993).

## REATTIVITÀ ADRENOCORTICALE E VULNERABILITÀ GENETICA IN FUNZIONE DELLA RELAZIONE DI ATTACCAMENTO MADRE-BAMBINO IN UN CAMPIONE AD ALTO RISCHIO

**DOTT.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

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

## RIASSUNTO

L'importanza di comprendere quali sono i fattori ambientali e biologici responsabili delle differenze individuali nella risposta fisiologica allo stress è evidente in funzione dell'impatto che lo stress esercita sulla salute mentale e fisica degli individui. Molti ricercatori credono che la nostra abilità di gestire lo stress nasca nell'infanzia attraverso l'interazione tra le nostre esperienze ed i nostri geni. Diversi studi hanno mostrato come la qualità delle cure parentali così come alcuni tratti temperamentali giochino un ruolo significativo nel modulare la reattività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), misurata attraverso i livelli di cortisolo salivare, allo stress della separazione dalla madre. Tuttavia nessuno studio ha finora investigato i loro effetti sulla reattività del sistema simpato-adreno midollare (SAM), misurata attraverso l'alpha amylase salivare. Inoltre, non è ancora stato analizzato il contributo della genetica nel predire la risposta del cortisolo e dell'alpha amylase salivare allo stress nell'infanzia. Nel presente studio, la relazione madre-bambino, alcuni polimorfismi genetici (DRD4, DRD4/521, COMT e 5-HTT) e tratti temperamentali sono stati testati come predittori di questi due parametri psicofisiologici durante la Strange Situation in un campione non a rischio, formato da 114 bambini di un anno circa di età, ed in un campione di bambini ad alto rischio, formato da 21 bambini della stessa età.

L'attività dei due sistemi (asse HPA e SAM) è risultata associata a fattori sia di natura ambientale (qualità delle cure) sia di natura biologica (geni e temperamento) ma, più significativamente, veniva predetta dall'interazione tra i due fattori. I risultati di questo studio contribuiscono a chiarire il ruolo giocato da entrambi i fattori, ambientali e biologici, nel determinare le differenze individuali nella risposta allo stress nell'infanzia. Inoltre, questi dati sembrano ulteriormente confermare che i sistemi HPA e SAM, sebbene biologicamente interrelati, agiscono in modo differente in risposta allo stress e sono associati in modo diverso al comportamento.

## FUNZIONI PREFONOLOGICHE E ATTENTIVE NELLA DISLESSIA EVOLUTIVA. UNO STUDIO CROSS-LINGUISTICO

**DOTT. ANDREA FACOETTI**

e-mail: ANDREA.FACOETTI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

## RIASSUNTO

La lettura è un processo cognitivo complesso che per svilupparsi in modo adeguato necessita sia di buone abilità uditive-fonologiche sia di adeguate abilità visuo-percettive che sembrerebbero mediate dall'attenzione selettiva (AS).

Diversi studi hanno dimostrato, infatti, che bambini e adulti con Dislessia Evolutiva evidenziano, in aggiunta ad un disturbo fonologico (e.g., Ramus, 2003), anche un difetto nell'elaborazione visuo-percettiva (e.g., Stein e Walsh, 1997), che coinvolgerebbe principalmente la capacità di escludere il rumore dall'elaborazione del segnale (e.g., Sperling et al., 2005; Hari e Renvall, 2001). Individui con DE manifesterebbero una specifica difficoltà ad elaborare il segnale visivo quando esso è presentato insieme ad un rumore vicino nel tempo (i.e., interferenza temporale; e.g., Di Lollo et al., 1983) e/o nello spazio (i.e., interferenza spaziale; e.g., Sperling et al., 2005).

Precisamente, i risultati di alcuni studi sembrano coerenti nel dimostrare che esiste un legame specifico tra l'AS visiva spaziale e la funzionalità della via sub-lessicale, tipicamente misurata mediante la lettura di nonparole (e.g., Cestnick e Coltheart, 1999). Inoltre, l'AS visiva spaziale potrebbe giocare un ruolo fondamentale nella segregazione grafemica (SG), processo cruciale per la lettura di nonparole (Perry et al., 2007). Infatti, durante le prime fasi di acquisizione della lettura, è necessario un'ade-

guata focalizzazione sui singoli grafemi al fine di decodificarli nei fonemi corrispondenti.

Nell'Esperimento 1, mediante un paradigma di orientamento automatico dell'attenzione, abbiamo voluto verificare l'ipotesi di un difetto dell'AS visiva spaziale come possibile causa di un disturbo dell'apprendimento della lettura in bambini dislessici con un disturbo specifico della via sub-lessicale.

Nell'Esperimento 2, mediante un paradigma di riconoscimento di una lettera presentata all'interno di una stringa di consonanti, abbiamo voluto verificare la presenza di un disturbo dell'AS spaziale nei bambini dislessici con un specifico disturbo della via sub-lessicale simulando in modo preciso il processo percettivo-attentionale richiesto dal meccanismo di SG durante la lettura di nonparole.

I risultati hanno confermato che i due gruppi di bambini con DE, selezionati in base alla funzionalità della via sub-lessicale sono comparabili per quanto riguarda le abilità fonologiche (compito di memoria a breve termine di nonparole e di sintesi fonemica), ma differiscono sostanzialmente nelle abilità attentive visive. I risultati confermano l'ipotesi di uno specifico difetto dell'AS visiva spaziale nei bambini dislessici con un disturbo della via sub-lessicale e forniscono evidenze a favore della natura multi-fattoriale di tale disturbo, fornendo utili indizi anche per una più efficace riabilitazione del disturbo specifico della lettura.

I risultati fino ad ora collezionati suggeriscono in modo chiaro che in bambini dislessici di lingua italiana (in cui vi è una diretta corrispondenza grafema-fonema), la componente spaziale dell'AS gioca un ruolo cruciale nei processi di SG necessari per lo sviluppo della lettura, indipendentemente dalle abilità puramente fonologiche. L'arricchimento mediante paradigmi di attenzione uditiva e mediante l'osservazione di campioni di lingue ad ortografia non trasparente potranno chiarire più approfonditamente il ruolo dell'AS spaziale.

## STANDARDIZZAZIONE ITALIANA DELLA NEPSY: A DEVELOPMENTAL NEUROPSYCHOLOGICAL ASSESSMENT (M. KORMAN, U. KIRK, S. KEMP, 1998)

**PROF. FRANCO FABBRO**

e-mail: FABBRO@SV.LNF.IT

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

San Vito al Tagliamento

## RIASSUNTO

Nel corso del primo anno (2006) del progetto è stato completato il processo di traduzione e la preparazione della versione finale della batteria NEPSY-II. È stato inoltre svolto uno studio di validazione clinica della batteria NEPSY-II. I risultati hanno confermato la sensibilità e validità clinica della versione italiana della batteria. Nel corso del secondo anno del progetto (2007) è iniziata la raccolta dati del campione normativo nelle scuole del Friuli Venezia Giulia. Sono stati raccolti i dati di 137 bambini di età compresa da 3 a 11 anni. Un'analisi preliminare dei dati acquisiti ed il confronto con i valori normativi del campione americano, nel frattempo pubblicati con la versione definitiva della NEPSY-II in inglese, ha confermato la validità della traduzione svolta, rivelando forti similitudini tra le norme americane e i dati in raccolta in Italia. Un'eccezione è stato il dominio sensorimotorio, in cui i bambini italiani si sono rivelati avere un punteggio più basso rispetto a quelli americani. Tale valutazione ha dato esito positivo, anche dopo un incontro con la Prof. Korkman organizzato il 14-16 giugno 2007 presso la sede di Pasian di Prato (UD) dell'IRCCS "E. Medea". In quell'occasione è stato anche organizzato un convegno per la presentazione al pubblico del risultato del processo di standardizzazione e per l'incontro con i partecipanti degli altri centri. Abbiamo ricevuto la disponibilità di alcuni operatori

dell'Istituto Besta di Milano, dell'Azienda Ospedaliera di Milano, dell'Ospedale di Cagliari, della Neuropsichiatria Infantile de L'Aquila, dell'IRCCS Oasi di Troina, dell'IRCCS "Stella Maris" di Pisa e del servizio di assistenza psicologica nella scuola del Canton Ticino. Ulteriori contatti sono stati intrapresi nel corso del convegno. Da settembre a dicembre 2007 è stata svolta un'intensa attività di formazione degli operatori interessati alla batteria in modo da raggiungere l'obiettivo di una procedura di somministrazione standardizzata e identica nei vari centri.

## CRITERI DI VALUTAZIONE LINGUISTICO-CLINICA DEL DISTURBO PRAGMATICO DEL LINGUAGGIO: DEFINIZIONE ED APPLICAZIONE DI UN PROTOCOLLO RIABILITATIVO SPECIFICO PER LA PRAGMATICA VERBALE

**DOTT. ALESSANDRO TAVANO**

e-mail: ALESSANDRO.TAVANO@LIBERO.IT

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

San Vito al Tagliamento

## RIASSUNTO

### Razionale

Il PAPB rappresenta uno strumento di valutazione formale di alcuni indici pragmatico-inferenziali e interazionali. Per quanto riguarda le capacità di inferenza di tipo pragmatico, lo strumento misura la comprensione del linguaggio figurato e della comunicazione implicita, mentre le abilità interazionali sono indagate attraverso la comprensione e la produzione di contorni intonativi linguistici ed emotivi, e la codifica di aspetti principali della conversazione, quali la presa di turno conversazionale. Risulta interessante quindi utilizzare il PAPB per integrare i criteri clinico-osservativi o da questionario nella definizione clinica del Disturbo Pragmatico del Linguaggio.

### Obiettivi

- 1) Somministrare il protocollo aggiornato a 5 classi di soggetti patologici:
  - a. Bambini con Disturbo Pragmatico del Linguaggio;
  - b. Bambini con sindrome di Asperger/Autismo ad Alto Funzionamento;
  - c. Bambini con sindrome di Down;

- d. Bambini con sindrome di Williams;
- e. Bambini con lesioni cerebellari;
- f. Gruppo di controllo costituito da adulti.

- 2) Istruire un protocollo riabilitativo intensivo pilota sulla base dei profili al PAPB per un insieme selezionato di bambini con sindrome di Asperger/Autismo ad Alto Funzionamento e bambini con Disturbo Pragmatico del linguaggio, in collaborazione con gli educatori TEACCH.

### Materiali e metodi

Si è reso però necessario ripensare il PAPB rielaborandolo per ottenere una versione più adatta ai bambini tra i 3 e i 6 anni, e su questa fascia d'età si è concentrato il successivo lavoro di raccolta dati, iniziato a giugno 2007 per l'attesa dell'approvazione del consenso informato.

I partecipanti al progetto sono stati:

- 1) 40 bambini con sviluppo normale dai 3 ai 6 anni;
- 2) Bambini con Disturbo Pragmatico del Linguaggio (5); Bambini con sindrome di Asperger/Autismo ad Alto Funzionamento (5); Bambini con sindrome di Down (13); Bambini con sindrome di Williams (10);
- 3) Un gruppo di controllo costituito da 12 adulti.

### Risultati

Sono stati pubblicati 2 lavori su soggetti con patologia cerebellare, utilizzando la prospettiva neurolinguistica offerta dal PAPB, ed è stato inviato per la pubblicazione un lavoro sulla sindrome di Williams. Sono state presentate comunicazioni a convegni e simposi nazionali e internazionali sui bambini con sviluppo tipico tra i 4 e i 6 anni, i bambini con sindrome di Down e bambini con sindrome di Williams.

La rielaborazione del PAPB, resasi necessaria per incontrare le specifiche dell'età evolutiva prescolare, ha comportato la necessità di rinnovo della Ricerca Corrente per il 2008 al fine di completare il lavoro di raccolta dati normativa e per ciascun gruppo patologico.

## LA POSSIBILITÀ DI IMPLEMENTAZIONE DELLE COMPETENZE COMUNICATIVE NEI BAMBINI CON DISTURBO AUTISTICO CON L'USO DEL PICTURE EXCHANGE COMMUNICATION SYSTEM (PECS)

**DOSS. ANGELO MASSAGLI**

e-mail: ANGELO.MASSAGLI@OS.LNF.IT

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Ostuni

### RIASSUNTO

Il PECS (Picture Exchange Communication System/ Sistema di comunicazione con scambio di immagini) è un programma di intervento comportamentale sviluppato in Nord America da Bondy e Frost (1994) basato sull'impiego di simboli visuo-grafici e finalizzato a sviluppare o migliorare la comunicazione in bambini con disturbo dello spettro autistico (DSA). Il sistema sfrutta uno dei punti di forza dei bambini con tale disturbo, ovvero le loro capacità visuo-spaziali (che, come molte ricerche hanno dimostrato, spesso sono preservate), per cercare di compensare i deficit dell'elaborazione uditiva-verbale (Cohen, D.J. e Volkmar, F. R., 2004).

### Obiettivi

Nell'anno di sperimentazione della ricerca corrente 2007 sul PECS ci si è focalizzati sulla realizzazione degli obiettivi del rationale 2007, definiti sulla base dei risultati conseguiti nel precedente anno di ricerca corrente 2006. A partire da ottobre 2007 il lavoro di raccolta e codifica dei dati è stato effettuato attraverso l'Observer, un sistema innovativo per osservare e codificare i comportamenti. Tale sistema è entrato in dotazione del nostro Istituto solo a partire dallo scorso luglio.

### Attività svolte e metodologia

Le attività svolte sono state le seguenti: stesura di un articolo sui risultati conseguiti nel primo anno di sperimentazione inviato alla rivista "Autismo", della casa editrice Erickson; rivalutazione psicologica e psicolinguistica dei soggetti della ricerca corrente 2006; ampliamento del campione (da N = 12 a N = 15); avvio del trattamento dei nuovi soggetti (3 volte a settimana) a partire dalla prima fase PECS; continuazione del trattamento PECS nelle fasi più avanzate per i soggetti già avviati all'uso del PECS nello scorso anno; realizzazione di nuovi quaderni di comunicazione; coinvolgimento attivo dei genitori che ha portato ad acquisire più velocemente nuove abilità che hanno permesso l'avanzamento nelle fasi più evolute del PECS.

### Risultati

Mantenimento del numero medio di richieste effettuate attraverso lo scambio di foto in tutti i soggetti del campione; generalizzazione delle abilità richieste acquisite nel setting riabilitativo al contesto familiare, nella maggior parte del campione; consolidamento delle prime quattro fasi PECS e iniziale acquisizione della V e VI fase; aumento del numero di iniziative comunicative in situazioni di interazione sociale; miglioramento statisticamente significativo ( $p = 0,04$ ), rispetto all'inizio dell'anno, nelle aree "imitazione" e "relazione" del test PEP-R, che sono quelle che verosimilmente hanno beneficiato di più del trattamento PECS; aumento dell'interesse nei confronti degli oggetti e delle attività proposte; aumento della produzione linguistica nei bambini con capacità verbali. Tali miglioramenti trovano un riscontro anche nella percezione soggettiva dei genitori, rilevata attraverso il colloquio strutturato sulla competenza comunicativa a casa effettuato dopo un anno, e la valutazione psicolinguistica.

### Discussione e conclusioni

I risultati di questo secondo anno di sperimentazione PECS continuano a confermare l'efficacia di tale sistema nella riabilitazione comunicativo/linguistica di bambini con Disturbo Autistico. Ai fini dei risultati raggiunti è stata fondamentale la collaborazione con le famiglie. Pertanto, per l'anno di ricerca corrente 2008, ci si propone di organizzare incontri strutturati anche con gli insegnanti, consolidare l'acquisizione delle fasi PECS finora raggiunte nel campione 2007; proporre la V e VI fase PECS.

## CEREBROPATIE EPILETTOGENE IN ETÀ EVOLUTIVA: STUDIO CLINICO. RICERCA DI INDICATORI PRECOCI DI FARMACORESISTENZA E VALUTAZIONE DI NUOVI SISTEMI DI PROCESSAZIONE DEL SEGNALE ELETTROENCEFALOGRAFICO

**DOTT. ANTONIO TRABACCA**

e-mail: ANTONIO.TRABACCA@OS.LNF.IT

### Linea di ricerca n.4

Neurofisiopatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Ostuni

## RIASSUNTO

Lo studio (clinico-descrittivo) ha avuto lo scopo di effettuare un'analisi retrospettiva delle variabili cliniche-elettroencefalografiche e di risposta alla terapia antiepilettica di un'ampia casistica di pazienti infantile-giovanili affetti da Epilessia sintomatica e PCI consecutivamente giunti ad osservazione nell'U.O. di Neuroriabilitazione I dell'IRCCS "E. Medea" – Associazione La Nostra Famiglia Polo di Ostuni negli ultimi 3 anni. Abbiamo voluto in particolar modo osservare l'andamento dell'epilessia e la risposta alla terapia farmacologica nei primi 18 mesi dall'esordio e correlarla ad un follow-up a distanza (coincidente con l'arruolamento nello studio) allo scopo di rilevare le caratteristiche clinico-elettroencefalografiche che potevano fungere da precoci indicatori di resistenza alla terapia farmacologica per meglio formulare una prognosi a distanza e adottare una precoce e corretta strategia terapeutica. La valutazione epilettologica all'arruolamento ci è sembrata necessaria in quanto, da esperienza comune, l'epilessia in questo gruppo di pazienti può presentare lunghi periodi di remissione e ricadute anche dopo vari anni in cui il paziente è libero da crisi.

Con lo studio abbiamo confermato la presenza di alcuni fattori di rischio di un cattivo outcome del-

l'epilessia (gravità del quadro neurologico, presenza di RM grave, precocità d'esordio dell'epilessia, prevalenza di crisi generalizzate). In particolare ci siamo soffermati a studiare le caratteristiche EEG, individuando nella disorganizzazione dell'attività bioelettrica cerebrale e nell'elevata rappresentazione di anomalie EEG all'esordio due fattori predittivi sfavorevoli rispetto alla maturazione bioelettrica cerebrale e alla persistenza delle anomalie EEG a distanza, ma anche rispetto ad uno scarso controllo delle crisi epilettiche. Abbiamo inoltre riscontrato che la frequenza delle crisi all'esordio correla significativamente con uno scarso controllo delle crisi a distanza ed abbiamo individuato nella frequenza delle crisi allo scadere del primo anno di malattia un valido elemento predittivo del successivo andamento dell'epilessia.

Contestualmente allo studio clinico, l'obiettivo di questo progetto è stato quello di sviluppare nuovi metodi in grado di ottenere, in base alle nuove tecniche di elaborazione numerica dei segnali di tipo adattativo, un filtraggio ottimale dei segnali EEG. Un filtro adattativo è in grado di modificare automaticamente il proprio comportamento dinamico a fronte di variazioni del processo da controllare e dei disturbi. I filtri adattativi differiscono dai filtri fissi nel fatto che i coefficienti di filtraggio variano nel tempo secondo una funzione dipendente dal segnale di input. L'algoritmo LMS ha fornito risultati buoni ed incoraggianti, specialmente quando è stato necessario procurare informazioni preliminari ed aggiuntive circa lo stato del paziente. Un limite potrebbe essere riscontrato in termini di costante di acquisizione: è difficile mantenere la stessa costante di acquisizione per ogni elettrodo coinvolto. Ciò è importante in termini di scelta del tipo di informazione che deve essere conservata, dal momento che essa cambia in base al range di età del paziente.

## CARATTERISTICHE NEUROFISIOPATOLOGICHE DELLE CEREBROPATIE EPILETTICHE E NON EPILETTICHE ASSOCIATE A CANALOPATIE

**DOTT. CLAUDIO ZUCCA**

e-mail: CLAUDIO.ZUCCA@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.4

Neurofisiopatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

## RIASSUNTO

### Introduzione

Argomento di questa ricerca corrente avviata nel 2006 è lo studio di sindromi epilettiche (1, 2) e di cerebropatie, caratterizzate anche da manifestazioni parossistiche non epilettiche (3), associate a mutazioni di geni che codificano per canali e pompe della membrana neuronale. Nella nostra casistica di epilessie, in cui la quota di pazienti di età infantile è di circa il 62%, l'insufficienza mentale si associa nel 42% dei casi e l'eziologia risulta sconosciuta nel 40%.

### Obiettivi

Gli obiettivi della ricerca corrente sono stati i seguenti:

- 1) Individuare possibili eziologie genetiche di sindromi che associano compromissione neurologica e manifestazioni parossistiche epilettiche e non epilettiche.
- 2) Individuare nuove mutazioni presenti in quadri di epilessia criptogenica.
- 3) Correlare alcune caratteristiche neurofisiopatologiche con le alterazioni genetiche presenti in queste cerebropatie.

### Risultati

Nel corso del 2007 è proseguita la raccolta di pazienti candidati all'indagine per mutazione del gene

SCN1A (4). I criteri di selezione sono stati: epilessia ad esordio nei primi 2 anni di vita e negatività delle indagini eziologiche (RMN encefalo, esami metabolici e citogenetici).

Al termine del reclutamento sono stati analizzati 14 casi di Epilessia Mioclonica Severa dell'Infanzia (SMEI), 6 di Epilessia Mioclonica Severa Borderline (SMEB)(9-12), 12 di Epilessia Generalizzata con Crisi Febrili plus (GEFS plus), 7 di sindrome di West, 8 di epilessie criptogeniche focali e multifocali (CFE e CFME), 13 di criptogeniche generalizzate (CGE), incluse 4 sindromi di Lennox-Gastaut, per un totale di 60 pazienti. Tra questi, 12 sono risultati positivi per mutazioni del gene SCN1A, di cui 10 nel gruppo SMEI, mentre i due restanti nel gruppo di GEFS plus e CFE. E' anche proseguito lo studio di una canalopatia CACNA1 individuata in una paziente affetta da epilessia focale, disturbi neuropsicologici progressivi, sindrome cerebellare, senza mioclono. La RMN encefalo della paziente, inizialmente negativa, ha dimostrato successivamente una atrofia cerebellare progressiva. La medesima mutazione e la presenza di atrofia cerebellare alla RMN encefalo sono state ritrovate nei familiari del ramo materno (madre, fratello e sorella della madre e padre della madre) con fenotipi clinici diversi: madre con atassia episodica tipo 2, sorella della madre con emicrania emiplegica tipo 1, fratello e padre asintomatici (5).

### Conclusioni

I nostri dati hanno confermato la possibilità che forme di epilessie criptogeniche e di cerebropatie caratterizzate da fenomeni parossistici di natura epilettica e non epilettica possano riconoscere una eziologia legata a mutazioni dei geni che codificano per subunità dei canali voltaggio dipendenti delle membrane neuronali. Questi risultati, oltre a fornire un contributo al chiarimento dei meccanismi alla base dell'epilettogenesi, hanno consentito di determinare l'eziologia di alcune patologie neurologiche ad esordio infantile caratterizzate da negatività del dato neuroradiologico con un'ovvia ricaduta non solo di carattere medico-scientifico ma anche socio-sanitario.

## VALUTAZIONE DI FUNZIONI COGNITIVE SPECIFICHE IN SOGGETTI IN ETÀ EVOLUTIVA CON EPILESSIA ED EVENTUALI CORRELAZIONI CON IL TRATTAMENTO FARMACOLOGICO

**DOTT. PAOLO BONANNI**

e-mail: PAOLO.BONANNI@CN.LNF.IT

### Linea di ricerca n.4

Neurofisiopatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Conegliano

## RIASSUNTO

L'epilessia mioclono astatica (EMA) è una sindrome epilettica che esordisce nell'arco di età compreso fra i sei mesi e i sei anni, con prevalenza per il sesso maschile e con un picco attorno ai tre anni. Una forte predisposizione genetica costituirebbe una delle caratteristiche maggiori di questa sindrome molto eterogenea e talvolta difficile da differenziare, soprattutto all'inizio dell'evoluzione, dalla sindrome di Lennox-Gastaut. Mutazioni di geni diversi sembrano associate con l'EMA: SCN1A-cromosoma 2q24 e SCN1B-cromosoma 19q13, geni che codificano per il canale del sodio e GABRG2-cromosoma 5q31 che codifica per il recettore del Gaba.

La EMA è caratterizzata da differenti tipi di crisi: miocloniche e mioclono-astatiche; tonico-cloniche; assenze; crisi atoniche; toniche e convulsioni febbrili. Possono comparire episodi di stato di male: stati di assenza atipica accompagnati da mioclonie erratiche.

L'EEG, normale all'esordio, mostra poi Punte-Onda e PoliPunte – Onda rapide, regolari ad andamento generalizzato.

Da un punto di vista neuropsicologico la EMA è caratterizzata da un vasto spettro di prestazioni intellettuali. La maggior parte dei dati concorda sul fatto che all'inizio i bambini sono normali: successivamente il 40% dei pazienti presenta un deterioramento cognitivo (20% di grado lieve, 20% di gra-

do severo). La maggioranza dei pazienti presenta iperattività e disturbo di tipo comportamentale. I fattori che predispongono al deterioramento cognitivo non sono chiari, ma una frequente ripetizione di stati di male non convulsivi sembra essere predisponente.

Il nostro studio comprende sette pazienti con EMA, cinque maschi e due femmine.

### Risultati e discussione

Lo studio dei casi descritti ci concede di riassumere le caratteristiche peculiari della EMA e di fare anche delle considerazioni.

Viene confermato come la malattia sia più frequente nei maschi e il picco di insorgenza sia massimo attorno ai due anni e mezzo. Abbiamo visto un caso, con precedenti familiari, iniziare precocemente (attorno ai 10 mesi di vita), ma questo non ci permette di dedurre una regola.

Per quanto riguarda l'eziologia, nei casi da noi studiati, non è stato possibile mettere in evidenza mutazioni o delezioni geniche, come non è stato possibile trovare una causa organica: infatti le Risonanze Magnetiche Nucleari fatte sui singoli pazienti sono risultate tutte nella norma.

Invece abbiamo notato come i piccoli pazienti che abbiano familiari con storia di epilessia, presentino un quadro da subito più grave, con evoluzione meno favorevole, con maggiore farmaco-resistenza e recupero cognitivo più lento o sfavorevole.

La semiologia delle crisi nella EMA è davvero varia. Il primo tipo a manifestarsi, all'inizio della storia epilettologica dei nostri pazienti, è stata la crisi tonico-clonica generalizzata, che è apparsa durante la veglia e, successivamente nel corso della malattia, si è manifestata anche durante il sonno. In alcuni casi era concomitante uno stato febbrile.

Il secondo tipo di crisi per frequenza è la crisi mioclonica e mioclono-astatica: clinicamente si presenta con brevi, generalizzati attacchi che coinvolgono il corpo, isolati o replicanti in una serie di due o tre eventi. Sono coinvolti i muscoli prossimali che causano una improvvisa flessione della testa e del tronco con possibile, e frequente, caduta a terra. E' possibile il verificarsi di traumi o ferite. La durata di questi episodi è di solito brevissima, da 0.5 a 1 secondo, e qualche volta sono accompagnati da perdita, altrettanto breve, del contatto. Le cadute possono essere diretta conseguenza del massivo attacco mioclonico oppure il risultato del periodo di silenzio post-mioclonico che può talvolta essere significativo.

In tutti i nostri pazienti si sono presentate crisi di as-

senza. Sono prevalentemente assenze atipiche associate a riduzione del tono muscolare. In un caso si è presentato più volte nel corso della malattia uno stato non convulsivo, caratterizzato da stupore e apatia associati a contrazioni multifocali e aritmiche del volto e delle estremità. Questi episodi sono durati anche parecchi giorni.

Alcuni trattamenti inappropriati possono favorire la manifestazione dello stato non convulsivo, per esempio un trattamento con carbamazepina.

E ancora in tutti i nostri pazienti si sono avute nel corso della malattia crisi atoniche e mioclonico-atoniche, caratterizzate da improvvisa caduta a terra. Se in piedi i pazienti possono, cadendo, procurarsi delle ferite e se sono seduti si nota come un cedimento del tronco in avanti o indietro o lateralmente. In un caso le crisi mioclonico-atoniche procurano cadute dal letto durante la notte.

Anche le crisi toniche si sono manifestate in tutti i nostri pazienti, soprattutto dopo alcuni anni di malattia. Possono essere crisi assiali o attacchi tonici durante il sonno o crisi tonico-vibratorie, per lo più verso la fine del sonno notturno. Le crisi tonico-vibratorie si sono viste più frequentemente in un caso con evoluzione più grave. Tuttavia anche i casi con evoluzione più favorevole hanno presentato spesso crisi toniche.

Le convulsioni febbrili possono essere presenti nella EMA: solo in due dei casi studiati si sono manifestate all'inizio della malattia.

Sono molto vari e difficilmente schematizzabili i quadri EEG e la video-EEG poligrafia nei casi di EMA.

I primi EEG registrati nei nostri pazienti, dopo il primo attacco, sono apparsi tutti nella norma. Poi, all'esordio, compare un'attività ritmica a 4-7 Hz, a predominanza centro-parietale. Le anomalie intercritiche consistono in bursts di scariche di PPO generalizzate a 2-3 Hz, spesso asimmetriche e prevalenti sulle regioni anteriori. Nel sonno si ha un incremento delle scariche generalizzate, talvolta accompagnate da scosse miocloniche. Le crisi miocloniche sono elettricamente caratterizzate da un complesso PP-O generalizzato che può essere isolato o ripetersi ritmicamente a 2-4 Hz, della durata di 2-6 secondi. Gli attacchi mioclonici, che coinvolgono soprattutto l'arto superiore, sono simultanei con un complesso PO. L'EMG correlato a ciascun attacco è un burst che dura circa 100ms, seguito da un lungo periodo di silenzio post-mioclonico (200-500 ms). Ma il breve attacco e il periodo del silenzio mioclonico concorrono a produrre un drop attack (una caduta improvvisa), tipico di questa sindrome. Spesso abbiamo osservato o un

singolo attacco o una serie di due o tre attacchi. (L'analisi neurofisiologica degli attacchi mioclonici dimostra che le scariche di PO sono bilaterali e sincrone, con una latenza di 2-4 ms; che i bursts all'EMG sono sincroni su entrambi i deltoidi e simultanei alla P negativa con un latenza media di 30ms. Questi dati confermano l'origine talamo-corticale dell'attacco mioclonico).

La crisi atonica è caratterizzata all'EEG da una scarica ritmica di complessi PPO Lenti a 2-4 Hz, accompagnati da una inibizione all'EMG, della durata di 60-400ms, sincrona nei muscoli registrati e simultanea all'inizio dell'Onda Lenta.

Le crisi atoniche pure alla registrazione EMG mostrano un periodo di silenzio della durata di 400ms che coinvolge simultaneamente i muscoli antagonisti e non è preceduto da attacchi mioclonici. L'EEG mostra una scarica di PO generalizzata.

Le crisi toniche sono accompagnate da scariche di PP a 10-15 Hz che durano quanto la contrazione tonica all'EMG. La contrazione tonica è registrata nel modo migliore sui muscoli deltoidi e i muscoli assiali dove usualmente inizia con un pattern "in crescendo".

Infine lo stato mioclonico è associato ad un tracciato EEG veramente irregolare e caotico che, indipendentemente dalle scariche di PO, somiglia ad una ipsaritmia. Sono stati registrati attacchi mioclonici focali ed erratici sui muscoli distali e facciali. Sono attacchi brevi, non simultanei alle singole Punte.

Per quanto riguarda il profilo neuropsicologico possiamo dire che in tutti i nostri pazienti abbiamo potuto riscontrare problemi comportamentali, di iperattività e di deficit attentivo, che sono tanto più marcati quanto più l'evoluzione clinica è sfavorevole. Si deve tuttavia aggiungere che soprattutto dopo l'inserimento a scuola, e grazie anche alle terapie farmacologiche e riabilitative, queste caratteristiche sembrano stemperarsi, lasciando il posto ad una evoluzione più favorevole del comportamento; questo è stato confermato anche dalle valutazioni motorie e logopediche dei nostri pazienti. Queste caratteristiche sembrano dunque essere anche età correlata.

I nostri bambini hanno presentato fin dall'inizio un ritardo dello sviluppo del linguaggio, e questo prima che l'epilessia si sia manifestata. Questo sembrerebbe deporre per una causa genetica, dalla quale potrebbe dipendere l'epilessia stessa.

Il livello cognitivo, apparso nel corso delle valutazioni, ha sempre messo in evidenza (escluso un unico caso) un ritardo mentale, per lo più di grado medio; in due dei casi studiati, il ritardo è grave (e

in un caso si ha gentilizio positivo per epilessia e nell'altro una probabile ereditarietà legata al cromosoma X). Sicuramente in questi casi il deterioramento neurologico e cognitivo è stato anche provocato dall'evoluzione sfavorevole della malattia, con presenza di stati di male "minore" ripetuti.

Si è anche vista una correlazione favorevole tra il miglioramento dell'epilessia, sia clinico che EEG, e un miglioramento, anche se pur sempre relativo, delle prestazioni cognitive e del linguaggio. Abbiamo anche notato come al miglioramento clinico ed EEG dell'epilessia non corrisponda, in termini di tempo, un immediato miglioramento psicologico e cognitivo. Tre dei nostri pazienti che hanno avuto un'evoluzione più favorevole della malattia, hanno dimostrato solo a distanza di un anno un viraggio favorevole del comportamento e di alcune prestazioni cognitive, in particolare tempi di attenzione sensibilmente aumentati. Questi bambini sono comunque stati seguiti con un programma riabilitativo: a conferma cioè del fatto che il recupero, quando possibile, di questi pazienti, è affidato a più fattori di intervento sia clinico che psicologico, che logopedico, che motorio.

In due dei nostri pazienti con ritardo mentale grave, si è notato, durante lo studio, un atteggiamento più favorevole nel corso delle valutazioni, quando la loro situazione clinica, e i corrispondenti tracciati EEG, erano migliorati.

Alcune difficoltà attentive o alcune prestazioni verbali sono migliorate o peggiorate in dipendenza da alcuni farmaci e la valutazione neuropsicologica l'ha messo bene in evidenza: sospendendo o riducendo il Rivotril, in due casi, si è avuto miglioramento sia comportamentale che cognitivo; anche il Luminalette in un caso ha portato ad aumento dell'irrequietezza motoria e dell'instabilità attentiva; il Topamax ha dimostrato di agire negativamente sul linguaggio.

Ma in definitiva non è possibile tracciare un vero profilo neuropsicologico associato alla EMA.

Manca la possibilità di tracciare delle componenti prognostiche, data la grande variabilità della malattia, e di definire dei metodi per giungere a queste componenti.

Esistono fattori protettivi? Forse lo sviluppo cognitivo raggiunto al momento del manifestarsi della malattia, e di conseguenza l'età di esordio.

Ma si dovrebbe comunque poter quantificare i risultati delle valutazioni prima e dopo il momento acuto della malattia e l'evoluzione successiva.

Anche nel nostro studio è comunque apparso chiaro che solo un intervento multidisciplinare può aiutare il paziente a recuperare, per quanto possibile,

delle abilità cognitive o comunicative o relazionali che possano migliorare la qualità della sua vita.

Per quanto riguarda il trattamento farmacologico, i migliori risultati nei nostri pazienti sono stati ottenuti dal Valproato per lo più in associazione con l'Eto-succimide, in particolare nelle crisi miocloniche e nelle assenze. Anche l'associazione Valproato e basse dosi di Benzodiazepine ha portato a buoni risultati. La Lamotrigina in due casi ha avuto un buon effetto sulle crisi.

Invece è apparso chiaro come la carbamazepina sia controindicata nei pazienti con EMA.

In due casi è stato necessario ricorrere ad un ciclo di Idrocortisone per risolvere lo stato di male minore e per ridurre le molteplici anomalie EEG. In entrambi i casi il farmaco ha avuto un effetto positivo. Nel caso più grave fra i nostri pazienti, da subito si è resa manifesta una farmaco-resistenza.

Per quanto riguarda il decorso clinico della EMA possiamo solo dire che esso è molto variabile e non si può dare una prognosi unica. Abbiamo visto che entro alcuni mesi dal primo attacco la malattia tende ad un incremento delle crisi e delle anomalie registrate all'EEG, sino a raggiungere una specie di stabilizzazione: ma la durata di questo periodo è davvero variabile da un anno a più anni. Ed è in questo periodo che i bambini si giocano la possibilità di una evoluzione favorevole o meno dello sviluppo cognitivo, del linguaggio e del comportamento. E qui giocano più fattori: genetici, farmacologici, fattori dipendenti dall'età e dal grado dello sviluppo raggiunto prima della malattia; ma anche il ripetersi di attacchi o il persistere di anomalie importanti all'EEG sono fattori determinanti nell'evoluzione. La persistenza, per esempio, di un ritmo EEG a 4-7 Hz e l'assenza dello sviluppo di un ritmo alfa occipitale sembrano essere indice di evoluzione sfavorevole.

## **RUOLO DELLA DINAMICA INTRACELLULARE DEI MITOCONDRI NELLA PATOGENESI DELLE NEUROPATIE PERIFERICHE**

**PROF. EMILIO CLEMENTI**

e-mail: EMILIO.CLEMENTI@BPLNF.IT

### **Linea di ricerca n.5**

Neurobiologia

### **Tipo di ricerca**

Corrente

### **Periodo di svolgimento**

2007

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

## **RIASSUNTO**

Molte delle neuropatie periferiche sono causate da mutazioni in geni che controllano direttamente o indirettamente i processi di fusione e fissione mitocondriale. Nostri studi preliminari hanno dimostrato che il nitrossido è coinvolto nella regolazione sia acuta che cronica dei processi di fissione e fusione mitocondriale, svolgendo anche funzioni importanti nella omeostasi neuronale e muscolare. Lo scopo della ricerca è duplice: chiarire i meccanismi molecolari attraverso cui il nitrossido regola l'azione di DRP-1 e delle altre proteine coinvolte nelle neuropatie; verificare se mutazioni parogenetiche in queste specifiche proteine modificano l'azione del nitrossido a livello mitocondriale e se questo evento può contribuire allo sviluppo di una neuropatia periferica attraverso lo studio del ruolo di NO e della fusione/fissione dei mitocondri nel differenziamento muscolare, incluso il ruolo di NO nella funzione mitocondriale. Rilevante allo studio è anche la definizione dei bersagli molecolari dell'azione dell'NO nella fusione/fissione mitocondriale.

I risultati conseguiti nel primo anno di lavoro suggeriscono che NO giochi un ruolo cruciale nelle fasi precoci della miogenesi e che la sua azione a questo livello sia mediata dal controllo dei fenomeni di fissione/fusione mitocondriale. In particolare i dati ottenuti suggeriscono che la fusione mitocondriale sia un evento precoce richiesto perché inizi il processo miogenetico. Le implicazioni di questo studio sono rilevanti nello studio dei meccanismi

molecolari alla base del difetto miogenetico osservato in corso di malattie degenerative muscolari, quali la distrofia muscolare di Duchenne, e suggeriscono che proteine coinvolte nei meccanismi di fissione e fusione mitocondriale possano essere nuovi possibili bersagli terapeutici.

### **Basi di partenza scientifiche del progetto e sua articolazione sperimentale**

Molte delle neuropatie periferiche sono causate da mutazioni in geni che controllano direttamente o indirettamente i processi di fusione e fissione mitocondriale. Tra questi vi sono: la gigaxonina, che bloccando il proteasoma porta ad accumulo di una proteina associata ai microtubuli (MAP 8) che regola il trasporto assonale anche dei mitocondri, le proteine neurofilament light subunit (NFL) e KIF1B, anch'esse coinvolte nel trasporto dei mitocondri, la dinactina, che controlla il reclutamento della proteina di fissione DRP-1 ai mitocondri, GDAP 1 (ganglioside-induced differentiation associated protein 1) che regola la fissione mitocondriale, la mitofusina 2, che regola dinamicamente la fusione mitocondriale in rapporto con FIS-1, OPA e DRP-1. Nostri studi preliminari hanno dimostrato che il nitrossido (NO) è coinvolto a livello del muscolo scheletrico nella regolazione sia acuta che cronica dei processi di fissione e fusione mitocondriale, soprattutto attraverso una interazione con DRP-1. L'NO ha anche funzioni importanti nella omeostasi muscolare ed una alterazione delle sue vie di segnale può contribuire al danno neuronale secondario a patologia muscolare.

Lo scopo della ricerca è duplice: chiarire i meccanismi molecolari attraverso cui NO regola l'azione di DRP-1 e delle altre proteine coinvolte nelle neuropatie; verificare se mutazioni patogenetiche in queste specifiche proteine modificano l'azione di NO a livello mitocondriale e se questo evento può contribuire allo sviluppo di una neuropatia periferica con particolare rilievo agli aspetti di danno secondario ad una alterata fisiopatologia muscolare. Le attività originariamente previste per questo progetto, da svolgersi nell'ambito di 36 mesi sono le seguenti:

**1. Ruolo di NO e della fusione/fissione dei mitocondri nel differenziamento muscolare.** Ci si era prefissi di studiare il processo di differenziamento di cellule muscolari attraverso l'analisi di parametri morfologici e biochimici (Pisconti et al., 2006) in presenza/assenza dei donatori di NO DETA-NO e dell'inibitore della sua sintesi L-NAME. Analogamente si prevedeva di studiare gli effetti dell'over-espressione di Drp-1 e del suo mutante dominante negativo

Drp-1K38A. Questi esperimenti saranno ripetuti in presenza/assenza di DETA-NO e di L-NAME al fine di stabilire l'effettiva inter-relazione tra eventi di dinamica mitocondriale, NO e differenziamento muscolare. Si prevedeva di analizzare i livelli di espressione delle proteine implicate nel rimodellamento mitocondriale e la morfologia degli organelli durante il differenziamento, sia con tecniche di microscopia elettronica, che tramite PEG assay e videomicroscopia (Cipolat et al., 2004).

**2. Funzione mitocondriale e ruolo di NO.** Ci si era prefissi di studiare i parametri biofisici e biochimici della funzionalità mitocondriale a diversi stadi del differenziamento dei mioblasti. Si analizzeranno l'attività della catena respiratoria mitocondriale, la generazione di ROS e lo stato redox dei mitocondri, utilizzando DETA-NO e L-NAME. Per tali esperimenti i protocolli sono descritti (Clementi et al., 1998; Palacios-Callender et al., 2004).

**3. Bersagli molecolari dell'azione dell'NO nella fusione/fissione mitocondriale.** Le proteine coinvolte nel rimodellamento mitocondriale agiscono attraverso attività enzimatica specifica e in seguito a traslocazioni citosol/mitocondri (Chen et al., 2000). Con gli esperimenti descritti in precedenza (punto 1) ci si prefiggeva di stabilire quali sono le molecole responsabili degli effetti dell'NO sulla dinamica mitocondriale durante il differenziamento dei mioblasti. Ci si era prefissi di identificare successivamente i meccanismi tramite i quali l'NO regola i suoi bersagli, misurando in questi ultimi variazioni nell'attività enzimatica, localizzazione cellulare e/o l'interazione con proteine del citoscheletro e dei mitocondri, tramite classiche procedure biochimiche e immunoistochimiche.

### Risultati e prodotti conseguiti

Il lavoro in questo primo anno di attività si è svolto, come originariamente previsto, in collaborazione con le seguenti strutture di ricerca interne all'Istituto: il Laboratorio (Dr.ssa Maria Teresa Bassi) e l'Unità di Neurofisiopatologia (Dr.ssa Grazia D'Angelo). Alcuni aspetti del lavoro sono stati condotti in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Precliniche ed il Dipartimento di Biologia dell'Università di Milano, il Telethon-Venetian Institute of Molecular Medicine, il Dipartimento di medicina sperimentale, Università di Milano-Bicocca ed il Wolfson Institute for Biomedical Research, University College London, a Londra.

In questo primo anno abbiamo studiato il processo di differenziamento di cellule muscolari, sia culture primarie di satelliti sia linee cellulari C2C12, in presenza/assenza dei donatori di NO DETA-NO e dell'inibitore della sua sintesi L-NAME. Per quanto riguarda

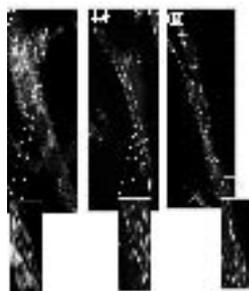
le cellule satelliti abbiamo utilizzato cellule primarie derivate da topi nativi mantenute in cultura ad alta densità, e quindi quiescenti, in cui il processo differenziativo è stato indotto insieme alla somministrazione di DETA-NO o L-NAME. Abbiamo analizzato i livelli di espressione di markers miogenici precoci, quali myoD, miogenina e pax 7. Abbiamo evidenziato che DETA-NO aumenta l'espressione di questi markers, mentre L-NAME la riduce. In concomitanza con questi eventi si è osservata una modificazione della localizzazione di DRP-1 la proteina coinvolta nella fissione mitocondriale, la cui azione dipende da traslocazione traslocazioni citosol/mitocondri (Chen et al., 2000). In particolare DETA-NO inibiva la traslocazione di DRP-1 ai mitocondri, mentre L-NAME la favoriva. L'effetto di NO era mediato dalla attivazione della guanilato ciclastasi e dalla generazione del messaggero ciclico GMP in quanto l'effetto di NO veniva riprodotto dall'analogo stabile del ciclico GMP 8-Br cGMP e l'effetto di L-NAME riprodotto utilizzando l'inibitore della guanilato ciclastasi ODQ. A questa variazione di localizzazione di DRP-1 si associava un cambiamento drastico nella struttura morfologica dei mitocondri, studiata mediante videomicroscopia in cellule caricate con la proteina mitocondriotropica fluorescente mito-DS-red. In particolare, si osservava che DETA-NO induceva fusione dei mitocondri ed L-NAME ed ODQ fissione (figura 1). Questi dati suggeriscono che NO giochi un ruolo cruciale nelle fasi precoci della miogenesi e che la sua azione a questo livello sia mediata dal controllo dei fenomeni di fissione/fusione mitocondriale. In particolare i dati suggeriscono che la fusione mitocondriale sia un evento precoce richiesto perché inizi il processo miogenetico. Le implicazioni di questo studio sono rilevanti nello studio dei meccanismi molecolari alla base del difetto miogenetico osservato in corso di malattie degenerative muscolari, quali la distrofia muscolare di Duchenne, e suggeriscono che proteine coinvolte nei meccanismi di fissione e fusione mitocondriale possano essere nuovi possibili bersagli terapeutici.

Un lavoro è in preparazione e dovrebbe essere spedito nella prima metà del 2008

Figura 1



24 h di differenziamento



72 h di differenziamento

Figura 1: Regolazione della fissione/fusione mitocondriale in corso di miogenesi da parte di NO/ci-clicoGMP.

Cellule C2C12 sono state transfettate transiente-mente col colorante fluorescente mitocondriotropico MitoDS red; sono state quindi trattate con o senza L-NAME (1 mM) od ODQ (1  $\mu$ M) per 24 o 48 ore dopo induzione di differenziamento miogenico in terreno a basso siero (1 %). Le cellule sono state analizzate per immunofluorescenza.

### Referenze

Chen YW, Zhao P, Borup R, Hoffman EP. (2000); EXPRESSION PROFILING IN THE MUSCULAR DYSTROPHIES: IDENTIFICATION OF NOVEL ASPECTS OF MOLECULAR PATHOPHYSIOLOGY. *J Cell Biol* 151:1321-1336

Cipolat S, Martins de Brito O, Dal Zilio B, Scorrano L. (2004); OPA1 REQUIRES MITOFUSIN 1 TO PROMOTE MITOCHONDRIAL FUSION. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:15927-15932

Clementi E, Brown GC, Feelisch M, Moncada S. (1998); PERSISTENT INHIBITION OF CELL RESPIRATION BY NITRIC OXIDE: CRUCIAL ROLE OF S-NITROSYLATION OF MITOCHONDRIAL COMPLEX I AND PROTECTIVE ACTION OF GLUTATHIONE. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:7631-7636

Palacios-Callender M, Quintero M, Hollis VS, Springett RJ, Moncada S. (2004); ENDOGENOUS NO REGULATES SUPEROXIDE PRODUCTION AT LOW OXYGEN CONCENTRATIONS BY MODIFYING THE REDOX STATE OF CYTOCHROME C OXIDASE. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:7630-7635

Pisconti A, Brunelli S, Di Padova M, De Palma C, Deponti D, Baesso S, Sartorelli V, Cossu G, Clementi E. (2006); FOLLISTATIN INDUCTION BY NITRIC OXIDE THROUGH CYCLIC GMP: A TIGHTLY REGULATED SIGNALING PATHWAY THAT CONTROLS MYOBLAST FUSION. *J Cell Biol* 172:233-244

## VALUTAZIONE CLINICA, MODELLI CELLULARI E APPROCCIO TERAPEUTICO IN DIVERSE PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE E NEUROMOTORIE

**DOTT.SSA MARIA TERESA BASSI**

e-mail: MARIATERESA.BASSI@BP.LNF.IT

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### RIASSUNTO

L'attività svolta nell'ambito di questa ricerca svolta tra il 2005 e il 2007 è stata distribuita in diverse patologie neurodegenerative alcune coinvolgenti specificamente l'età pediatrica quali le ceroidolipofuscinosi o la sclerosi laterale primaria giovanile, altre coinvolgenti entrambi bambini e adulti come le paraparesi spastiche o le SLA dell'età giovane adulta. Sono state caratterizzate ampie casistiche di pazienti soprattutto nelle paraparesi spastiche con particolare riguardo sia alla parte clinico funzionale sia alla parte genetica. In entrambi i casi le pubblicazioni già ottenute come sotto riportato indicano la validità dei risultati ottenuti. Sono state identificate diverse mutazioni in alcuni geni mutati nelle varie forme di paraparesi ereditarie e tale lavoro costituirà la base per attività future in un ambito più cellulare e biochimico. Di particolare interesse sarà lo sviluppo di modelli di *Drosophila* su alcuni di questi mutanti, attività che è già stata avviata presso il laboratorio del Dott. Martinuzzi a Padova. Nell'ambito delle ceroidolipofuscinosi l'esiguità numerica della casistica disponibile, associata all'identificazione di una nuova mutazione nel gene CLN8 ha indotto a focalizzare l'attenzione su questo singolo mutante portando alla caratterizzazione funzionale almeno preliminare del prodotto del gene CLN8 di cui fino a pochi anni fa si sapeva ben poco. Tale proteina risulta essere coinvolta nel controllo della proliferazione durante il differenzia-

mento neuronale. Cln8 non protegge dal danno cellulare ma mutazioni che inattivano questa proteina e soprattutto la sua mancanza rendono la cellula più sensibile agli stimoli citotossici. Questo potrebbe spiegare la degenerazione osservata nei pazienti.

### PRODOTTI DELLA RICERCA:

Cimolin V, Piccinini L, D'Angelo MG, A C T, Berti M, Crivellini M, Alberini G, Galli M.; ARE PATIENTS WITH HEREDITARY SPASTIC PARAPLEGIA DIFFERENT FROM PATIENTS WITH SPASTIC DIPLEGIA DURING WALKING? GAIT EVALUATION USING 3D GAIT ANALYSIS. *Funct Neurol.* 2007 Jan-Mar;22(1):23-8

Arnoldi A, Tonelli A, Crippa F, Villani G, Pacelli C, Sironi M, Bozzoli U, D'Angelo MG, Meola G, Martinuzzi A, Crivella C, Redaelli F, Panzeri C, Renieri A, Comi GP, Turconi AC, Bresolin N, Bassi MT.; A CLINICAL, GENETIC AND BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF SPG7 MUTATIONS IN A LARGE COHORT OF PATIENTS WITH HEREDITARY SPASTIC PARAPLEGIA. *Hum Mut* 2008, [published ahead of print]

Sztrihai L, Panzeri C, Kálmánchey R, Szabó N, Endreffy E, Túri S, Baschiroto C, Bresolin N, Vekerdy Z, Bassi MT.; FIRST CASE OF COMPOUND HETEROZYGOSITY IN ALS2 GENE IN INFANTILE-ONSET ASCENDING SPASTIC PARALYSIS WITH BULBAR INVOLVEMENT; *Clinical Genetics* 2008 Jun, 73(6):591-3

De Palma C, Falacone S, Panzer C, Radice S, Bassi MT, Clementi E.; ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE OVEREXPRESSION BY NEURONAL CELLS IN NEURODEGENERATION: A LINK BETWEEN INFLAMMATION AND NEUROPROTECTION. *Sottomesso a Journal of Neurochemistry. journal of neurochemistry epub* 2008 1 jul 106(1):193-204

## ANALISI DI BREAK POINT IN RIARRANGIAMENTI CROMOSOMICI RICORRENTI E NON: STUDIO CITOGENETICO, MOLECOLARE BIOINFORMATICO E VERIFICA SPERIMENTALE ATTRAVERSO L'USO DI ORGANISMI MODELLO

**DOTT. ROBERTO GIORDA**

e-mail: ROBERTO.GIORDA@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### RIASSUNTO

I riarrangiamenti cromosomici (delezioni, duplicazioni, traslocazioni) sono cause importanti di tumori e malattie ereditarie. Abbiamo raccolto e analizzato informazioni sui punti di rottura di una casistica di traslocazioni non ricorrenti scoperte durante l'iter diagnostico di soggetti afferenti al nostro Istituto, insieme ad altri casi inviati da laboratori esterni. Le traslocazioni sono state analizzate mediante tecniche di citogenetica molecolare per definire i punti di rottura con una approssimazione di 50-100 Kilobasi; poi i punti di rottura sono stati definiti, mediante long-range PCR o generando cloni ibridi uomo-hamster, e sequenziati. Utilizzando un sistema sperimentale basato sull'uso di cellule di lievito per lo studio delle sequenze coinvolte nella formazione di rotture a doppio filamento nel genoma di mammifero, abbiamo analizzato riarrangiamenti cromosomici sia ricorrenti che non ricorrenti. "Hot-spots" di ricombinazione sono stati associati con alcuni riarrangiamenti ricorrenti.

## SVILUPPO DI UN MODELLO DI EPILESSIA MIOCLONICA GIOVANILE IN DROSOPHILA

**DOTT. ANDREA DAGA**

e-mail: DAGA@UNIPD.IT

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Conegliano

## RIASSUNTO

Nel corso dell'anno 2007 sono stati ottenuti i seguenti risultati:

1. È stato determinato che il gene CG8959 quando sovraespresso causa difetti nello sviluppo dell'ala dovuti a diminuzione del segnale del pathway di Notch.
2. Abbiamo identificato un ruolo di CG8959 nello sviluppo dendritico studiando sia la sovraespressione sia il mutante. Poiché Notch è coinvolto in questo processo i nostri dati confermano la presenza di una relazione funzionale tra CG8959 e Notch.
3. Studi di neurofisiologia della giunzione neuromuscolare eseguiti in collaborazione con il Prof. Ramaswami hanno dimostrato che in assenza di CG8959 il rilascio spontaneo di neurotrasmettitore è più frequente della norma. Al contrario la sovraespressione di CG8959 non sembra causare fenotipi di tipo elettrofisiologico.
4. Utilizzando le linee donor precedentemente create abbiamo generato un mutante knockout per il gene CG8959.
5. Sono stati analizzati gli animali transgenici per il knock-down per mezzo di RNA interference di entrambe le proteine, ma l'analisi fenotipica ha rivelato che queste linee sono inefficienti e non in grado di abbattere l'espressione delle proteine endogene.
6. Sono state create nuove linee transgeniche "donor" necessarie per la generazione di Drosophilae knockout per il gene CG11048.
7. Sono stati generati nuovi anticorpi per l'identificazione delle proteine CG8959 e CG11048.

## ATASSIE: VALUTAZIONE CLINICO-STRUMENTALE E ANALISI GENETICA DI UN'AMPIA CASISTICA DI PAZIENTI. STUDIO DI MODELLI CELLULARI E ANIMALI

**PROF. NEREO BRESOLIN**

e-mail: NEREO.BRESOLIN@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

## RIASSUNTO

Le atassie ereditarie sono un gruppo eterogeneo di patologie neurologiche caratterizzate da progressiva degenerazione del cervelletto e/o delle vie cerebellari afferenti ed efferenti.

Il progetto di ricerca ha avuto come obiettivi principali:

- a) la raccolta, classificazione e caratterizzazione di una casistica di pazienti affetti da atassia cerebellare ereditaria seguita da un'analisi genetica della casistica selezionata;
- b) lo studio dei meccanismi patogenetici della degenerazione delle cellule del Purkinje del cervelletto in un modello murino di atassia spinocerebellare di tipo I.

Sono stati individuati 15 casi familiari affetti da atassia ereditaria a trasmissione autosomica dominante, 15 a trasmissione autosomica recessiva, 10 con ereditarietà di tipo mitocondriale e 25 casi sporadici. Fra questi abbiamo identificato 6 famiglie con atassia ed aprassia oculomotoria che sono state pertanto screenate per mutazioni di aprataxina e senataxina.

In una famiglia con due pazienti affetti è stata evidenziata una nuova mutazione del gene della senataxina: una delezione di tre paia di basi (c.340\_342delCTT) a livello del dominio proteico probabilmente deputato alle interazioni con altre proteine. Fra i casi di atassia recessiva abbiamo inoltre caratterizzato una famiglia in cui i due bimbi

Rom che presentavano atassia, cataratta congenita, dimorfismi facciali e neuropatia periferica, cui abbiamo posto diagnosi di CCFDN (“Congenital chatact, facial dysmorfisms, neuropathy syndrome”), una rara forma di atassia sindromica dovuta mutazione del gene CTD1. Fra i pazienti con forma sporadica abbiamo identificato una piccola paziente di 3 anni affetta da un’atassia cerebellare ad esordio precoce, ipodontia, ipomielinizzazione della sostanza bianca e atrofia cerebellare che configurano la sindrome ADDH (ataxia, delayed dentition and hypomyelination). Per tale atassia sindromica non è stato finora identificato nessun possibile gene candidato.

Al fine di poter meglio studiare i meccanismi patogenetici dell’atassia spinocerebellare di tipo I ne abbiamo utilizzato un modello murino.

Abbiamo dimostrato che l’attività della sfingomielinasi acida, un enzima dotato di attività C fosfolipasica che idrolizza il legame fosfodiesterico della sfingomielina con formazione di ceramide e fosforilcolina, aumenta in maniera statisticamente significativa rispetto ai controlli durante il periodo di “sofferenza cellulare”, e diminuisce poi progressivamente con la morte delle PuC. Abbiamo rilevato inoltre una riduzione dell’attività di COX, evidenziata su sezioni di cervelletto, che si verifica solo a livello delle cellule del Purkinje, rimanendo inalterata nelle restanti popolazioni neuronali della corteccia cerebellare.

Abbiamo quindi ipotizzato che l’aumento dell’attività sfingomielinasica, e conseguentemente del ceramide, potesse innescare un processo apoptotico mitocondrio-mediato che contribuisca alla degenerazione delle cellule di Purkinje, durante le prime fasi della malattia.

Abbiamo quindi determinato il grado di espressione di alcune proteine coinvolte nell’apoptosi mitocondrio-mediata, in particolare Bcl-2 e Bcl-xl, Bak e Bax, Apaf-1, Caspasi-9, Caspasi-3.

Sono stati analizzati i cervelletti prelevati da topi wild-type, topi eterozigoti e topi omozigoti, tutti di 10 settimane di età. Nessuna variazione di rilievo è stata vista circa i livelli di espressione delle proteine Bcl-xl, Bak, APAF-1 e Caspasi 9 mentre abbiamo assistito ad un aumento dell’espressione di Bax nei topi eterozigoti e omozigoti rispetto ai topi wild-type. Inoltre abbiamo rilevato una diminuzione di espressione di Bcl-2 ed un incremento di Caspasi3 nei medesimi animali.

## THE REHABILITATING SHOE: UN DISPOSITIVO INDOSSABILE PER LA RIABILITAZIONE A DOMICILIO DEL PAZIENTE POST-CHIRURGICO, MEDIANTE MONITORAGGIO DEL CARICO PLANTARE

**MATTEO CAVALLERI**

e-mail: MATTEO.CAVALLERI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.6

Bioingegneria

### Tipo di ricerca

Corrente

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### RIASSUNTO

L’attuale panorama sanitario dimostra un crescente interesse nei confronti dell’Home-Care come strumento per l’innalzamento della qualità di vita del cittadino, per il miglioramento dell’efficacia delle prestazioni offerte e per il contenimento della spesa sanitaria.

La costante evoluzione delle tecnologie permette di disegnare architetture che consentano l’integrazione di dispositivi domestici in applicazioni home-care, facilitando lo sviluppo di applicazioni verticali strettamente interagenti e cooperanti con l’ambiente in cui l’individuo è quotidianamente inserito.

In campo riabilitativo emerge l’esigenza di un monitoraggio continuo dell’evoluzione delle condizioni dei pazienti. È importante per esempio che soggetti che si sottopongono ad intervento chirurgico ad un arto inferiore riprendano dopo l’operazione una corretta distribuzione dei carichi su entrambi gli arti per favorire il processo di osteogenesi e il recupero di una postura e di una deambulazione corrette.

Tali soggetti vengono quindi sottoposti abitualmente a sedute di terapia e a controlli periodici presso le strutture abilitate per monitorare i progressi e gli eventuali problemi.

Si ritiene che potrebbe essere utile poter avere un riscontro della situazione dei pazienti anche tra una visita e l’altra, dotando i soggetti di uno strumento di facile funzionamento e piccole dimensioni che li possa guidare nel percorso di riabilitazione, direttamente

da casa, fornendo per esempio delle indicazioni sulla corretta distribuzione dei carichi sugli arti inferiori, basate su parametri preimpostati definiti dal terapeuta ad hoc per ciascun paziente o classe di pazienti.

L'utilizzo di un simile dispositivo può quindi avere la duplice funzione di ausilio al paziente e di ausilio al medico con l'ulteriore beneficio di poter ottimizzare la frequenza dei controlli e l'intensità della terapia in relazione alle effettive condizioni di recupero del soggetto.

Scopo del progetto è stato quello di realizzare una struttura semplice che possa essere facilmente impiegata anche da soggetti con poca dimestichezza con la tecnologia, che fornisca in tempo reale delle indicazioni al soggetto rispetto ai parametri che si riterrà utile analizzare e che possa essere utilizzata anche continuativamente per periodi prolungati.

Nel corso del progetto è stata realizzata una soletta simile a quelle comunemente utilizzate all'interno delle calzature, dotata di sensori che permettono la rilevazione della distribuzione del carico sui piedi, così da poter fornire al soggetto che le indossa un feedback rispetto alla correttezza delle proprie modalità di deambulazione, anche in base ad un protocollo preimpostato durante il periodo di ricovero. È così possibile che il soggetto, indossando un oggetto di uso quotidiano, possa essere guidato direttamente da casa nel processo riabilitativo o nel monitoraggio delle sue condizioni di cammino.

L'apparecchiatura realizzata ha dimensioni limitate e un ingombro minimo in modo da non creare fastidio all'utilizzatore e non interferire nelle sue modalità di cammino. Non necessita di dispositivi di elaborazione esterni e il sistema è studiato per essere facilmente indossato.

Il dispositivo permette la registrazione dei progressi nella riabilitazione del paziente e può essere utilizzato in diversi ambiti (context awareness): per esempio sia dal terapeuta per un controllo quantitativo di alcuni parametri altrimenti rilevabili solo a livello qualitativo, o dal paziente stesso al proprio domicilio come semplice ausilio durante il periodo di riabilitazione.

Lo strumento realizzato è fruibile dal paziente grazie ad un semplice sistema di feedback e dal medico curante come strumento per una valutazione più precisa durante la programmazione del trattamento riabilitativo.

I benefici di un simile dispositivo possono infine essere sfruttati da più categorie di soggetti, dai pazienti che seguono una terapia di riabilitazione post chirurgica e hanno necessità di caricare adeguatamente l'arto operato, agli sportivi che vogliono monitorare la corretta distribuzione dei carichi su entrambi gli arti, seguendo la filosofia del design for all.

## ARCHITETTURE IT PER L'INTEGRAZIONE DI DISPOSITIVI DOMESTICI IN APPLICAZIONI DI HOME CARE (ITACA)

**MATTEO CAVALLERI**

e-mail: MATTEO.CAVALLERI@BP.LNF.IT

### Linea di ricerca n.6

Bioingegneria

### Tipo di ricerca

Corrente

### Polo scientifico

Bosisio Parini

## RIASSUNTO

La Telemedicina prevede l'applicazione delle tecnologie informatiche e delle telecomunicazioni alla scienza medica. Rappresenta quindi una particolare modalità di erogazione dell'assistenza sanitaria, attraverso cui si rendono disponibili risorse mediche remote a pazienti o ad altri operatori sanitari.

Il telemonitoraggio, in particolare, si prefigge la supervisione dello stato di salute del paziente che si trova presso il suo domicilio, evitando così al paziente stesso la necessità di recarsi presso la struttura sanitaria.

Le condizioni da soddisfare per arrivare a questi obiettivi consistono nel mettere a punto le tecnologie necessarie, nel ridisegnare la logica e i flussi organizzativi, nel superare le resistenze al cambiamento dei cittadini e degli operatori.

Le finalità del progetto di ricerca consistono nello sviluppo di modelli di telemonitoraggio avanzati, basati sull'impiego di reti telematiche, per consentire la valutazione remota dello stato di salute del paziente domiciliare affetto da patologia critica (es. pazienti affetti da paralisi cerebrale infantile, sottoposti a trattamento con tossina botulinica). In particolare ci si è prefissati la definizione di protocolli clinici innovativi in grado di sfruttare alcune tecnologie di trasmissione audio-video di larga diffusione, dunque sempre più facilmente reperibili al domicilio del paziente senza la necessità di attrezzature speciali, e la valutazione della facilità di utilizzo e della soddisfazione da parte degli utilizzatori del servizio (clinici e pazienti-caregivers).

Nel corso del 2007 è stata svolta l'attività di spe-

rimentazione, il progetto è stato proposto a 12 famiglie, 9 delle quali hanno accettato di partecipare. Per 7 famiglie la sperimentazione è stata svolta in modo completo, le riprese degli esercizi concordati col medico sono state effettuate ed inviate secondo il calendario prestabilito nel corso dei tre mesi intercorsi tra il trattamento in Istituto e la visita di controllo. Due famiglie hanno invece portato a termine solo parzialmente la sperimentazione per problemi legati al funzionamento del dispositivo palmare.

Al termine del periodo di sperimentazione, in occasione della visita di controllo in Istituto le famiglie hanno riconsegnato il palmare e la documentazione necessaria alla valutazione del progetto. Le famiglie coinvolte hanno dimostrato fin dal momento della proposta interesse nel progetto, intuendo la comodità di avere un riscontro costante sul decorso del trattamento, senza dover tornare in Istituto. Inoltre poter mostrare al medico un filmato è stato percepito come un miglioramento rispetto alla semplice eventuale telefonata.

Nel corso della sperimentazione le famiglie hanno partecipato attivamente permettendo di mettere in luce anche alcune difficoltà, riguardanti principalmente due aspetti: l'utilizzo del palmare e l'esecuzione degli esercizi.

Solo alcune delle famiglie reclutate utilizzano abitualmente un computer, quindi nonostante le operazioni da compiere col palmare siano state rapidamente apprese, è rimasta una sensazione di poca confidenza col dispositivo. Anche la connessione GPRS utilizzata per il trasferimento dati è risultata ancora molto lenta rispetto a questo tipo di applicazioni, mentre la connessione UMTS non copre ancora l'intero territorio nazionale, dunque la lentezza della trasmissione dei filmati dovuta al tipo di connessione utilizzata ha in alcuni casi frenato l'entusiasmo iniziale. Un'altra difficoltà manifestata dagli utenti è stata quella di non sentirsi del tutto in grado di far svolgere correttamente gli esercizi al paziente. Tre famiglie su nove hanno deciso per esempio di sfruttare gli incontri con i fisioterapisti per effettuare almeno la prima serie di riprese.

Dal punto di vista dei medici è emerso interesse nel progetto, nonostante la scarsa qualità di alcune riprese abbiano reso difficoltoso formulare una valutazione clinica precisa. I problemi principali sono dovuti alle inquadrature che a volte risultano mosse e con prospettive poco precise.

Le prime valutazioni fatte col medico referente sono quindi state tese più ad individuare delle possibili indicazioni da fornire alle famiglie per migliorare la qualità dei filmati, che ad una valutazione clinica

dello stato del paziente.

Per i casi finora analizzati il telemonitoraggio ha comunque permesso di osservare un normale decorso post trattamento e di tenere informate costantemente le famiglie sull'assenza di problematiche particolari, influenzando sempre in modo positivo sulla tranquillità durante il periodo di valutazione, come emerso dai questionari raccolti. Per nessuna delle famiglie coinvolte è stato necessario modificare la tempistica prevista per i controlli in Istituto.

Alla luce dei risultati di questa prima sperimentazione e visto l'interesse riscontrato, potrebbe essere interessante continuare la sperimentazione del telemonitoraggio, utilizzando dispositivi con tecnologia più aggiornata rispetto ai palmari utilizzati in questa fase e su patologie differenti che non abbiano per esempio un decorso e una programmazione delle visite in Istituto già predefinite come nel caso analizzato, per poter mettere in luce maggiormente le potenzialità del progetto.

## **INTEGRAZIONE DI PROCESSI RIABILITATIVI IN DISPOSITIVI ELETTRONICI PER IL CONTROLLO DI UN ESOSCHELETRO DELLA MANO REALIZZATO CON MATERIALI A MEMORIA DI FORMA**

**ING. GIANLUIGI RENI**

e-mail: GIANLUIGI.RENI@BPLNF.IT

### **Linea di ricerca n.6**

Bioingegneria

### **Tipo di ricerca**

Corrente

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

## **RIASSUNTO**

La ricerca nel campo biomedico e sanitario vede un grande interesse a realizzare dispositivi che possano migliorare la qualità della vita di persone con patologie croniche. La tecnologia in particolare può costituire un valido supporto nella riabilitazione, per esempio fornendo soluzioni ad hoc quando si presenti la necessità di una fisioterapia prolungata nel tempo.

Questo progetto ha visto lo sviluppo di un sistema di controllo elettronico di un'ortesi intelligente per la mano. In particolare questo sistema è rivolto a soggetti che hanno perso la mobilità della mano in seguito a un ictus, oppure soggetti spastici che spesso hanno le articolazioni molto contratte e che quindi necessitano di fisioterapia continua per migliorare le proprie performance motorie.

L'ortesi elettronica di mano che è stata realizzata risulta essere un importante strumento di supporto per il fisioterapista nella riabilitazione dei pazienti all'interno di strutture sanitarie e ha possibilità di impiego anche come dispositivo domiciliare direttamente utilizzato dal paziente.

La meccanica dell'ortesi è stata realizzata dall'Istituto per l'Energetica e le Interfasi del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IENI-CNR), sede di Lecco, che ha selezionato il materiale a memoria di forma adeguato, si è occupato della sua caratterizzazione meccanica e ha provveduto allo sviluppo meccanico del dispositivo, al sistema di montaggio del materiale scelto all'interno di un guanto, ai materiali più adeguati con cui rivestire il tutto per ottimizzare

l'isolamento elettrico.

Gli attuatori utilizzati impiegano materiali a memoria di forma (Shape Memory Alloys – SMA) in corrispondenza di ogni falange della mano. Gli SMA hanno la proprietà di tornare a una forma predeterminata quando riscaldati.

Il controllo elettronico ha la funzione di governare gli attuatori; ciascuno di essi può essere gestito indipendentemente dagli altri, in modo tale da ottenere un pattern molto vario di movimento consentito alla mano, con indipendenza tra le singole dita e addirittura tra falange, falangina e falangetta. E' prevista la possibilità di governare indipendentemente la velocità di azione di ciascun attuatore, entro i limiti di ampiezza di banda consentiti dal materiale SMA impiegato. I parametri di controllo per ciascun attuatore sono la corrente fatta circolare in ogni SMA, che provoca l'incremento di temperatura, e il tempo per cui questa corrente viene erogata. E' previsto un sistema di sicurezza, integrato con il sistema di controllo, per evitare il raggiungimento di temperature eccessive che potrebbero danneggiare il materiale. Il cuore del sistema di controllo elettronico è costituito da un microcontrollore programmabile e da un FPGA nel quale è stata sintetizzata una rete ad hoc per la gestione simultanea dei segnali PWM che controllano l'erogazione di corrente nei singoli attuatori. Il dispositivo prevede che il fisioterapista possa pre-caricare molteplici esercizi nella memoria del microcontrollore e impostare diversi parametri che consentano di ottenere un pattern specifico di movimento delle dita a seconda del paziente e della patologia. La configurazione del sistema avviene per mezzo di un PC con un software ad interfaccia grafica.

Inoltre l'intero dispositivo si è mostrato di semplice utilizzo come sistema stand alone. Infatti è possibile attivare l'esercizio in modo immediato senza la necessità di collegamento ad un PC, premendo un pulsante posto sulla scatola che contiene l'elettronica. Ciò apre buone prospettive riguardo una eventuale commercializzazione del prodotto poiché l'ortesi potrebbe essere acquistata e utilizzata non solo dalle cliniche di cura, all'interno dei laboratori di fisioterapia, ma anche da privati che potrebbero utilizzare l'ortesi per una riabilitazione passiva domiciliare.

## IDENTIFICAZIONE, ANALISI E CARATTERIZZAZIONE FUNZIONALE DI SNPS MCS ED ELEMENTI TRASPONIBILI NEL GENOMA UMANO: LE POTENZIALITÀ DELL'USO COMBINATO DI DIVERGENZA INTERSPECIFICA E VARIABILITÀ INTRASPECIFICA

**ING. UBERTO POZZOLI**

e-mail: UBERTO.POZZOLI@BP.LNF.IT

### Linea di ricerca n.7

Bioinformatica

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2007

### Polo scientifico

Bosisio Parini

## RIASSUNTO

Come previsto, durante lo scorso anno di lavoro abbiamo sviluppato un modello che descrive l'evoluzione della composizione in basi (contenuto di GC) nel genoma umano e nelle sequenze non codificate, in particolare. Il modello indica che la composizione in basi dipende sia da eventi neutri (ovvero biased gene conversion) sia da eventi selettivi atti a consentire il mantenimento delle isocore. Abbiamo inoltre provveduto a estendere il modello da noi precedentemente proposto e relativo alle dimensioni delle sequenze introniche ad un invertebrato, ovvero la *Drosophila melanogaster*. Per quanto riguarda l'analisi delle sequenze coinvolte nella ricombinazione meiotica, abbiamo utilizzato un sistema sperimentale basato sull'uso di cellule di lievito. L'analisi delle regioni della beta-globina e di TAP2 coinvolte nella ricombinazione indicano che anche in questi due hot spot di ricombinazione umana si ha formazione di DSBs. Attraverso esperimenti di mutagenesi sito-specifica abbiamo inoltre dimostrato che, nelle regioni da noi analizzate, un motivo di sequenza (CCTCCCT) è direttamente coinvolto nella formazione dei DSBs, in compartecipazione probabilmente con altri mo-

tivi di sequenza non ancora identificati.

Il lavoro in cui saranno raccolti i dati descritti sopra è in fase di stesura. Infine ci siamo occupati di utilizzare gli SNP per identificare regioni genomiche sottoposte a selezione bilanciante. Abbiamo utilizzato diversi metodi computazionali e dati provenienti sia da database pubblici sia da esperimenti condotti nel nostro laboratorio. I geni su cui ci siamo focalizzati inizialmente sono i tre recettori beta-adrenergici, MEFV (il gene della febbre mediterranea) e DEFB1 (defensina beta 1). Abbiamo dimostrato che il gene ADRB2 è stato sottoposto a selezione bilanciante, mentre il gene ADRB3 è andato incontro a sweep selettivo. Il gene ADRB1 è invece evoluto in modo neutro. Il lavoro che raccoglie questi dati (Contrasting evolutionary histories for beta-adrenoreceptors in humans) è in fase di stesura. Per quanto riguarda il gene MEFV, abbiamo dimostrato che la regione terminale, dove localizza la maggior parte di mutazioni, è stata sottoposta a selezione bilanciante. Infine, anche nel caso del gene DEFB1, abbiamo dimostrato come la regione promotoriale sia stata sottoposta a selezione bilanciante.

## **IDENTIFICAZIONE SISTEMATICA DI REGOLATORI GENICI “CIS - ACTING” SPECIFICI PER IL TESSUTO MUSCOLARE ATTRAVERSO GENOMICA COMPARATIVA E SCREENING FUNZIONALE IN VITRO”**

**DOTT.SSA MANUELA SIRONI**

e-mail: MANUELA.SIRONI@BRLNF.IT

### **Linea di ricerca n.7**

Bioinformatica

### **Tipo di ricerca**

Corrente

### **Periodo di svolgimento**

2007

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

## **RIASSUNTO**

I recenti sviluppi nei progetti di sequenziamento del genoma e l'analisi comparativa hanno indicato che la maggioranza delle informazioni sui meccanismi regolatori che controllano l'espressione genica e l'editing risiede nelle regioni genomiche non codificanti. In particolare, le sequenze multispecie conservate (MCSs) rappresentano i migliori candidati come regolatori genici in cis. Durante il primo anno di attività del progetto sono state identificate le sequenze conservate multispecie presenti in un gruppo di geni espressi nei tessuti muscolari. Tali sequenze sono state analizzate con metodi di calcolo atti a individuare motivi ricorrenti e come tali ottimi candidati come sequenze regolatorie. I motivi identificati sono stati caratterizzati dal punto di vista funzionale analizzandone quantitativamente la somiglianza a motivi già descritti come regolatori di splicing o di espressione. Nel corso del prossimo anno si procederà alla validazione in vitro e alla costruzione di un database in grado di descrivere i motivi raccolti e di individuarne le posizioni all'interno di geni di interesse.

**RICERCHE  
MINISTERIALI  
CORRENTI 2008**

---

**RAZIONALI**

## PRAGMATICA DELLA COMUNICAZIONE E COMPORTAMENTO IN SOGGETTI CON SINDROME DI WILLIAMS

**DOTT. RENATO BORGATTI**

e-mail: RENATO.BORGATTI@BP.LNF.IT

### Linea di ricerca n.1

Neuropatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

Unità di Neurolinguistica IRCCS "E. Medea", Polo San Vito al Tagliamento

## DESCRIZIONE

La presente ricerca corrente si colloca lungo un continuum di indagine portato avanti nel corso di questi anni dal medesimo gruppo. Lo studio delle particolari abilità di comunicazione nei soggetti con sindrome di Williams ha preso avvio con un'indagine centrata sulla capacità di riconoscimento delle emozioni espresse dal volto (Gagliardi et al., 2003).

In base ai risultati trovati è stata formulata un'ipotesi di correlazione fra questo particolare pattern di riconoscimento e il comportamento ipersociale nella medesima sindrome (Frigerio et al., 2006). Si è quindi analizzato lo stile di analisi percettivo nell'interazione viso a viso e come questo fosse influenzato dagli stati d'ansia.

Proseguendo lungo tale filone di ricerca si intende ora indagare le abilità pragmatiche e narrative dei soggetti con sindrome di Williams e la loro correlazione col comportamento.

Le abilità linguistiche sono sempre state considerate come un punto di forza nel disarmonico profilo cognitivo della sindrome di Williams. Purtroppo studi recenti evidenziano come lo sviluppo di queste abilità non sia così omogeneamente definibile come simile allo sviluppo normale per età cronologica.

Obiettivo del progetto di ricerca è approfondire l'analisi delle competenze linguistiche generali, finora ritenute intatte o poco compromesse (almeno rispetto al livello cognitivo), delle capacità narrative e degli aspetti pragmatici della comunicazione, con riferimento sia all'assetto neurolinguistico che alla correlazione con il profilo comportamentale.

Da un'analisi della letteratura recente e dall'osservazione clinica dei soggetti intendiamo verificare l'ipotesi che vi sia una dissociazione fra buone competenze a livello microelaborativo nella formazione della frase linguistica pura e difficoltà/carenze a livello macroelaborativo. Quest'ultima competenza è quella che permette di conferire un ordine alle frasi e dare descrizioni pertinenti al contesto, inoltre richiede l'attivazione di funzioni cognitive superiori necessarie per organizzare e associare in modo coerente le varie parti di un discorso.

Durante il primo anno di ricerca si intende analizzare campioni di linguaggio prodotto durante la narrazione in cui verranno valutati:

- abilità micro- e macro-linguistiche;
- abilità narrative nei loro sotto aspetti: fonologico, lessico-sintattico, semantico-concettuale e testuale.

L'atto comunicativo è in effetti un complesso processo di trasmissione di informazioni che si articola non tanto attraverso la semplice formulazione di enunciati, quanto attraverso la capacità di instaurare vincoli di coesione strutturale e di coerenza concettuale tra gli enunciati prodotti. Di conseguenza, solo un'analisi che tenga conto di tutti gli aspetti dell'elaborazione del linguaggio può consentire di valutare contemporaneamente il funzionamento di processi cognitivi diversi come le abilità linguistiche del soggetto, la sua capacità di attingere alla propria memoria (tanto episodica che semantica), alle proprie risorse attentive e di comprendere e descrivere eventuali sfumature emotive essenziali allo svolgimento di una conversazione. L'analisi di strutture linguistiche complesse come quelle discorsive potrebbe quindi rivelarsi molto più adeguata delle normali valutazioni linguistiche di base per ottenere dati sulle effettive capacità di comunicazione verbale dei pazienti presi in considerazione.

Oltre a queste componenti anche le componenti prosodiche hanno un importante ruolo di interfaccia privilegiata tra sistemi cognitivi (intenzionalità comunicativa, risorse linguistiche, pianificazione enunciativa) e fisiologico-produttivi (coordinazione pneumo-fono-articolatoria, programmazione motoria dell'enunciato). La loro modulazione può assumere valore di indice di pianificazione/program-

mazione on-line dell'enunciato.

Durante il secondo anno di ricerca verrà invece svolta un'analisi più puntuale di alcuni aspetti della costruzione cognitiva del discorso.

Se lo sviluppo dei concetti astratti avviene per metafore cognitive, processare un concetto astratto dovrebbe attivare la conoscenza concreta sulla quale fa riferimento.

L'obiettivo di questa seconda fase sarà principalmente di definizione delle strategie cognitive utilizzate in ambito linguistico dai soggetti SW tramite l'individuazione dei processi di costruzione dell'astrazione e il loro confronto con l'organizzazione nei soggetti normodotati.

Abilità di costruzione narrativa e modalità di astrazione sono entrambe componenti significative della presenza di una pragmatica coerente. L'indagine di queste componenti può dunque fornirci alcune informazioni sulla possibile correlazione col comportamento dei soggetti con sindrome di Williams. Si è ritenuto utile, per mantenere l'obiettivo di correlazione principale, valutare gli aspetti più comportamentali e socioadattivi. Tale obiettivo sarà raggiunto con la somministrazione delle Scale di comportamento adattivo Sparrow's Vineland adaptive behaviour scales nella versione italiana di Mongelli e Robertazzo.

### Attività previste

Le tre attività principali durante il biennio di ricerca sono le seguenti:

- Progettazione del protocollo di valutazione tramite la costruzione dei test di narrazione/colloquio spontaneo.
- Definizione dei parametri di analisi dei campioni di linguaggio ottenuti allo scopo di valutarne i livelli di organizzazione micro- e macrolinguistica, il livello di efficacia comunicativa e gli aspetti prosodici.
- Valutazione dell'efficacia del test somministrato e dei parametri applicati alla sua analisi per il monitoraggio di: produttività, competenze morfosintattiche, pragmatico-discorsive ed elaborazione concettuale.
- Correlazione con dati comportamentali e clinici.

Lo studio verrà condotto su una popolazione di soggetti con SW, seguiti regolarmente in follow-up presso l'Istituto.

Verranno individuati gruppi di controllo tra soggetti con ritardo mentale non dovuto a microdelezione del 7° cromosoma (non sindrome di Williams) e un gruppo di soggetti normodotati con matching per età mentale.

Le prove proposte fanno parte di protocolli clinici di valutazione, utili sia a fini di inquadramento funzionale che per le indicazioni di tipo riabilitativo. Originale sarà l'analisi condotta sul materiale raccolto e l'analisi di correlazione.

Verranno raccolti dati relativi a:

- competenze cognitive generali (scale Wechsler);
- organizzazione linguistica di base (batteria di valutazione del linguaggio, Fabbro);
- attenzione e percezione (per verificare la accessibilità e tenuta del test: CPT e TVPS);
- abilità narrative (narrazione elicitata da materiale figurato: Marini, Mayer);
- analisi del comportamento adattivo (Sparrow's Vineland adaptive behaviour scales);
- produzione linguistica (conversazione spontanea guidata, Tavano).

La produzione linguistica dei partecipanti verrà raccolta attraverso una modalità conversazionale in un'unica seduta di circa 15 minuti. La conversazione è di tipo semistrutturato, con 5 topic (Scuola, Passatempi preferiti, Amici, Cibo, Famiglia).

L'interazione verrà audioregistrata in forma digitale e successivamente interamente trascritta, codificata e analizzata utilizzando le procedure standardizzate del sistema internazionale CHILDES (Child Language Data Exchange System). La trascrizione del testo verrà fatta individuando tutti gli enunciati in base al criterio per la scansione del parlato, secondo cui un enunciato è qualsiasi espressione che possa essere interpretata pragmaticamente, ovvero cui sia attribuibile un'ilocuzione sulla base del suo pattern intonativo. I protocolli verranno controllati da due giudici indipendenti (ad accordo medio del 95%). I rimanenti casi dubbi e/o di disaccordo verranno chiariti con un terzo giudice.

Sono state scelte le seguenti unità di analisi di base:

- 1) La Lunghezza Media dell'Enunciato.
- 2) Il numero totale di Clausole.
- 3) Il numero di Clausole Subordinate.
- 4) Il numero di coppie di enunciati, sia connessi da un elemento connettivo, sia connessi da una sequenza determinata da continuità temporale e pragmatica.
- 5) Il numero di episodi di frammentazione.
- 6) La percentuale di episodi di frammentazione rispetto all'LME.

L'analisi percettiva del contorno intonativo verrà utilizzata per distinguere i tipi di enunciato sulla

base di due pattern di variazione della frequenza fondamentale: linearizzazione e articolazione informativa. Per disambiguare le impressioni percettive verranno fatte ulteriori analisi della forma dell'onda sonora utilizzando il programma Praat per l'analisi delle formanti.

La valutazione delle abilità narrative verrà effettuata su campioni di linguaggio ottenute mediante somministrazione di un compito di descrizione di figure e vignette (Marini 2001; Marini e Nocentini, 2002; Marini e Carlomagno, 2004).

L'analisi micro e macrolinguistica delle storie prodotte verrà focalizzata sui seguenti parametri:

- produzione verbale
- organizzazione sintattica e lessicale
- livello informativo
- organizzazione dell'esposizione

Analisi microlinguistica: numero di parole, speech rate, % selezione fonologica, % parafasie semantiche, lunghezza media dell'enunciato, % errori paragrammatici, % frasi complete.

Analisi macrolinguistica: % errori di coerenza locale, % errori di coerenza globale.

Informatività lessicale e tematica.

L'indagine sul comportamento adattivo sarà condotta con le Vineland Adaptive Behavior Scales, che valutano l'autonomia personale e la responsabilità sociale degli individui dalla nascita fino all'età adulta. Esse sono applicabili sia a normodotati sia a soggetti con disabilità cognitiva e permettono la programmazione di interventi individuali educativi o riabilitativi. Le scale non richiedono la diretta somministrazione delle prove al soggetto in esame, ma la compilazione dei materiali da parte dell'intervistatore e di una persona che conosca in modo approfondito il soggetto da valutare.

Le Vineland Adaptive Behavior Scales si articola in quattro scale e undici subscale:

- Scala Comunicazione. Sottoscale: Ricezione (ciò che il soggetto comprende), Espressione (ciò che il soggetto dice), Scrittura (ciò che il soggetto legge e scrive);
- Scala Abilità quotidiane. Sottoscale: Personale (come il soggetto mangia, si veste e cura l'igiene personale), Domestico (quali lavori domestici il soggetto compie), Comunità (come il soggetto usa tempo, denaro, telefono e proprie capacità lavorative);
- Scala Socializzazione. Sottoscale: Relazioni interpersonali (come il soggetto interagisce con gli altri), Gioco e tempo libero (come il

soggetto gioca e impiega il tempo libero), Regole sociali (come il soggetto manifesta senso di responsabilità e sensibilità verso gli altri);

- Scala Abilità motorie. Sottoscale: Grossolane (come il soggetto usa braccia e gambe per il movimento e la coordinazione), Fini (come il soggetto usa mani e dita per manipolare oggetti).

## STUDIO DELLA QUALITÀ DELLE CURE, DEI LIVELLI DI STIMOLAZIONE E DEI PROCESSI DI REGOLAZIONE PRECOCE DEL BAMBINO PRETERMINE COME FATTORI PREDITTIVI DELLA RELAZIONE MADRE-BAMBINO

**DOTT. ROSARIO MONTIROSSO**

e-mail: ROSARIO.MONTIROSSO@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n. I

Neuropatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

Reparto di Patologia Neonatale e Terapia Intensiva dell'Ospedale "Manzoni" di Lecco

## DESCRIZIONE

Il presente progetto di ricerca fa parte di uno studio longitudinale avviato con la Ricerca Corrente 2005 e ha l'obiettivo di indagare, in un campione di bambini pretermine, il rapporto tra la qualità delle cure e delle stimolazioni ricevute in epoca neonatale dal bambino e la successiva qualità della relazione madre-bambino nel corso dei primi anni di vita. Tra gli esiti evolutivi sfavorevoli che la letteratura ha documentato in associazione alla nascita pretermine, infatti, è stata data rilevanza alle difficoltà mostrate da questi bambini nel regolare il proprio livello di arousal ed il proprio stato affettivo durante gli scambi sociali. Le capacità di regolazione infantili, però, si sviluppano all'interno delle interazioni precoci tra il bambino e il proprio ambiente di accudimento e risultano influenzate, oltre che dal livello di maturazione neurocomportamentale del neonato, anche da fattori di tipo socio-ambientale come le precoci stimolazioni fisiche e sociali e le cure ricevute durante il ricovero nel reparto di Terapia Intensiva Neonatale, nonché la qualità della relazione instaurata con il

caregiver.

Lo studio si propone, quindi, di indagare le capacità di regolazione del neonato pretermine tramite la somministrazione di una specifica scala di valutazione neuro-comportamentale (NNS, Lester e Tronick, 2004) e di analizzare, alla luce delle esperienze precoci vissute durante il ricovero in TIN, il successivo comportamento socio-emozionale e le caratteristiche interattive dei bambini nati pretermine e delle loro madri nel corso del primo anno di vita attraverso l'applicazione della procedura osservativa Still-Face (Tronick et al., 1978).

### Attività previste

Durante la Ricerca Corrente 2008 è previsto il completamento del database e delle analisi relative alla valutazione dei bambini pretermine e nati a termine a sei mesi d'età. In particolare verranno completati e presi in esame i dati riguardanti il livello di sviluppo psicomotorio dei bambini pretermine, il profilo temperamentale infantile, lo stato psico-emotivo materno nel corso del primo anno di vita del bambino. I Centri partecipanti dovranno fornire i dati relativi a valutazioni sia del bambino che della madre. Questi dati sono in parte già stati rilevati e in parte in corso di rilevazione. I dati riguardano il livello di sviluppo psicomotorio del gruppo di bambini pretermine ottenuto attraverso la somministrazione della Scala dello Sviluppo Mentale Griffiths oppure delle Scale dello Sviluppo Infantile Bayley (poiché l'obiettivo di tale valutazione è quello di delineare un andamento generale dello sviluppo del bambino, si è ritenuto che ciascun Centro possa scegliere quale delle due scale adottare in funzione delle proprie consuetudini). Inoltre saranno acquisiti i dati relativi al profilo temperamentale infantile (sia dei bambini pretermine che dei bambini a termine) indagato attraverso il questionario QUIT 1-12. Infine si acquisiranno i dati relativi all'assetto psico-emotivo materno valutato, in entrambi i gruppi di madri, attraverso tre questionari relativi rispettivamente alla presenza di sintomi depressivi (Beck Depression Inventory, BDI), al livello di stress percepito in relazione alle caratteristiche del bambino, al proprio ruolo genitoriale e agli eventi della vita (Parenting Stress Index, PSI), alla presenza di stati d'ansia transitori o legati a caratteristiche individuali (Inventario per l'ansia di "stato" e di "tratto", STAI). L'integrazione del database con questi ulteriori dati permetterà di indagare con maggiore dettaglio i rapporti tra la nascita pretermine e il successivo sviluppo psicomotorio, temperamentale e

socio-relazionale del bambino. Saranno indagati, inoltre, i rapporti tra le caratteristiche del bambino a sei mesi e lo stato emotivo materno. Infine, lo sviluppo psicomotorio, emotivo-comportamentale e relazionale del bambino pretermine sarà messo in relazione con le precoci stimolazioni socio-ambientali ricevute durante il ricovero nel reparto di Terapia Intensiva Neonatale

## **SINDROMI MALFORMATIVE CEREBRALI COMPLESSE: STUDIO CLINICO, CITOGENETICO E MOLECOLARE DI UN'AMPIA CASISTICA**

**DOTT.SSA RITA GRASSO**

e-mail: RITA.GRASSO@BPLNF.IT

### **Linea di ricerca n. 1**

Neuropatologia

### **Tipo di ricerca**

Corrente

### **Periodo di svolgimento**

2008

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

### **Collaborazioni**

Reparto Neuroriabilitazione 1 - IRCCS "E. Medea" Bosisio Parini

Laboratorio di citogenetica e molecolare - IRCCS "E. Medea" Bosisio Parini

## **DESCRIZIONE**

La presente ricerca corrente si iscrive in un filone di ricerca caratterizzato dallo studio clinico e genetico di sindromi malformative coinvolgenti il sistema nervoso centrale, oggetto di recenti pubblicazioni (Tavano A, Grasso R, Gagliardi C, Triulzi F, Bresolin N, Fabbro F, Borgatti R. Disorders of cognitive and affective development in cerebellar malformations. Brain 2007 130: 2646-2660; Tavano A, Fabbro F, Borgatti R. Language and social communication in children with cerebellar dysgenesis Folia Phoniatri et Logop 2007; 59(4):201-209; Bedeschi MF, Bonaglia MC, Grasso R, Pellegrini A, Garghentino RR; Battaglia MA, Panarisi AM, Di Rocco M, Balottin U, Bresolin N, Bassi MT, Borgatti R. Agenesis of the Corpus Callosum: clinical and genetic study in 63 young patients Pediatric Neurology 2006 Mar; 34(3): 186-193).

L'utilizzo sempre più ampio della risonanza magnetica (RMN) dell'encefalo in soggetti con problemi neurologici ha incrementato in modo considerevole, nell'ultimo decennio, la conoscenza dei quadri malformativi coinvolgenti il Sistema Nervoso Centrale. Parallelamente, uno studio sempre

più dettagliato delle abilità cognitive e neuropsicologiche oltreché della descrizione di diversi fenotipi comportamentali ha portato ad una miglior comprensione della relazione sussistente tra le lesioni riscontrabili all'indagine neuroradiologica ed i profili cognitivi comportamentali osservati nei pazienti. Inoltre la messa a punto di nuove tecnologie di indagine genetica consente di ritrovare sempre più frequentemente alla base dei quadri malformativi cerebrali situazioni di sbilancio cromosomico o, più raramente, mutazioni puntiformi di singolo gene.

### Obiettivi

Il lavoro si propone di correlare gli aspetti malformativi cerebrali presenti nei soggetti arruolati con specifici pattern cognitivi-comportamentali ed, in ultimo, con specifici assetti genetici (riarrangiamenti cromosomici evidenziabili con le tecniche di citogenetica o citogenetica-molecolare o mutazioni in singoli geni).

La correlazione fenotipo clinico - fenotipo cognitivo/comportamentale - genotipo che ne consegue sarà utile per l'inquadramento diagnostico del paziente con malformazione cerebrale. Potrà infatti indirizzare nella pratica clinica quotidiana, dato uno specifico quadro neuroradiologico e/o uno specifico assetto neuropsicologico, la scelta di indagini laboratoristiche e genetiche mirate (stesura di una "priorità" verso le indagini - genetiche e non genetiche - da effettuarsi).

### Ricadute

La correlazione fenotipo clinico - fenotipo cognitivo/comportamentale - genotipo renderà possibile:

- una maggior conoscenza della relazione esistente tra specifiche strutture cerebrali e abilità cognitive-comportamentali;
- maggior comprensione del ruolo di specifici geni nella eziopatogenesi di determinate malformazioni cerebrali (e quindi ruolo degli stessi geni nella morfogenesi del SNC);
- "razionalizzazione" delle risorse da usarsi nella pratica clinica ("stesura" di un iter diagnostico specifico per il soggetto con malformazione cerebrale);
- "stesura" di uno specifico "progetto educativo e riabilitativo" per il soggetto con malformazione cerebrale.

### Attività previste

La ricerca si articolerà in diverse parti, tra loro complementari:

a) Fase preliminare.

Raccolta di un'ampia casistica di soggetti con malformazioni cerebrali, raggruppabili nei seguenti gruppi:

- soggetti con malformazioni dello sviluppo corticale;
- soggetti con agenesia del corpo calloso (parziale o completa);
- soggetti con malformazioni a carico della fossa posteriore;
- soggetti con malformazioni a carico del cervelletto;
- soggetti con quadri malformativi particolarmente complessi, coinvolgenti più di un distretto tra quelli sopra considerati.

b) Studio clinico.

Ogni soggetto verrà sottoposto alle seguenti valutazioni:

- attenta raccolta anamnestica familiare (presenza di familiari con: stesso quadro clinico, quadro plurimalformativo, poliabortività, mortalità in epoca perinatale, etc..) e gravidica (ricerca teratogeni o eventi infettivi materni) (in tutti i soggetti);
- valutazione clinica / dismorfologica (registrazione parametri auxologici, ricerca di eventuali anomalie minori al volto, esame obiettivo pediatrico generale ed esame neurologico) (in tutti i soggetti arruolati nello studio);
- indagini strumentali varie (es. ecocardiogramma, ecografia addome completo, indagini radiologiche apparato scheletrico, registrazione EEG, etc..) ed altre valutazioni specialistiche (es. in ambito oculistico ed audiologico), in casi selezionati. Tali indagini, individuando possibili aspetti malformativi minori o maggiori a carico di organi ed apparati diversi contribuiranno, in associazione alla valutazione clinica e dismorfologica, all'inquadramento del soggetto con sospetta patologia sindromica;
- riletture neuroimmagini o ripetizione RMN encefalo (in casi selezionati).

c) Valutazione cognitivo-linguistica (in tutti i soggetti).

Tutti i soggetti verranno sottoposti ad alcune scale di valutazione, differenti in base all'età, all'entità del ritardo e al livello di collaborazione:

- test di livello (Griffith, Stanford-Binet, WIPPSI, WISC-R, WAIS-R);
- prove neuropsicologiche (attenzione, memoria, strategie logiche, procedure);
- prove di linguaggio (batteria 4-12 Fabbro, BAT).

d) Valutazione comportamentale (in tutti i soggetti). Ogni soggetto verrà sottoposto a seconda del tipo di disturbo comportamentale a differenti valutazioni finalizzate alla costituzione di un profilo comportamentale:

- Sparrow's Vineland adaptive behaviour scales;
- Developmental behaviour checklist-primary carer;
- Autism behaviour checklist, Childhood autism rating scale.

e) Indagini di laboratorio (citogenetiche e molecolari).

- indagini genetiche di 1° livello (se non eseguite in precedenza): analisi del cariotipo ad alta risoluzione su linfociti di sangue periferico ed analisi citogenetica con sonde specifiche per le regioni cromosomiche subtelomeriche;
- analisi del genoma con la metodica CGH-array (Comparative Genomic Hybridization) a risoluzione di ~75Kb nei soggetti risultati negativi alle indagini genetiche di 1° livello;
- ricerca di mutazione in geni specifici, selezionati sulla base del quadro clinico (problematiche internistiche, neurologiche, aspetti malformativi minori e maggiori), neuroradiologico (reperti malformativi evidenti al neuroimaging) e cognitivo-comportamentale e sulla base di recenti dati di letteratura.

Al termine della ricerca, analizzando i risultati ottenuti dalle varie fasi di studio (dati clinici, dati strumentali, dati cognitivo-comportamentali e dati genetici), sarà possibile individuare delle correlazioni fenotipo clinico - fenotipo cognitivo/comportamentale – genotipo.

## SVILUPPO DEI PROCESSI DI ATTENZIONE E MEMORIA IN NEONATI SANI E NATI IN CONDIZIONI DI RISCHIO EVOLUTIVO

**DOTT. ROSARIO MONTIROSSO**

e-mail: ROSARIO.MONTIROSSO@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.1

Neuropatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

Child Development Unit, Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA

Reparto di Pediatria. Ospedale Sacra Famiglia, Erba, Como

## DESCRIZIONE

L'obiettivo generale della ricerca è indagare la memoria del bambino piccolo per un stress socio-emozionale (la non responsività materna), valutando gli effetti di questo evento sia sulla reattività comportamentale che su quella fisiologica. Tronick (2004) evidenzia che quotidianamente a partire dai primi mesi di vita i bambini sono sottoposti ad un range di eventi socio-emozionali stressanti "normali", quali ad esempio, attendere che l'adulto soddisfi i loro bisogni. Tuttavia, molto poco è conosciuto circa la memoria del bambino riguardo la memoria di questi eventi stressanti e di come le differenze nel comportamento (inteso sia come profilo temperamentale che come risposta osservabile) e nella reattività fisiologica possano influenzare la memoria. Per ottenere una condizione stressante si utilizza il paradigma Still-Face, nel corso del quale il bambino è esposto ad un stress socio-emozionale moderato ottenuto tramite la richiesta fatta alla madre di guardare il bambino, senza toccarlo e mantenendo il proprio volto inespressivo. Un numero elevato di studi ha dimostrato che questa

condizione produce una tipica reazione nel bambino (definita come “effetto still-face”) caratterizzata da un decremento del coinvolgimento positivo e un concomitante incremento del coinvolgimento negativo e di comportamenti auto-regolatori (ad esempio, la comparsa della suzione non-nutritiva). Nel corso della condizione di non responsività materna i bambini manifestano inoltre segni fisiologici di stress, così come la riduzione del tono del nervo vago e l'attivazione dell'asse ipotalamo ghiandola pituitaria che controlla i livelli di cortisolo. Lo studio prevede il reclutamento di due gruppi di diadi madre-bambino bilanciati per sesso del bambino. Un gruppo (gruppo A) partecipa a due sessioni di Still-Face videoregistrate: a 4 mesi d'età del bambino la prima e a 4 mesi e 15 giorni la seconda. Le diadi assegnate al gruppo di controllo (gruppo B) partecipano invece ad un'unica videoregistrazione corrispondente temporalmente alla seconda sessione del gruppo A (quindi quando il bambino ha un'età di 4 mesi e 15 giorni). Il suddetto disegno sperimentale permette di indagare l'eventuale associazione tra le reazioni comportamentali e fisiologiche del bambino mostrate durante le due esposizioni al paradigma Still-Face e l'eventuale differenza tra le reazioni dei bambini precedentemente esposti allo still-face materno (gruppo A) e quelle dei bambini che sono esposti una sola volta a questo evento stressante (gruppo B).

### Attività previste

Nel corso della RC 2008 è previsto l'avvio delle videoregistrazioni delle diadi madre-bambino con l'applicazione completa del protocollo di studio. Il reclutamento delle diadi madre-bambino avverrà con la collaborazione del Reparto di Pediatria dell'Ospedale Sacra Famiglia di Erba (Como). Saranno contattate in modo consecutivo le partorienti di bambini nati a termine, senza complicazioni pre, peri e post-natale. La proposta di partecipazione al progetto rivolta alle madri verrà effettuata dal pediatra in sede dei normali controlli di follow-up dei bambini a circa un mese di età. Le diadi saranno assegnate in modo casuale ai due gruppi. Il gruppo A parteciperà a due sessioni di Still-Face videoregistrate: a 4 mesi d'età del bambino la prima e a 4 mesi e 15 giorni la seconda; il gruppo B parteciperà invece ad un'unica videoregistrazione corrispondente temporalmente alla seconda sessione del gruppo A (quindi quando il bambino ha un'età di 4 mesi e 15 giorni). Come da protocollo nel corso dello Still-Face verranno registrate l'attività ECG (per l'analisi del nervo vago) ed eseguiti i prelievi del cortisolo salivare (prima e dopo l'interazione con

la madre). Tutti i bambini e le loro madri saranno codificati micro-analiticamente (con intervalli di 1 secondo) rispetto al loro coinvolgimento positivo e negativo utilizzando il sistema di codifica Infant and Caregiver Engagement Phases (ICEP - Weinberg e Tronick, 2001). La variazione dell'attività cardio-respiratoria (tono del nervo vago) sarà valutata utilizzando l'algoritmo implementato secondo il metodo sviluppato da Porges, mentre il cortisolo salivare sarà analizzato secondo metodica EIA (enzyme immuno assays). Nel corso del 2008 si ritiene di dover reclutare almeno 20 bambini per gruppo, per un totale di 60 osservazioni (30 + 30 del gruppo A e 30 del gruppo B). Un campione di 30 bambini per ogni gruppo permetterebbe di valutare differenze significative sia per le misure comportamentali che per quelle delle variabili fisiologiche tra bambini del gruppo A e quelli del gruppo B con un grado di affidabilità statistica del 99% (errore di I° tipo = 0.01). Tuttavia supponiamo un tasso di drop-out di circa il 10%, per cui per contenerne gli effetti riteniamo opportuno un sovra-campionamento tale da ottenere almeno 70 bambini.

## PROGETTO SULLE CORRELAZIONI FENOTIPO/GENOTIPO NELLA SINDROME DI RETT

**DOTT.SSA ALEXANDRA LIAVA**

e-mail: ALEXANDRA.LIAVA@CN.LNF.IT

### Linea di ricerca n. 1

Neuropatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Conegliano

### Collaborazioni

Dipartimento di genetica molecolare dell'IRCCS "E. Medea", sede di Bosisio Parini

## DESCRIZIONE

### Introduzione

La s di Rett (incidenza di 1 su 10000 nate vive), si caratterizza per una variabilità fenotipica, basata sul meccanismo patogenetico della malattia che interferisce con i collegamenti sinaptici neuronali, la quale coinvolge le funzioni cognitive e psichiche, il linguaggio, la motricità, come anche le funzioni cardiovascolari, respiratorie, del metabolismo ecc.

Tale eterogeneità clinica, che si esprime inoltre con vari gradi di severità nel coinvolgimento delle diverse aree funzionali, condiziona in gran misura la prognosi.

È importante infatti sia per il clinico ma anche per la famiglia e per la paziente stessa poter identificare coloro che possono presentare una scoliosi grave e beneficiare di un intervento precoce oppure quali presenteranno un'epilessia potenzialmente intrattabile o potranno mantenere un linguaggio parzialmente conservato.

Alcune, seppur rare, correlazioni fenotipo genotipo sono già state dimostrate: per esempio, le mutazioni truncating producono un fenotipo più severo rispetto alle mutazioni missense mentre le mutazioni che coinvolgono il nuclear localization signal conducono a fenotipi più severi rispetto alle mutazioni late truncating che risultano meno seve-

re. La mutazione R294X probabilmente possiede un effetto "protettivo" nei confronti della scoliosi e dell'epilessia mentre la R270X risulta globalmente più severa. Esistono inoltre carriers asintomatici con un pattern di skewed inactivation del cromosoma X.

### Obiettivi

Identificare correlazioni genotipo fenotipo, focalizzando sui parametri clinici dell'epilessia e della scoliosi.

Individuare parametri clinici importanti per la prognosi e costituire uno score.

Stabilire relazione tra diversi parametri (EEG, scoliosi, Q-T lungo, respirazione) e individuare aspetti specifici di diversi fenotipi.

Contribuire alla conoscenza della base patofisiologica del disordine.

### Metodi

Identificazione del gene (MECP2 o CDKL5), del tipo di mutazione (missense, early truncating, late truncating, delezione parziale o totale), dell'alterazione nucleotidica e proteica.

Accurato studio longitudinale clinico, neurofisiologico, riabilitativo: valutazioni neurologiche, fisiatrie, fisioterapiche, pneumologiche, monitoraggio EEG, telemetria con EMG, ECG e PNG.

### Attività previste

Fase 0: accoglimento di pazienti  
definizione clinico diagnostica

Fase 1: valutazione clinico funzionale con visite specialistiche ed esami strumentali  
raccolta campioni per analisi molecolare  
durata 3 mesi

Fase 2: controllo clinico (epilessia, scoliosi, parametri cardiorespiratori)  
durata 6 mesi

Fase 3: aggiornamento data base per le caratteristiche cliniche e molecolari  
elaborazione risultati  
durata 3 mesi

## VALUTAZIONE MEDIANTE RISONANZA MAGNETICA FUNZIONALE DI PAZIENTI EMIPLEGICI PRE E POST TRATTAMENTO CON CONSTRAINT THERAPY

**DOTT.SSA ANNA CARLA TURCONI**

e-mail: ANNACARLA.TURCONI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.2

Riabilitazione neuromotoria e neuropsicologia funzionale

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

IRCCS "E. Medea" - Polo di Conegliano e Pieve di Soligo

IRCCS S.Raffaele - Centro Analisi Biosegnali, Milano

Ospedale di Conegliano

## DESCRIZIONE

La penalizzazione terapeutica dell'arto conservato, chiamata constraint induced therapy (CIT), viene definita come una terapia che abbina l'allenamento intensivo di un arto superiore lesa dopo danno neurologico centrale alla penalizzazione funzionale dell'uso dell'arto sano.

L'utilizzo di tecniche basate sulla penalizzazione dell'arto superiore in pazienti con danno cerebrale acquisito e in particolare in bambini affetti da paralisi cerebrale infantile deriva il suo razionale da ricerche di base sul comportamento dei primati (Taub 1976):

- dopo deafferentazione chirurgica di un arto superiore la scimmia non può più usare l'arto nelle attività spontanee ma si può indurla ad usarlo se viene limitato l'uso dell'arto controlaterale sano;
- la fase di non uso è dovuta al concorso di molti fattori quali: la frustrazione nell'uso dell'arto lesa, il rinforzo all'uso dell'arto sano, la riorganizzazione

neurologica: questa fase produce una serie di eventi a spirale e viene chiamata apprendimento al non uso.

Non ci sono stati studi appropriati per definire completamente quali di questi meccanismi possano essere implicati anche nel comportamento umano ma si può presumere che essi siano rilevanti anche in situazioni patologiche come lo stroke o il trauma cranico (Taub 1993). Certamente il meccanismo di apprendimento del non uso è presente e persiste anche quando il paziente recupera un uso parziale dell'arto lesa (Sterr 2002).

L'utilizzo nella pratica terapeutica della CIT si basa sui seguenti presupposti:

- dopo alcuni studi negli anni '80 e a partire dallo studio pilota di Taub nel '93 con pazienti cronici dopo stroke, molti altri trial terapeutici dimostrano il miglioramento misurato con scale funzionali di pazienti sottoposti a CIT anche in post-acute e nel trauma cranico (Forster 1996), (Dromerik 2000), (Liepert 2000), (Sabari 2001).

- Studi neurofisiologici e neuroradiologici effettuati sia sui primati che sull'uomo dimostrano che la riorganizzazione neurologica dopo danno può essere associata all'effetto terapeutico della CIT (Recanzone 1992), (Elbert 1995).

- In tempi più recenti si sono completati altri studi con stimolazione magnetica transcranica (TMS) e risonanza magnetica funzionale (fMRI) che confermano un miglioramento della riorganizzazione funzionale cerebrale dopo CIT in pazienti cronici (Levy 2001), (Wittemberg 2003).

Anche nel bambino con Paralisi Cerebrale Infantile l'utilizzo e l'efficacia della CIT sono stati dimostrati da studi pilota dal 2000 in poi: Willis (2002), Eliasson (2003), Taub (2004).

Da allora sono stati molti gli studi in questo campo con risultati che depongono per un incremento dell'uso dell'arto lesa documentati solo dai risultati alle scale funzionali.

Le metodologie usate sono state molto variabili, sia nei tempi sia nelle proposte di trattamento.

Si è recentemente concluso un trial terapeutico effettuato nel nostro Istituto su 40 bambini sottoposti a constraint therapy: i risultati sono allo studio.

Attualmente non esistono studi neurofisiologici o di neuroimaging effettuati sul bambino che documentino le modificazioni indotte dalla riorganizzazione neurologica post terapia costrittiva.

Obiettivo dello studio è quindi quello di documentare come i miglioramenti funzionali possano correlare con la riorganizzazione funzionale cerebrale.

Saranno studiati un numero limitato di casi (da 8 a 18 casi) di età compresa tra i 2 e i 14 anni affetti

da esiti di emiparesi connatale e da danno acquisito ai quali verrà effettuato trattamento di constraint therapy secondo il protocollo proposto nella precedente ricerca.

Verrà poi valutata una casistica di pazienti adulti (da 4 a 10 soggetti) di età compresa tra 16 e 65 anni affetti da emiparesi da danno acquisito ai quali verrà effettuato trattamento di costrizione secondo un protocollo descritto di seguito.

A differenza che in età evolutiva, l'adulto ha appreso in maniera consolidata l'utilizzo dell'arto plegico in attività di vita quotidiana e/o lavorative comprendenti abilità manuali fini. L'adulto presenta inoltre maggiori difficoltà nell'individuare nuove strategie di utilizzo efficace dell'arto plegico. Si rende quindi opportuna una valutazione più puntuale delle abilità motorie di coordinazione e destrezza dell'arto superiore. La constraint therapy risulta efficace proprio nel senso di indurre un coinvolgimento più efficace dell'arto plegico. Per gli stessi motivi, nell'adulto può essere più opportuno utilizzare al posto dello splint in materiale termoplastico bloccato con fascia in lycra, un guanto che permetta una maggiore mobilità prossimale ma che inibisca completamente e le afferenze percettive e l'attività motoria fine della mano. In questo modo l'adulto può sviluppare meglio compensi efficaci con l'arto plegico.

Per molto tempo in letteratura l'anosognosia non è stata affrontata come un vero e proprio deficit cognitivo, con correlati neurali, ma come una 'normale' reazione emotiva-motivazionale al danno subito (Weinstein e Kahn 1955). Questa interpretazione è stata con il tempo trascurata, alla luce dei correlati neurali dell'anosognosia e rispetto al fatto che, in alcuni casi di emiplegia il soggetto era anosognosico solo per l'arto superiore e non per quello inferiore, oppure poteva avere consapevolezza del disturbo e non dei singoli sintomi (Vuilleumier, 2004; Marcel et al., 2004): si capisce che, se si fosse trattato di un meccanismo difensivo, la negazione avrebbe dovuto interessare l'emiplegia o la sindrome nell'insieme (Berti, Ladavas, 1996). L'anosognosia è causata da lesioni neurologiche e i pazienti di solito manifestano perplessità quando sono informati dei deficit o si mostrano indifferenti (Orfei, 2007). In generale la letteratura (Berti, Ladavas, 1996) si riferisce all'anosognosia come ad un danno dei meccanismi implicati nel monitoraggio di attività sia motorie, sia cognitive che di attività riguardanti l'autoconsapevolezza.

Le localizzazioni delle lesioni, che più frequentemente producono anosognosia, sono situate per lo più nell'emisfero destro, anche se è da consi-

derare che in questi casi sia più semplice rilevarlo, dato che, con danni all'emisfero sinistro, spesso si associano afasie, che non permettono quindi l'espressione verbale o la comprensione del deficit (Bisiach et al., 1986; Marcel et al., 2004). Coslett (2005) tuttavia ha evidenziato come siano implicate in modo differente lesioni parietali del lobo sinistro e del destro: a partire dalla distinzione tra componente semantica (immagine del corpo), strutturale (descrizione strutturale del corpo) e di rappresentazione on line del corpo nello spazio (schema corporeo), distingue come lesioni a sinistra comportino deficit di consapevolezza della immagine del corpo e delle sue parti costituenti, mentre lesioni a destra compromettano una deficitaria ricognizione del lato sinistro del corpo.

Altri studi in letteratura (Lamme, 2003; Mc Avinue et al., 2005) sottolineano la relazione tra anosognosia e attenzione sostenuta, soprattutto per quanto concerne la relazione tra sedi implicate in casi di traumi cranici: i processi, che sottostanno alle suddette funzioni, sono di tipo esecutivo, per cui possiamo pensare che l'area frontale, che appunto media le funzioni esecutive, possa in qualche modo essere implicata. Gli studi di Marcel e colleghi (2004) invece non hanno rilevato correlazioni significative tra segni di anosognosia e punteggi in test, che indagano funzioni regolate dai lobi frontali.

Più nello specifico, studi effettuati con immagini funzionali hanno rilevato implicazioni della corteccia cingolata anteriore e la corteccia prefrontale dorsolaterale (Gehring e Knight, 2000); Bisiach e colleghi (1986) rilevano correlazioni tra il deficit di consapevolezza e neglect unilaterale e implicazioni di aree cerebrali sia superficiali che profonde: lesioni superficiali dunque possono riguardare la parte posteriore del lobo parietale, in particolare il lobulo parietale inferiore, a livello più profondo si considerano invece lesioni al talamo e/o nuclei reticolari, al caudato, ai gangli della base. Anche altri autori (Small, Ellis, 1996) ad esempio individuano con maggiore frequenza lesioni di natura sottocorticale, soprattutto del caudato.

Berti e colleghi (2005) evidenziano inoltre come spesso l'anosognosia si presenti in relazione a emiplegia sinistra e neglect, ma evidenziano anche che molti casi di emiparesi non manifestano necessariamente disturbi di consapevolezza, pertanto si potrebbe ipotizzare una sede corticale specifica: i loro studi dimostrano come molto spesso ad essere danneggiato è l'intero network di aree frontoparietali (per anosognosia e neglect) e aree premotorie, ecco perché la re-

lazione tra i tre deficit; è possibile però anche che venga danneggiata una singola componente del network, per cui il disturbo di consapevolezza può non manifestarsi.

È noto come la mancanza di consapevolezza possa compromettere ulteriormente le possibilità del recupero funzionale della persona con lesioni cerebrali acquisite (Prigatano, 1999 e 2005; Maz-zucchi, 1995; Crosson et al., 1989; Flemming et al., 1996).

Diviene pertanto interessante misurare l'efficacia del trattamento riabilitativo del paziente con emiplegia individuando i casi con anosognosia e i casi senza anosognosia. Oltre alla divisione dei casi in base alla presenza del disturbo, si può utilizzare il dato di Risonanza Magnetica per verificare anche quali aree cognitive sono eventualmente correlate al deficit di consapevolezza. Il dato dei potenziali evocati è utile per verificare se vi sono diversi correlati di riorganizzazione a seconda sia dell'anosognosia che del recupero funzionale. Qualche dato nella direzione di differenze di riorganizzazione corticale in relazione al recupero funzionale, provengono da un recente lavoro a cui ha collaborato Bonanni del polo veneto dell'IRCCS "E. Medea" (Guzzetta et al., 2007).

All'inizio e alla fine, verrà effettuata indagine con Risonanza Funzionale.

Tra le tecniche di neuroimaging funzionale, negli ultimi anni la Risonanza Magnetica Funzionale (fRMN) è stata utilizzata per comprendere i pattern di attivazione cerebrale durante l'esecuzione di un compito specifico. Tale tecnica di neuroimmagine, sicura e non invasiva, si basa sul principio secondo cui in condizioni fisiologiche l'attività neuronale determina un incremento del flusso cerebrale non accompagnato da un simile aumento di consumo di ossigeno tissutale: l'aumento di flusso si associa ad una conseguente riduzione della concentrazione di desossiemoglobina nelle venule a valle dei capillari che risulta associato ad un aumento del segnale in immagini di risonanza magnetica opportunamente acquisite. La deossiemoglobina funziona quindi come un mezzo di contrasto "endogeno" per misurare le attivazioni cerebrali.

Proprio a partire dalle conoscenze neuropatologiche e di metabolismo funzionale già dimostrate in soggetti con lesioni cerebrali acquisite o congenite, ci proponiamo di identificare le aree di attivazione cerebrale alla RMN funzionale durante l'esecuzione di compiti specifici e di monitorare le eventuali modifiche dell'attivazione di specifiche aree cerebrali in seguito al trattamento di costrizione. La metodologia specifica di indagine sarà concordata

con i neuroradiologi e se possibile incrementata con lo studio di tracking delle vie corticospinali discendenti.

### Attività previste

La ricerca si svolgerà presso 2 Poli IRCCS "E. Medea": Bosisio Parini e Conegliano.

Attività previste nella sede di Bosisio Parini su popolazione infantile.

Verranno reclutati da un minimo di 6 a un massimo di 12 soggetti di età compresa tra 2 e 14 anni affetti da esiti di emiplegia dovuta a:

- eventi anossici-ischemici-vascolari pre-peri natali (danno congenito)
- eventi anossici-ischemici-vascolari-traumatici post-natali (danno acquisito).

I pazienti verranno sottoposti ad esame di Risonanza Magnetica Funzionale (fMR) con compito motorio passivo (chiusura e apertura mano) e a riposo e a trattografia per studio delle vie corticospinali mediante tecnica di Diffusion Tensor Imaging (DTI).

I pazienti collaboranti non necessiteranno di sedazione che sarà invece effettuata nei bambini più piccoli.

I pazienti reclutati saranno quindi sottoposti a trattamento con constraint therapy che prevede la contenzione dell'arto sano e l'allenamento intensivo dell'arto plegico secondo il seguente programma:

- la costrizione viene mantenuta per 3 ore al giorno per 7 giorni la settimana.
- Gli accessi alla terapia (intensiva) ai centri sono di 3 volte la settimana per 3 ore di cui 1,30 di terapia, 1,30 di lavoro per la famiglia.
- Il periodo complessivo della CTI è di 2 mesi.

### Protocollo di valutazione:

T0

1. raccolta di dati anamnestici e clinici indicanti, oltre che i principali dati anagrafici, il livello di gravità di compromissione motoria, la presenza di disabilità aggiuntive e/o patologie completanti il quadro di comorbidità complessivo;
2. esame obiettivo e neurologico completo, comprendente anche la valutazione della stereognosi e dello schema corporeo, attraverso il Test della Figura Umana a partire dai 4 anni;
3. valutazione delle abilità motorie globali con la Gross Motor Function Measure (GMFM);
4. scala di sviluppo o valutazione di livello con la scala Griffith24 fino ai 5 anni e successivamente con le scale Wechsler (Wippsi25 fino a 7 anni e

Wisch-R26 successivamente);  
 5. valutazione della funzionalità dell'arto superiore attraverso la scala Quality of Upper Estremità Skills Test (QUEST) e la scala Besta;  
 6. scala di stress familiare (Parenting Stress Index) e scala delle autonomie redatta dall'Istituto Besta e compilata da parte dei genitori;  
 7. scala di valutazione del comportamento del bambino (Child Behavior Checklist).  
 Alla fine del trattamento (T1) e dopo 6 mesi (T2) il paziente sarà nuovamente sottoposto alla stessa indagine neuroradiologica che era stata effettuata prima del trattamento e alle valutazioni funzionali sopra descritte.

Attività previste nella sede di Pieve di Soligo del Polo Veneto su popolazione infantile e su popolazione adulta con cerebrolesione acquisita.  
 Per la parte sulla popolazione infantile verranno reclutati da un minimo di 2 a un massimo di 6 soggetti di età compresa tra 2 e 14 anni affetti da esiti di emiplegia dovuta a:

- eventi anossici-ischemici-vascolari pre-peri natali (danno congenito)
- eventi anossici-ischemici-vascolari-traumatici post-natali (danno acquisito).

Le attività e i protocolli per l'età infantile sono condotte nella parte del Centro di Riabilitazione di Pieve di Soligo dedicato all'età evolutiva e seguono gli schemi proposti per la sede di Bosisio Parini. I dati di questi soggetti integreranno quelli della sede centrale.

Per la parte sulla popolazione adulta verranno reclutati da un minimo di 4 a un massimo di 10 soggetti con i seguenti criteri di inclusione:

- età compresa tra 16 e 65 anni;
- quadro di emiparesi dovuto a eventi acuti ischemici o emorragici acquisiti, oppure trauma cranico
- distanza minima di 3 mesi e massima di 3 anni dall'evento acuto;
- esito di emiplegia e Level of Cognitive Functioning  $\geq 5$ ;
- abilità funzionalità minima dell'arto superiore plegico.

#### Criteri di esclusione:

- complicanze comportamentali (assenza di comportamento agitato, apatico, mancanza di compliance alle terapie);
  - deficit sensitivo dell'arto plegico;
  - deficit sensoriali gravi (ipovisione, ipoacusia tale da compromettere le ADL);
  - controindicazioni alla RMN funzionale.
- I pazienti verranno sottoposti ad esame di Risonan-

za Magnetica Funzionale (fMR) presso l'Ospedale di Conegliano con compito motorio attivo (apertura e chiusura di un tappo). Verranno inoltre sottoposti a potenziali evocati sensoriali (PES) e motori (PEM) presso la sede di Pieve di Soligo: i PES verranno misurati mediante stimolazione tattile periferica, i PEM verranno misurati mediante stimolazione corticale transmagnetica e rilevazione dell'attività elettromuscolare periferica. I protocolli di stimolazione PES e PEM sono finalizzati alla misurazione puntuale del correlato corticale sia agli stimoli sensoriali periferici che all'attività muscolare periferica e sono focalizzati su entrambi gli arti superiori. Le misure di riorganizzazione corticale avvengono sulla base delle asimmetrie di attivazione corticale (sensoriale) o periferica (muscolare).

Il tipo di stimolo per le misurazioni di neuroimaging può essere soggetto a lievi modifiche in base agli approfondimenti di letteratura scientifica.

I pazienti reclutati saranno quindi sottoposti a trattamento con constraint therapy che prevede la contenzione dell'arto sano mediante guanto inibitore della sensibilità e della motricità fine della mano, l'allenamento intensivo dell'arto plegico mediante fisioterapia e terapia occupazionale secondo il seguente programma:

- la costrizione viene mantenuta per 6 ore al giorno per 7 giorni la settimana;
- 3 volte la settimana ricevono 1 trattamento di 45 minuti di fisioterapia (rieducazione alla forza, articolarietà e coordinazione motoria) e 1 trattamento di 45 minuti di terapia occupazionale (stimolazione e addestramento ad attività di vita quotidiana);
- 3 volte alla settimana, vengono condotti ulteriori trattamenti di 1 ora e 30 minuti da parte dei familiari dei pazienti in day-hospital o dal settore assistenziale dei pazienti in ricovero ordinario impegnando l'arto plegico in attività di vita quotidiana;
- il periodo complessivo della CTI è di 2 mesi.

#### Protocollo di valutazione:

T0

1. raccolta di dati anamnestici e clinici indicanti, oltre che i principali dati anagrafici, il livello di gravità di compromissione motoria, la presenza di disabilità aggiuntive e/o patologie completanti il quadro di comorbidità complessivo;
2. esame obiettivo e neurologico completo;
3. valutazione delle abilità motorie globali (test della forza, spasticità - Asworth - esame articolare);
4. valutazione neuropsicologica comprendente

in particolare gli aspetti di anosognosia, aprassia e consapevolezza corporea (ENB, Batteria per l'Aprassia Ideomotora della mano e dell'arto superiore, delle dita, Test dell'Aprassia di Utilizzo);

5. valutazione della funzionalità dell'arto superiore (O'Connor Finger Dexterity Test, Pennsylvania Bi-Manual Worksample);
6. valutazione delle autonomie di vita quotidiana (FIM e NIAF-R);
7. valutazione dello stato emotivo (CBA 2.0).

Successivamente, alla fine del trattamento e a 3, 6, 12 mesi dal suo termine verranno svolte le seguenti valutazioni:

1. esame obiettivo e neurologico completo;
2. valutazione delle abilità motorie globali (test della forza, spasticità - Asworth - esame articolare);
3. valutazione neuropsicologica comprendente in particolare gli aspetti di anosognosia, aprassia e consapevolezza corporea (ENB, Batteria per l'Aprassia Ideomotora della mano e dell'arto superiore, delle dita, Test dell'Aprassia di Utilizzo);
4. valutazione della funzionalità dell'arto superiore (O'Connor Finger Dexterity Test, Pennsylvania Bi-Manual Worksample);
5. valutazione delle autonomie di vita quotidiana (FIM e NIAF-R);
6. valutazione dello stato emotivo (CBA 2.0).

Alla fine del trattamento e dopo 6 mesi il paziente sarà nuovamente sottoposto alla stessa indagine neuroradiologica che era stata effettuata prima del trattamento.

## DISFAGIA E PROBLEMI CORRELATI IN BAMBINI CON PATOLOGIA NEUROLOGICA: DELINEAZIONE DI PROTOCOLLI DI VALUTAZIONE E TRATTAMENTO

**DOTT.SSA ANNA MARIA SALGHETTI**

e-mail: ANNAMARIA.SALGHETTI@CN.LNF.IT

### Linea di ricerca n.2

Riabilitazione neuromotoria e neuropsicologia funzionale

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Conegliano

### Collaborazioni

Polo IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini  
Centri di Riabilitazione La Nostra Famiglia della Regione Veneto  
Istituto di Riabilitazione Sloveno - Lubiana

## DESCRIZIONE

La eterogeneità dei comportamenti nei processi di trattamento delle turbe della deglutizione e delle complicanze nei bambini con Paralisi Cerebrale Infantile di tipo tetraplegico necessita di un approfondimento diagnostico multidisciplinare (valutazione foniatrica, logopedia, pneumologica, fisiatrice) al fine di raggiungere un obiettivo comune ovvero una classificazione funzionale della gravità della disfagia con le relative opzioni terapeutiche.

La ricerca corrente è volta alla strutturazione e applicazione di un protocollo di valutazione multidisciplinare per la raccolta e documentazione sistematica di un numero rilevante di casi di bambini con disturbi della deglutizione e respirazione secondari a Paralisi Cerebrale Infantile di tipo tetraplegico.

L'incrocio dei dati raccolti nelle schede disfagia, dei dati delle valutazioni pneumologiche e dei dati funzionali motori e cognitivi, sarà la base sulla quale tentare una sistematizzazione classificativa (analogamente a quanto già presente per le competenze motorie con la GMCS) della funzionalità

deglutitoria/respiratoria dei bambini con PCI, utile alla delineazione di linee guida di trattamento.

### Attività previste

Ampliare la casistica a un numero consistente di pazienti:

- follow-up dei bambini stessi;
- analisi degli indicatori di funzionalità nei vari domini per la ricerca di predittività;
- costituzione e manutenzione del database.

## IMPIEGO DI NUOVE TECNOLOGIE BIOINGEGNERISTICHE NELLA VALUTAZIONE DELLE PATOLOGIE NEUROMUSCOLARI

**DOTT.SSA MARIA GRAZIA D'ANGELO**

e-mail: GRAZIA.DANGELO@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.2

Riabilitazione neuromotoria e neuropsicologia funzionale

### Tipo di ricerca

Corrente

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

Reparto di Riabilitazione Funzionale - IRCCS "E. Medea" - Bosisio Parini

Dipartimento di Bioingegneria - IRCCS "E. Medea" - Bosisio Parini

Dipartimento di Neuroscienze - IRCCS Fondazione Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena, Milano

Dipartimento di Bioingegneria - Politecnico di Milano

Laboratorio di Ingegneria Biomedica- Politecnico di Milano

Unità Operativa Pneumologica Riabilitativa - IRCCS INRCA Casatenovo

Dipartimento di Neuroradiologia - IRCCS Fondazione Policlinico - Regina Elena - Mangiagalli - Università di Milano

## DESCRIZIONE

Lo sviluppo di tecnologie di tipo bioingegneristico non invasive rappresenta senza dubbio uno degli scenari più promettenti per la valutazione diagnostica accurata e per la comprensione di meccanismi eziopatogenici in patologie gravemente disabilitanti, quali le patologie neuromuscolari.

La nostra ricerca si propone di valutare due settori complessi, da un lato la misurazione dei volumi polmonari nelle diverse fasi della distrofia di Duchenne (DMD) tramite la pletismografia optoelettronica, e dall'altro la valutazione del metabolismo dell'emoglobina cerebrale nel corso dello svolgimento di specifici test neurocognitivi nella distrofia

miotonica di Steinert, tramite la NIRS.

Le due metodologie sono accomunate dall'assoluta non invasività e dall'assenza di attiva collaborazione da parte del paziente nell'esecuzione dell'esame.

Il recente sviluppo presso il Dipartimento di Bioingegneria del Politecnico di Milano, della tecnica della pletismografia opto-elettronica (OEP) consente di superare i limiti delle metodiche tradizionali utilizzate per la valutazione della funzionalità respiratoria e ne ha dimostrato l'applicabilità allo studio dei pazienti affetti da DMD e da altre patologie neuromuscolari.

La OEP costituisce perciò un importante strumento per la valutazione funzionale respiratoria dei pazienti DMD garantendo l'accuratezza di misura dei volumi totali e compartimentali della parete toraco-addominale; la possibilità di determinare in modo completo ed accurato il pattern ventilatorio in modo completamente non invasivo e senza l'utilizzo di boccagli e/o collaborazione da parte del paziente; la possibilità di analizzare il paziente in diverse posture (ad esempio seduto su carrozzina e in posizione supina); durante il sonno (le telecamere operano infatti nell'infrarosso e quindi è possibile effettuare le misure nell'oscurità) o in corso di diverse modalità di ventilazione meccanica.

La spettroscopia funzionale nel vicino infrarosso (Near-Infrared Spectroscopy NIRS) è stata indicata negli "Annals of The New York Academy of Sciences" (939:101-113; 2001) come una tecnologia tra le più promettenti del prossimo decennio per il monitoraggio finalizzato alla neuro-protezione.

Essa è infatti in grado di misurare parametri come l'ossigenazione ed il flusso ematico tissutale cerebrale a livello regionale, utilizzando strumentazioni portatili, non invasive e relativamente a basso costo.

La possibilità di impiego di una metodica non invasiva quale la NIRS nello studio del metabolismo dell'emoglobina cerebrale nel corso dello svolgimento di specifici test neurocognitivi in soggetti con noti deficit cognitivi risulta una possibilità di estremo interesse per la comprensione dei meccanismi eziopatogenetici potenzialmente responsabili del deficit stesso.

Nell'ampia casistica di pazienti affetti da patologia neuromuscolare afferente al nostro Istituto, un gruppo di pazienti risulta particolarmente indicato per una valutazione anche tramite NIRS (che, allo stato attuale dell'arte, pare particolarmente idoneo allo studio delle aree frontali). Il gruppo di soggetti, per lo più adulti, affetti da distrofia miotonica di Steinert presenta infatti deficit cognitivi

ascrivibili per lo più a funzioni coordinate dai lobi frontali e temporali.

### Attività previste

Per quello che riguarda lo studio della funzionalità respiratoria tramite la tecnica della Pletismografia Optoelettronica, ci prefiggiamo di completare l'analisi sui 70 pazienti affetti da distrofia muscolare di Duchenne i cui esami sono stati raccolti e di stendere in tempi brevi un primo manoscritto. Ci prefiggiamo inoltre di analizzare di dati di capacità respiratoria di un numero di 42 soggetti affetti da distrofie diverse da quella di Duchenne, quali distrofia di Becker, distrofie dei cingoli, distrofia facio-scapolo-omerale e amiotrofie spinali.

Per quello che riguarda la parte di progetto che comprende la valutazione del metabolismo cerebrale di distretti specifici in soggetti affetti da distrofia miotonica di Steinert tramite l'impiego della risonanza magnetica funzionale (fMRI) e di una metodica nuova, non invasiva, quale la spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS), ci proponiamo di iniziare la valutazione dei pazienti (e dei controlli).

Sono infatti allo stato attuale stati effettuati studi sul test selezionato, CPT Continuous Performance Test (CPT), applicabile anche in ambito di RMN funzionale ed indagine NIRS. Il test è stato applicato durante lo svolgimento dello studio NIRS su una decina di soggetti sani e su 4 soggetti affetti da distrofia miotonica di Steinert.

L'esame è stato ben tollerato sia per la semplicità sia per la breve durata dello stesso, 40 minuti.

Ci proponiamo pertanto di reclutare 30 soggetti: 15 volontari sani che costituiranno il gruppo di controllo e 15 pazienti affetti da distrofia miotonica di Steinert.

### Parte I: reclutamento della casistica (1 mese)

CRITERI DI INCLUSIONE (per soggetti affetti da distrofia miotonica di Steinert)

I 15 pazienti affetti da distrofia miotonica di Steinert saranno tutti reclutati nel nostro Istituto IRCCS "E.Medeo" e verranno sottoposti alla valutazione tramite NIRS nel corso del periodo di ricovero già previsto per attività di follow-up clinico funzionale.

Tali pazienti risponderanno ai seguenti criteri di inclusione:

- 1) diagnosi definitiva di distrofia miotonica di Steinert (quadro clinico, familiarità, analisi genetica);
- 2) adeguata comprensione del progetto di ricerca in corso, completa adesione alle modalità di controllo proposte nel protocollo di ricerca stesso, firma del consenso informato;

3) età compresa tra i 16 ed i 60 anni.

CRITERI DI ESCLUSIONE (Per i soggetti affetti da distrofia miotonica di Steinert)

Presenza nel paziente di patologie psichiatriche e/ o di disturbi della personalità tali da impedire una buona collaborazione durante l'esperienza.

CRITERI DI INCLUSIONE (per i soggetti del gruppo "controllo")

I soggetti che costituiranno il gruppo di controllo saranno 15 volontari sani.

Tali soggetti risponderanno ai seguenti criteri di inclusione:

- 1) assenza di alterazioni neurologiche e/o neuropsicologiche;
- 2) livello cognitivo e capacità attentive nella norma;
- 3) età compresa tra i 16 ed i 60 anni.

CRITERI DI ESCLUSIONE (per i soggetti del gruppo "controllo")

- 1) presenza di una qualsiasi neuropatologia o alterazione neuropsicologica;
- 2) assunzione di farmaci che possano compromettere il livello di attenzione del soggetto.

### *Parte II: valutazione dei pazienti tramite fMRI e NIRS (8 mesi)*

Entrambe le modalità di valutazione prevedono che il soggetto esegua, durante l'acquisizione, un test d'attenzione sostenuta: il Continuous Performance Test (CPT).

Il Continuous Performance Test (CPT) è un test di attenzione sostenuta utilizzato sia a scopo di ricerca medica sia per valutazioni cliniche in differenti patologie.

La semplicità di esecuzione di tale test ne facilita l'apprendimento.

Al soggetto viene richiesto di osservare la comparsa di lettere in stampatello che appaiono al centro dello schermo di un computer. Il soggetto deve premere il più velocemente possibile il pulsante del mouse ogni qual volta compare la lettera X (stimolo Target) e viene invitato a non premere alcun tasto se la lettera è diversa dalla X (stimolo NoTarget).

Le lettere vengono presentate ad intervalli (ISI) casuali di 1 sec o di 2 sec e rimangono visibili sullo schermo per 250 ms ciascuna (durata dello stimolo) per un totale di 450 lettere delle quali 25 lettere Target.

a) Valutazione tramite fMRI

L'esame verrà effettuato presso l' U.O. Centro Analisi Biosegnali, Responsabile Dott. Massimo Filippi,

Fondazione Centro San Raffaele del Monte Tabor  
b) Valutazione tramite NIRS

Gli esami tramite tecnologia NIRS saranno eseguiti presso il nostro Istituto "E. Medea" e, per i soggetti patologici, durante il periodo di ricovero già previsto per attività di follow-up.

Verrà utilizzato il sistema di spettroscopia nel vicino infrarosso fornito dalla Drexel University (Philadelphia, USA).

La procedura prevede due fasi:

- una prima fase di preparazione del soggetto della durata di circa 10 min;
- una seconda fase di esecuzione del test della durata di 14 min

Durante la prima fase il soggetto verrà fatto accomodare su una sedia posta di fronte ad un PC sul quale verrà in seguito presentato il test CPT.

Il soggetto verrà informato sulle modalità di esecuzione del test CPT, verificando l'effettiva comprensione della spiegazione.

Successivamente si passerà al posizionamento del probe sulla fronte del soggetto, che sarà precedentemente detersa per migliorarne l'adesione. Il probe verrà fatto aderire con una leggera pressione alla fronte del soggetto e quindi verrà collegato allo strumento NIRS fornito dalla Drexel University. Si entrerà in seguito nella seconda fase durante la quale il soggetto eseguirà il test CPT precedentemente spiegato.

Si andrà a valutare la variazione della concentrazione di emoglobina deossigenata (deoxy-Hb) ed emoglobina ossigenata (oxy-Hb) relativamente alla perfusione cerebrale in ogni soggetto e, successivamente, nei due gruppi (sani e patologici).

I dati acquisiti verranno analizzati.

## VALUTAZIONE CINEMATICA MEDIANTE 3D-GAIT ANALYSIS DI PAZIENTI AFFETTI DA DISTONIA PRIMARIA E SECONDARIA PRE- E POST-TRATTAMENTO CON DEEP BRAIN STIMULATION

**DOTT. LUIGI PICCININI**

e-mail: LUIGI.PICCININI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.2

Riabilitazione neuromotoria e neuropsicologia funzionale

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

Polo di Conegliano – IRCCS “E. Medea”  
Ospedale Meyer – Firenze  
Policlinico “Le Scotte” – Siena

## DESCRIZIONE

La distonia è una condizione legata a processi patologici a carico dei gangli basali, che provoca una riduzione dell'inibizione corticale cerebrale. Le forme più severe sono a esordio precoce e presentano una rapida evoluzione dei sintomi distonici durante l'infanzia.

Finora sono state descritte solo 3 forme correlate a mutazioni geniche:

- distonia primaria generalizzata DOPA responsiva;
- distonia correlata a mutazione autosomica dominante sul gene DYT1 del cromosoma 9q32-34;
- distonia correlata a mutazione autosomica dominante del gene  $\epsilon$ -sarcoglicano del cromosoma 7q21 responsabile della distonia mioclonica.

Molte altre forme di distonia restano ad eziologia sconosciuta.

Le terapie farmacologiche per la distonia primaria sono spesso risultate inefficaci. Sono stati sperimentati vari approcci chirurgici, che però sono risultati poco efficaci a lungo termine. Recentemente è stata riconsiderata la pallidotomia

come possibile trattamento nelle forme di grave distonia. Il suo utilizzo rimane comunque controverso, specialmente nei bambini. La stimolazione cerebrale profonda (DBS), che prevede la stimolazione del globo pallido interno, risulta essere efficace nel trattamento dei disturbi acinetopercinetici e nelle discinesie tipiche del morbo di Parkinson. Tale tecnica è stata successivamente utilizzata nelle distonie primarie con ottimo successo e, più recentemente, nelle distonie secondarie. La procedura chirurgica prevede l'introduzione di elettrodi sotto guida stereotassica, collegati successivamente con uno stimolatore impiantato nel sottocutaneo.

Visto il recente utilizzo della DBS nel trattamento delle distonie, la letteratura presenta pochi studi quantitativi sulle variazioni cinematiche dei pazienti sottoposti a tale metodica.

Il nostro obiettivo è pertanto quello di effettuare una analisi cinematica con sistema optoelettronico di pazienti affetti da distonia primaria e secondaria con impianto di DBS al fine di quantificare i miglioramenti clinico-funzionali dei soggetti trattati neurochirurgicamente.

In collaborazione con l'ospedale Meyer di Firenze e il Policlinico Le Scotte di Siena, verranno pertanto valutati 10 pazienti candidabili a DBS.

I soggetti verranno documentati mediante RMN encefalo e analisi genetica per inquadramento eziologico. I pazienti candidabili all'intervento di DBS, che non abbiano risposto alle terapie farmacologiche classiche, verranno valutati secondo il protocollo proposto in seguito.

Per i pazienti deambulanti verrà effettuata una gait analysis per studio di cinetica (ove possibile) e cinematica pre e a distanza di 6 mesi dall'impianto.

Per i pazienti non deambulanti, verrà eseguita una analisi cinematica degli arti superiori, secondo un protocollo attualmente in studio, per quantificare le variazioni nelle attività di reaching, grasping e manipolazione.

Le analisi strumentali verranno chiaramente affiancate da una serie di valutazioni clinico-funzionali mediante la somministrazione di scale standardizzate.

### Attività previste

La ricerca si svolgerà presso i 2 poli IRCCS “E. Medea” di Bosisio Parini e Conegliano per la parte clinico-strumentale e presso l'Ospedale Meyer di Firenze o il Policlinico “Le Scotte” di Siena per la parte neurochirurgica.

**ATTIVITA' PREVISTE PRESSO LE SEDI IRCCS MEDEA**

Verranno reclutati da un minimo di 10 a un massimo di 20 pazienti affetti da tetraparesi distonica o spastico-distonica a varie eziologie (esiti di sofferenza pre-perinatale o ad eziologia geneticamente determinata) resistenti alle comuni terapie farmacologiche.

I pazienti verranno sottoposti a risonanza magnetica encefalo.

**Protocollo di valutazione:**

T0:

1. raccolta dati anamnestici e clinici indicanti, oltre che i principali dati anagrafici, il livello di gravità di compromissione motoria, la presenza di disabilità aggiuntive e/o patologie completanti il quadro di co-morbidità complessivo.
2. Esame obiettivo e neurologico completo.
3. Valutazione mediante scale di autonomia e/o funzionali (FIM, Wee-FIM, GMFM).
4. Valutazione spasticità mediante scala di Ashworth.
5. Valutazione distonie mediante scala di BAD o Marsden.
6. Valutazione psicometrica.
7. Valutazione collegiale neurologo - fisiatra - neurochirurgo per valutare la candidabilità del paziente all'intervento di DBS.
8. Esecuzione di Movement Analysis (gait analysis per pazienti deambulanti, analisi dell'arto superiore per pazienti non deambulanti).

Durante i mesi successivi all'impianto di DBS i pazienti verranno monitorati presso i suddetti Centri per un eventuale adeguamento dei parametri di stimolazione mediante programmatore SynchroMed. A distanza di 6 mesi dall'impianto (T1) verranno ripetute le analisi clinico-strumentali 2,3,4,5,8.

**ATTIVITA' PREVISTE PRESSO L'OSPEDALE MEYER DI FIRENZE O POLICLINICO LE SCOTTE DI SIENA**

1. Impianto DBS sotto guida stereotassica.
2. Monitoraggio a breve termine post-impianto.

**Risultati attesi**

I risultati attesi riguardano la modificazione del quadro clinico funzionale del paziente sottoposto a impianto di DBS e l'obiettivazione dei risultati mediante analisi optoelettronica del movimento. Auspicabile inoltre la possibilità di migliorare la capacità di selezione del paziente candidabile a DBS.

**VALUTAZIONE DI ELEMENTI PROGNOSTICI NEL RISVEGLIO DAL COMA CON TECNICHE COMBinate DI fRMN, STUDIO POLISONNOGRAFICO E TECNICA NIRS (NEAR INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY)****DOTT.SSA SANDRA STRAZZER**

e-mail: SANDRA.STRAZZER@BPLNF.IT

**Linea di ricerca n.2**

Riabilitazione neuromotoria e neuropsicologia funzionale

**Tipo di ricerca**

Corrente

**Periodo di svolgimento**

2008

**Polo scientifico**

Bosisio Parini

**Collaborazioni**

Ospedale San Raffaele, Milano (Centro Analisi Bio-segnali,) o altra sede.

**DESCRIZIONE**

La condizione di stato vegetativo rappresenta tuttora uno dei quadri clinici meno conosciuti ed anche più problematici sul piano etico della medicina moderna. L'incidenza dello stato vegetativo a sei mesi dal momento della lesione cerebrale acuta oscilla da 0,5 a 4/100.000 abitanti.

La fase della cronicità subentra solitamente dopo alcuni mesi (3-6 nei pazienti non traumatici e 12 mesi nei pazienti traumatici) ed è caratterizzata da imm modificabilità o da modificabilità molto limitata del quadro neurologico e dello stato di coscienza. Nel 1972, Bryan Jennet e Freed Plum hanno definito i parametri clinici dello stato vegetativo: completa perdita della coscienza di sé e della consapevolezza dell'ambiente; recupero della ciclicità del ritmo sonno-veglia; conservazione più o meno completa delle funzioni ipotalamiche e troncoencefaliche autonome. In questo studio faremo riferimento a pazienti in stato vegetativo che scaturisce da comi di natura traumatica, vascolare, anossica o infettiva.

Nel 2002 la Aspen Neurobehavioral Conference Workgroup ha riconosciuto che la realtà clinica relativa ai pazienti con esiti di grave danno cerebrale acquisito è più complessa ed ha definito lo stato di minima coscienza quale evoluzione favorevole dello stato vegetativo.

In tali soggetti si può infatti, osservare la presenza, benché minima, di comportamenti caratterizzati da risposte o manifestazioni cognitive che, sebbene incostanti, sono riproducibili e di una tale durata da differenziarli dai comportamenti riflessi.

La diagnosi e lo studio dello stato vegetativo e di minima coscienza si basano al momento solo sulla osservazione clinica. Sarebbero pertanto utili approfondite indagini strumentali di imaging e di neurofisiologia clinica dirette a definire e a meglio chiarire le condizioni funzionali cerebrali, valutare l'integrità delle vie sensitivo-sensoriali e la presenza di eventuali processi discriminativi delle informazioni. L'analisi comparata dei dati clinici e degli esiti degli esami strumentali è in grado di fornire elementi utili al fine di stabilire alcuni criteri prognostici in ordine all'evoluzione clinica di questi pazienti.

Ogni anno nella nostra Unità (Gravi Cerebrolesioni Acquisite) entrano circa 20-25 pazienti in stato vegetativo, solo pochi evolvono in maniera veloce verso una ripresa della coscienza, per la maggior parte il processo è lento e richiede mesi. Circa il 20% dei pazienti permangono in stato vegetativo.

Il progetto prevede di utilizzare in pazienti in stato vegetativo strumenti volti a rilevare la funzione cerebrale quali la Risonanza Magnetica Cerebrale Funzionale (fRMN), la polisonnografia e la più recente tecnica funzionale fNIRS (ossia Near Infrared Reflectance Spectroscopy) al fine di identificare cambiamenti nell'attività cerebrale prognostici per un recupero della coscienza.

Gli strumenti utilizzati nel nostro studio sono in grado di fornire informazioni differenti ma complementari riguardo ai processi di attivazione cerebrali presenti anche in una condizione clinica di stato vegetativo o di minima responsività. In particolare la fRMN e la fNIRS sono in grado di rilevare cambiamenti emodinamici conseguenti ad una attività cerebrale mentre la polisonnografia è in grado di registrare cambiamenti elettrici durante il sonno in pazienti in stato vegetativo.

### Attività previste

Lo studio sarà condotto in modo prospettico e avrà una durata minima di 12 mesi. Verranno inclusi, dopo adeguato consenso informato dei genitori/tutori, i soggetti in stato di coma, o stato vegetativo o di minima responsività al primo ingresso presso

la nostra Unità Operativa per le Gravi Cerebrolesioni Acquisite.

Lo studio sarà strutturato nelle seguenti fasi:

#### Fase I:

I pazienti che verranno reclutati eseguiranno valutazioni cliniche standardizzate (Glasgow Coma Scale e Coma Near Coma Scale, LOCFAS ossia Scala del livello di funzionamento cognitivo).

#### Fase II:

Tutti i pazienti eseguiranno una prima polisonnografia, fNIRS e fRMN.

- La registrazione polisonnografica verrà effettuata durante le ore notturne mediante uno strumento di registrazione portatile al letto del paziente. Verrà analizzata la macrostruttura del sonno e la presenza di alterazioni del ritmo cardiaco e della frequenza respiratoria (apnee centrali o ostruttive, particolari patterns respiratori). La registrazione EEG verrà effettuata in monopolare con un montaggio che prevede 4 canali EEG (C3-C4-O1-O2), oculogramma (ROC, LOC), EMG submentale, EKG, termistore, cintura toracica e addominale, saturimetro.

- La Tecnica NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy) è un metodo di analisi secondario che sfrutta alcune proprietà fisiche della materia ed in particolare l'interazione di questa con le radiazioni del vicino infrarosso.

Questa tecnica si avvale della specifica capacità di ogni composto chimico di assorbire, trasmettere o riflettere la radiazione luminosa. La combinazione delle proprietà assorbenti, combinate con quelle di dispersione dell'energia luminosa, determina la diffusa riflettanza della luce, che contiene informazioni sulla composizione chimica del campione.

La fNIRS (Functional Near Infrared Spectroscopy), più in particolare, consente di misurare a livello regionale e in modo non invasivo le variazioni nella concentrazione di emoglobina deossigenata (deoxy-Hb) e di emoglobina ossigenata (oxy-Hb), che caratterizzano l'attività cerebrale del soggetto.

- La fRMN è una tecnica assolutamente sicura e non invasiva che permette di studiare direttamente in vivo il funzionamento cerebrale: la metodica si basa sul principio per cui le aree cerebrali attivate determinano un aumento del flusso ematico locale al quale fa seguito un incremento della concentrazione di deossiemoglobina che si traduce in una modificazione del segnale rilevato dalla macchina (effetto BOLD). La deossiemoglobina, grazie alle sue proprietà magnetiche, si comporta quindi come un mezzo di contrasto endogeno che si accumula nelle aree funzionalmente attive.

La fNIRS sarà utilizzata durante stimoli sonori inten-

si, visivi, sensoriali (tattili, dolorifici e propriocettivi) ed emotivi (voce della mamma) al fine di stimolare un'attività cerebrale generalizzata in risposta agli stimoli esterni. La fRMN, per ragioni tecniche, utilizzerà solo task sensitivi (tattili, dolorifici e propriocettivi) nonché se possibile uditivi (rumori intensi e fortemente emotivi).

#### Fase III:

I pazienti verranno sottoposti a trattamento riabilitativo intensivo secondo i protocolli in uso nella nostra Unità Operativa. Tutti i pazienti ripeteranno in modo seriato la valutazione clinica, la polisonnografia e la fNIRS. La fRMN verrà ripetuta solo nel momento in cui il paziente mostrerà un significativo cambiamento clinico o ai pazienti che permangono in stato vegetativo a 6 mesi di distanza dall'evento.

#### Fase IV:

I dati clinici e funzionali verranno confrontati al fine di determinare i parametri funzionali prognostici più sensibili.

## INTEGRAZIONE SENSORI-MOTORIA NELLA DCD. STUDIO MULTIDISCIPLINARE

**DOTT.SSA MONICA CAZZAGON**

e-mail:MONICA@PPLNF.IT

#### Linea di ricerca n.2

Riabilitazione neuromotoria e neuropsicologia funzionale

#### Tipo di ricerca

Corrente

#### Periodo di svolgimento

2008

#### Polo scientifico

San Vito al Tagliamento

#### Collaborazioni

Servizi di Fisiatria, Neurofisiologia e Neuropsichiatria infantile Polo Regionale Friuli Venezia Giulia - IRCCS "E. Medea"

## DESCRIZIONE

Negli ultimi anni, il riscontro di bambini con disturbo della coordinazione motoria, tale da portare a prestazioni motorie complesse significativamente inferiori ai pari età, è progressivamente aumentato, tanto da portare la descrizione di tale aspetto sintomatologico al ruolo di entità nosologica a sé stante (DCD, disturbo dello sviluppo della coordinazione motoria). La diagnosi di tale sindrome è basata su tre criteri: 1) l'assenza di disturbi motori conseguenti a cause neurologiche maggiori; 2) un disturbo motorio che coinvolga sequenze motorie complesse e finalistiche ("gesto"); 3) l'assenza di deficit predominanti nell'ambito di altre competenze. Nella patogenesi della DCD, è stato ipotizzato un deficit di pianificazione del movimento o, in alternativa, un deficit di analisi del percolato visuo-spaziale. Il gruppo della d.ssa Dewey [Dewey et al. 1994] ha recentemente distinto diversi sottogruppi all'interno della DCD, rispettivamente caratterizzati da un disordine di pianificazione dell'azione, da un disturbo di pianificazione motoria secondario a disturbi visuo-percettivi o percettivo-motori e, infine, da un disturbo di coordinazione dei patterns di singole sequenze. In ultima analisi, è tuttora da determinare se la DCD sia primitivamente dovuta ad un

disturbo sensoriale, programmatico o meramente esecutivo, e la maggior parte degli autori tende ad ipotizzare un ruolo assolutamente predominante di una delle tre possibili cause [Dewey et al. 1993. Denkla and Roeltgen 1992]. Il presente studio si propone di esplorare, con metodiche specifiche, il peso relativo del disturbo di programmazione e del deficit percettivo, in un gruppo di bambini con diagnosi presuntiva di DCD basata su criteri di esclusione.

Il protocollo sperimentale si avvarrà dell'utilizzazione combinata delle seguenti metodiche:

- 1) registrazione della Mismatch Negativity (MMN) Somestesica.
- 2) Registrazione dei Potenziali Evocati Somatosensoriali ad alta frequenza (HF-SEPs) da stimolazione dell'arto inferiore durante stazione eretta.
- 3) Studio della cinematica di movimenti semplici di "reaching" dell'arto superiore, in assenza di guida visiva ma dopo apprendimento del movimento.

1) Registrazione della Mismatch Negativity (MMN) Somestesica. Tale evento bioelettrico è ottenuto erogando stimoli devianti intercalati in una sequenza regolare di stimoli ripetitivi, in una situazione in cui il soggetto è istruito ad ignorare la stimolazione. Recentemente, tale metodica è stata applicata alla modalità di stimolazione somestesica, permettendo di evidenziare un deficit della discriminazione dello stimolo somatosensoriale in pazienti con lesione cerebellare [Restuccia et al. 2007]. Questa parte dello studio sarà preceduta dalla costruzione di valori normativi ottenuti da un gruppo di controllo di età sovrapponibile ai pazienti.

2) Registrazione dei Potenziali Evocati Somatosensoriali ad alta frequenza (HF-SEPs) da stimolazione dell'arto inferiore durante stazione eretta. L'input afferente somestesico risulta ridotto dalla corteccia cerebrale da un sovraafflusso di informazioni sensoriali non specificamente rilevanti. Per contro, è nota l'esistenza di un'altra classe di potenziali evocati somatosensoriali (HF-SEPs) legati al processamento di stimoli legati a cambiamenti o modificazioni ambientali rapide e/o inaspettate. Il nostro gruppo ha recentemente sottomesso per pubblicazione [Restuccia et al. Submitted to Clinical Neurophysiology] alcuni dati preliminari che evidenziavano come la stazione eretta non modifichi nei soggetti sani gli HF-SEPs, verosimilmente perché essi riflettono afferenze specificamente dedicate a rapidi cambiamenti adattivi

e non possono essere "spente" durante il mantenimento della postura. Ci proponiamo pertanto di verificare se tale fenomeno sia anche presente nei bambini con DCD o, piuttosto, se anche le afferenze somatosensoriali riflesse dagli HF-SEPs siano ridotte in questi pazienti.

3) Studio della cinematica di movimenti semplici di "reaching" dell'arto superiore, in assenza di guida visiva ma dopo apprendimento del movimento. L'analisi cinematica è la descrizione delle caratteristiche spaziali di un movimento comprendente gli spostamenti lineari e angolari, velocità e accelerazioni. Numerosi studi hanno approfondito le caratteristiche cinematiche del reaching funzionale a obiettivi differenziati (pointing e grasping) sia in soggetti sani che con disabilità [Jakobson Goodale 1991. Kamm et al. 1990. Thelen and Fisher 1983]. L'applicazione dell'analisi cinematica è stata già estesa a diversi gruppi di bambini di diverse età a rischio di sviluppo di patologie neurologiche che in bambini affetti da disabilità maggiori [Coluccini et al. 2007. Van der Heide et al. 2005]. Per contro, l'applicazione dell'analisi cinematica del reaching nei bambini con DCD è invece ancora relativamente poco applicata [Zoja et al. 2006].

### Attività previste

#### *Reclutamento dei soggetti*

Soggetti con DCD verranno reclutati presso i centri di riabilitazione dell'IRCCS "E. Medea" della Associazione La Nostra Famiglia del Polo friulano. All'interno di queste strutture saranno individuati alcuni pazienti, sia maschi che femmine, con diagnosi di DCD. Prima di iniziare il protocollo sperimentale, i bambini saranno sottoposti alle procedure diagnostiche tese a validare la diagnosi (QI, MABC, NEPSY, Polisonnografia in siesta pomeridiana, posturografia, RMN cerebrale). Ai tutori dei bambini verrà proposta la partecipazione alla sperimentazione. Tutti i soggetti saranno sottoposti ad una intervista preliminare al fine di valutare la loro idoneità allo studio. Saranno inclusi nel progetto di ricerca solo i bambini di età compresa tra 7 e 10 anni di età.

Gruppi di controllo. E' prevista la possibilità di reclutare soggetti sani in età sovrapponibile al gruppo di pazienti, presso strutture scolastiche, previa autorizzazione da parte delle figure dirigenziali delle scuole stesse. Ad ogni modo, i gruppi di controllo per le procedure neurofisiologiche (MMN somestesica, HF-SEPs degli arti inferiori) sono già stati ottenuti per una fascia di età lie-

vemente superiore alla fascia prevista, e i dati relativi sono stati sottomessi per pubblicazione a riviste indicizzate. Per quanto riguarda, quindi, le due summenzionate tecniche, si conta di integrare i gruppi di controllo preesistenti piuttosto che costruirli "ex novo".

#### *Procedura sperimentale*

Si prevede di sottoporre all'esperimento (descritto di seguito):

- dieci bambini, tra 7 e 10 anni, affetti da DCD (Gruppo DCD);
- dieci bambini di controllo, con età compresa tra 7 e 10 anni, (Gruppo di Controllo Analisi cinematica);
- cinque bambini di controllo, con età compresa tra 7 e 10 anni (Integrazione Gruppo di controllo MMN Somestesica e HF-SEPs).

Per ciascun soggetto, lo studio prevede sostanzialmente tre sedute sperimentali, da effettuare in giornate differenti.

Le registrazioni avverranno presso il Laboratorio di Neurofisiologia del CPR di Pasion di Prato (MMN Somestesica e HF-SEPs) e presso il Laboratorio Analisi del Cammino (Dip. Neurologia Univ. di Udine, sede di Gemona). Nella sede di provenienza verrà richiesto ai tutori del soggetto un preliminare consenso informale alla partecipazione. Al momento di effettuare le sedute sperimentali saranno nuovamente esposte ai soggetti o ai loro tutori le ragioni del progetto, i suoi scopi e le modalità sperimentali, infine verrà presentato loro un protocollo di consenso informato, con la richiesta di sottoscrivere il consenso alla partecipazione.

#### *Protocollo sperimentale*

Si prevede di effettuare in tre sedute, a breve distanza, ciascuna delle procedure descritte di seguito:

- a) Registrazione della MMN somestesica. Dopo posizionamento non invasivo di 8 elettrodi di superficie sullo scalpo (in sede frontale, centrale e parietale) verranno erogate coppie di stimoli elettrici a soglia sensitiva, inferiore pertanto a 2 mAmpere, non dolorosa e tale da non causare shift dell'attenzione (20% stimolo deviante al pollice destro, 80% stimolo frequente al mignolo destro), mentre l'attenzione del bambino viene distratta da videogioco adatto all'età, identico per tutti i pazienti. Con minime correzioni legate all'età, il protocollo sperimentale è già stato descritto in una precedente pubblicazione. Dati normativi ottenuti in una

popolazione di età media lievemente superiore a quella prevista per tale studio (10-15 anni) sono già stati raccolti e attualmente sottoposti per pubblicazione su rivista indicizzata.

- b) Registrazione HF-SEPs. Dopo posizionamento non invasivo di 3 elettrodi di superficie sullo scalpo (in sede frontale, centrale e parietale) verranno erogati stimoli elettrici a soglia motoria non dolorosa sul nervo tibiale posteriore destro alla caviglia. Dopo erogazione di circa 700 stimoli con soggetto in posizione supina, la stessa procedura verrà ripetuta durante stazione eretta. Le risposte somatosensoriali ottenute verranno sottoposte a filtraggio digitale (banda passante 400-800 Hz), in modo da ottenere le risposte somatosensoriali ad alta frequenza. Con minime correzioni legate all'età, il protocollo sperimentale è già stato descritto in uno studio sottomesso per pubblicazione a rivista indicizzata.
- c) Studio della cinematica di movimenti semplici di "reaching" dell'arto superiore, in assenza di guida visiva ma dopo apprendimento del movimento. La procedura dello studio prevede lo studio cinematico del reaching e la cinetica del COP (misurazione delle forze di reazione al suolo) in soggetti in una postura seduta confortevole utilizzando un sistema di analisi del movimento optoelettronico (BTS) in una configurazione a 4 telecamere con un campionamento a 50 Hz. Per la registrazione degli spostamenti del COP verrà utilizzata una piattaforma di forza Kistler. Il compito di reaching sarà finalizzato ad un obiettivo semplice ad es. il pointing di un target visivo con significato funzionale. Per evidenziare eventuali deficits nella programmazione del movimento, l'analisi cinematica sarà effettuata in due tempi separati da circa 15 minuti. In una prima fase, il bambino eseguirà il movimento ad occhi aperti e dopo rapida istruzione sul task da effettuare. In una seconda fase, il bambino dovrà ripetere il medesimo task, senza istruzione preliminare e ad occhi chiusi.

#### **Obiettivi della ricerca**

- a) Determinare la presenza di un deficit dell'analisi dell'input somatosensoriale in bambini con DCD. Ciò sarà verificato mediante l'applicazione di due tecniche neurofisiologiche: 1) Mismatch negativity somestesica, onde valutare l'esistenza di deficit della discriminazione tattile in assenza di attenzione focalizzata all'arto su-

periore; 2) HF-SEPs da stimolazione arti inferiori durante stazione eretta, al fine di evidenziare eventuali deficit di modulazione dell'input somestesico durante la postura eretta.

- b) Determinare la presenza di un deficit di programmazione dell'atto motorio agli arti superiori in bambini con DCD. Ciò sarà verificato mediante l'esecuzione di analisi cinematica di movimenti di reaching dell'arto superiore, confrontando le prestazioni ad occhi aperti con analoghe prestazioni ad occhi chiusi dopo apprendimento.

## L'ATTENZIONE SPAZIALE E IL MOVIMENTO NELL'AUTISMO

**DOTT.SSA SARA FORTI**

e-mail: SARA.FORTI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

## DESCRIZIONE

Il progetto si propone come la prosecuzione della ricerca corrente 2007.

Ricerche concomitanti in corso presso l'IRCCS "E. Medea" stanno mettendo in luce specifici disturbi di movimento nell'autismo, in particolare nell'analisi del cammino (gait) (Nobile et al., in press) e dei movimenti manuali finalizzati (Forti et al., in press). I soggetti autistici appaiono caratterizzati da rigidità posturale, anomala lentezza nelle prime e nelle ultime fasi del movimento. È altamente probabile che ciò sia dovuto a disturbi dell'equilibrio, per quello che riguarda il cammino, e incerta programmazione dello stato finale, in particolare nell'orientamento degli oggetti (via visiva dorsale). Con questo progetto si analizzerà in dettaglio quanto ciò sia dovuto alla scarsità di risorse attentive in compiti visuo-spaziali.

Dopo aver confermato i deficit di attenzione visuo-spaziale, con sintomi simili a quelli mostrati da pazienti affetti da eminegligenza spaziale unilaterale (neglect), studieremo quanto ciò influisce in particolare sulle abilità motorie, 1) nel movimento di puntamento in risposta a stimoli lateralizzati e 2) nei movimenti più complessi su imitazione; se i deficit attentivi siano conseguenti da un'allocazione delle risorse a un compito motorio di per sé deficitario, o se invece siano proprio le carenze attentive a determinare anomalie di movimento. Si studieranno inoltre le caratteristiche sindrome-specifiche di tali sintomi, in particolare nel confronto con il ritardo mentale dovuto a patologie

diverse (es. Williams).

Dal punto di vista attentivo, i pazienti con disturbi dello spettro autistico mostrano anomalie sia nello spostamento (“shifting”) dell’attenzione (Courchesne et al., 1994; Harris et al., 1999), che nel processamento di stimoli in competizione, con deficit di ancoraggio (“engagement”; Van der Geest et al., 2001), o disancoraggio (“disengagement”; Bryson et al., 1990), con caratteristiche distinte dalle alterazioni riportate nei casi di ritardo mentale (Landry e Bryson, 2004), e potenzialmente sfruttabili come indicatore diagnostico già a 12 mesi di vita (Zwaigenbaum et al., 2005). Tali anomalie verranno analizzate in esperimenti computerizzati in cui si valuterà la riduzione del gap-effect nei pazienti autistici.

Per gap effect si intende un vantaggio nel processamento di stimoli lateralizzati in assenza di un concomitante stimolo centrale, cioè quando esiste un “gap” temporale fra la scomparsa del punto di fissazione e la presentazione degli stimoli target in periferia, permettendo perciò all’attenzione di spostarsi (shift) dal centro alla periferia senza necessità di disancorarsi (disengage) dal punto di fissazione. Nei soggetti sani, tale “gap” determina una riduzione dell’ordine di 50-60ms nelle risposte agli stimoli visivi lateralizzati (Saslow, 1967), mentre tale vantaggio viene ridotto a circa 40 ms nell’autismo. Nei soggetti sani, il gap-effect si presenta sia sulle risposte automatiche saccadiche, che nelle risposte volontarie manuali, purché queste abbiano componenti spaziali di programmazione motoria. Infatti, si ha un gap-effect moderato o nullo se si richiede di individuare la posizione di un target scegliendo fra due bottoni adiacenti (Iwasaki, 1990; Tam e Stelmach, 1993; Machado, 1998; Reuter-Lorenz et al., 1991; Tam e Ono, 1994), mentre si ha un gap-effect significativo se la posizione del target va indicata orientando manualmente un joystick verso la posizione target (Bekkering et al., 1996). Confermeremo la presenza di un gap-effect, sebbene ridotto, nei movimenti oculari di pazienti con disturbi dello spettro autistico. A tale scopo, verrà usato il nuovo eye tracker TOBII x 50, che permette di misurare le risposte saccadiche in modo minimamente invasivo.

In seguito, studieremo il gap-effect manuale nell’autismo, a confronto con un gruppo di controlli sani, in un compito di puntamento, in cui gli stimoli vengono presentati su un touch screen. In tal modo, saremo in grado di misurare la velocità delle risposte saccadiche a confronto con la velocità delle risposte manuali; ciò permetterà di valutare nello specifico la componente attentiva

nel comportamento motorio, alla ricerca delle relazioni causali.

In seguito l’indagine delle componenti motorie verrà approfondita in uno studio in cui verranno misurate sia le componenti cinematiche che le risposte oculari di fronte a un modello per l’imitazione motoria. Questo sarà l’unico studio in cui verranno misurati i movimenti oculari dei soggetti autistici nel mondo reale, grazie alla portabilità dell’eye tracker TOBII x 50.

## Attività previste

### 1. Campione:

Previo consenso informato del genitore, verranno studiati i bambini fra i 4 e i 6 anni afferenti alla divisione di psicopatologia dell’età evolutiva (NR2) dell’IRCCS “E. Medea” con diagnosi di autismo o disturbi nello spettro autistico, i fratelli di bambini autistici e i bambini sani, equiparati per età mentale.

### 2. Co-indicatori di valutazione:

- Scale diagnostiche per l’autismo appropriate per l’età del soggetto: ADOS, ADI-R CARS.
- Scale di valutazione psico-motoria nell’autismo: ABC.
- Scale di funzionamento cognitivo globale: Griffith, WISC-R.

### 3. Metodologia sperimentale:

*Esperimento 1:* Osservazione di stimoli semplici in veloce successione in posizione centrale e laterale.

- Risposte: movimenti oculari (TR).

*Esperimento 2:* Detezione di stimoli semplici in veloce successione in posizione laterale in condizione gap vs. overlap.

- Risposte: movimenti oculari e risposta a tastiera (non lateralizzata)(TR).
- Risposte: movimenti oculari e risposta di puntamento (TR).

*Esperimento 3:* Compito di puntamento su imitazione.

- Risposte: movimenti oculari e risposta di puntamento (analisi cinematica).

#### Misurazione Risposte:

- a. Risposta saccadica e fissazioni oculari registrate tramite eye-tracker (TOBII x50).
- b. TR motori di puntamento tramite touch-screen (EloTouch CRT Monitor).
- c. Analisi cinematica del movimento di puntamento (BTS SMART).

### 4. Rischi eventuali:

La metodologia non presenta rischi, eccetto quello

di non ottenere la collaborazione di alcuni soggetti autistici dal QI particolarmente basso.

### 5. Aspetti etici di rilievo

#### *Analisi movimenti oculari*

Si propone l'utilizzo di un nuovissimo eye-tracker che non presenta alcun carattere di invasività poiché nessun componente hardware viene montato sul soggetto. L'Eye Tracker TOBII x50 si presenta come un sistema optoelettronico a raggi infrarossi applicato in prossimità del monitor PC. L'analisi si basa sul riconoscimento delle caratteristiche di rifrazione della pupilla. La calibrazione richiede circa 30 secondi, in cui al soggetto viene semplicemente richiesto di guardare degli stimoli che si muovono sullo schermo. In tal modo si ovvia a qualunque tipo di fastidio, anche psicologico del soggetto. Tale eye tracker è stato più volte usato per studi sui bambini.

#### *Analisi cinematica*

L'acquisizione dei dati viene effettuata tramite un sistema optoelettronico a raggi infrarossi. L'analisi si basa sul riconoscimento e ricostruzione tridimensionale di marker passivi posizionati su punti di reperi anatomico. Il sistema optoelettronico è costituito da telecamere con illuminatore dotate di un sensore CCD sensibile alla radiazione luminosa infrarossa. I marker posizionati sul soggetto sono rivestiti di materiale riflettente in polvere di alluminio. Il loro riflesso, opportunamente elaborato, fornisce le coordinate tridimensionali di ogni singolo punto. Tale metodologia non presenta alcun carattere di invasività ed è già stata ampiamente applicata nello studio del movimento infantile.

#### *Disegno sperimentale*

L'esperimento verrà presentato come un breve gioco dalle caratteristiche accattivanti per il bambino, che dovrà toccare lo schermo appena riconoscerà l'oggetto target. Perciò non riteniamo che la metodologia risulti in alcun modo fonte di stress per i bambini.

### Risultati attesi

Ci poniamo una serie di interrogativi di ricerca:

#### 1. La latenza nelle risposte nell'autismo ha origine attentiva o motoria?

Per quel che riguarda l'orientamento dell'attenzione visuo-spaziale, ci aspettiamo di confermare lo studio EOG di Van der Geest et al. (2001), con un gap-effect di entità minore nell'autismo. La registrazione dei movimenti oculari tramite eye-tracker permetterà di analizzare tale risultato in dettaglio, in particolare individuando se la durata delle fissa-

zioni (e in particolare della prima vs seconda fissazione) sugli oggetti d'interesse è comparabile fra bambini ASD e bambini sani.

Inoltre ci aspettiamo di riscontrare un gap-effect motorio nei bambini sani attraverso il rilevamento dei tempi di puntamento con l'utilizzo di un touchscreen. La risposta motoria di puntamento dovrebbe avere sufficienti caratteristiche spaziali perché questo fenomeno si verifichi.

Per la prima volta misureremo il gap-effect motorio nell'autismo, che ci aspettiamo essere, non solo di entità maggiore che nei bambini sani, ma anche potenzialmente discriminante in fase diagnostica. L'analisi dettagliata di tale componente motoria attraverso lo studio della traiettoria e della velocità dell'arto superiore può contribuire a far luce sull'origine dei disturbi motori nella sindrome autistica. In particolare, attraverso lo studio della posizione e dell'ampiezza del picco di velocità, potrà essere misurata la componente di programmazione del movimento e la sua dipendenza dall'attenzione.

#### 2. Studio dei deficit specifici di coordinazione occhio-mano

Lo studio contribuirà significativamente allo studio approfondito della coordinazione occhio-mano nell'autismo, che ci aspettiamo essere deficitario come conseguenza di anomalie cerebellari e della via dorsale. Tuttavia, tale ricerca, attraverso la misurazione congiunta dei movimenti oculari e delle variabili cinematiche, potrà far luce sui meccanismi attentivi e motori che determinano tale mancanza di coordinazione: è la mano che non riesce a seguire l'occhio o viceversa?

Inoltre, è possibile che proprio la coordinazione occhio-mano o visuo-motoria permetta di spiegare la differenza nelle competenze motorie degli autistici ad alto funzionamento, rispetto ai bambini sani e agli autistici a basso funzionamento.

#### 3. Studio delle componenti lateralizzate

Le più recenti ricerche mostrano una singolare similitudine sintomatica fra l'autismo e il neglect, sia nelle componenti attentive, che in quelle motorie, che in quelle cognitive come la teoria della mente. Entrambe le sindromi dipenderebbero infatti da malfunzionamenti del lobo parietale e della via dorsale. Questa ricerca ci permetterà di valutare se i ritardi nelle risposte attentive dipendono da deficit di attenzione non lateralizzata (nel qual caso ci aspettiamo: tempi saccadici e fissazioni generalmente più lunghe, un rallentamento nella detezione di stimoli semplici, con pressione non discriminante di un tasto o l'emissione di una risposta vocale), o da componenti lateralizzate, sia

attentive (con differenze saccadiche in una parte dello schermo) che motorie (in particolare per i movimenti in cui la mano si muove nello spazio contra-laterale).

#### 4. Studio dell'imitazione motoria

Una volta studiata la capacità di eseguire un movimento di puntamento semplice, si misurerà quanto le difficoltà di imitazione nell'autismo influiscano sul comportamento motorio. In particolare saremo in grado di determinare se le difficoltà imitative dipendono da carenze attentive sul soggetto modello, nel caso in cui vi siano poche fissazioni oculari anche sulle mani del soggetto, nonostante esse non costituiscano uno stimolo emotigeno.

## EFFETTI DELLA RIABILITAZIONE SUI SISTEMI MOTORI NEI PAZIENTI AFFETTI DA AUTISMO

**DOTT. PAOLO BRAMBILLA**

e-mail: PAOLO.BRAMBILLA@UNIUD.IT

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

San Vito al Tagliamento

## DESCRIZIONE

La Sindrome autistica è stata per lungo tempo considerata come una patologia delle cosiddette funzioni superiori del cervello e addirittura inizialmente classificata fra le psicosi. [1] Tuttavia gli sviluppi degli ultimi 15 anni di ricerca hanno evidenziato come il disturbo autistico comporti anche particolari deficit di organizzazione del movimento. In particolare è stata evidenziata la ridotta capacità dei sistemi motori dei soggetti affetti da autismo di compiere efficaci previsioni sia sulle perturbazioni che l'ambiente può indurre sul movimento, sia viceversa sugli effetti che il loro movimento avrà sull'ambiente. [2-5] Inoltre particolari deficit della motilità spontanea del neonato sono stati addirittura proposti come possibile indicatore diagnostico precoce di autismo. [5] Un altro filone di ricerca ha evidenziato deficit motori anche per quanto riguarda i movimenti oculari, con particolare riferimento ai movimenti lenti di inseguimento. [6] Dal punto di vista neuroanatomico si è evidenziato come principale sede della disfunzione motoria il cervelletto. [4] Tuttavia non è affatto escluso che possano esistere anomalie di funzionamento anche a livello corticale. Una recente scoperta [7] effettuata da Fogassi et al. ha evidenziato nella corteccia cerebrale del primate la presenza di "catene" di neuroni collegati fra loro che sarebbero dedicati a gestire i vari movimenti di cui è composta un'azione non in maniera modulare e indipendente per ogni

segmento dell'azione, bensì in maniera dedicata a seconda dello scopo ultimo dell'azione. In altre parole, i neuroni corticali che codificano l'azione di afferrare per portare alla bocca non sono gli stessi che codificano lo stesso movimento di afferramento quando il fine ultimo dell'azione non sarà il portare alla bocca ma ad esempio il piazzare in un contenitore.

Il modello motorio delle "catene" neurali proposto da Fogassi et al. presenta inoltre proprietà di tipo "specchio" ("mirror"). Occorre premettere che vengono definiti sistemi neuronali di tipo "mirror" quei sistemi che si attivano sia quando il soggetto esegue un'azione che quando osserva un attore esterno eseguire la stessa azione. Prove dell'esistenza di un sistema che si attiva sia nell'esecuzione che nell'osservazione di un gesto sono state raccolte anche nell'uomo, con metodiche neurofisiologiche e di neuroimmagini [8].

È evidente a questo punto come il modello di controllo motorio proposto da Fogassi contenga per definizione la capacità di prevedere lo scopo ultimo dell'azione effettuata e probabilmente fornisce un substrato anatomico anche per interpretare lo scopo delle azioni effettuate da altri. Tale modello pertanto si presta bene all'interpretazione dei deficit di movimento e comportamentali inclusi nella sindrome autistica. Più in generale, anche alcuni sintomi di ambito più cognitivo, i sintomi negativi in ambito sociale e pragmatico, l'incapacità a riconoscere i gesti e i deficit di linguaggio possono essere interpretati come fallimento del sistema "mirror" di risonanza fra gli atti compiuti dal soggetto e gli atti compiuti da altri. [9, 10].

Per indagare l'organizzazione dei sistemi motori nella Sindrome autistica, sarà utilizzata una batteria di test non invasivi, che includono le principali tecniche a nostra disposizione per lo studio dei sistemi motori. Le prove prevedranno l'esecuzione di semplici compiti motori, durante i quali verranno registrati isolatamente o in combinazione diversi parametri quali ad esempio: a) l'attività muscolare (elettromiografia - EMG) mediante elettrodi di superficie; b) la cinematica del movimento; c) i movimenti oculari; d) l'elettroencefalogramma (EEG) e i potenziali evocati; e) le risposte di attivazione del sistema autonomo (risposta psicogalvanica, ossia la variazione di impedenza della cute derivante dall'attivazione del sistema nervoso ortosimpatico, e variazioni della frequenza cardiaca, entrambi indici di attività emozionale); f) lo studio comportamentale delle risposte motorie in diverse situazioni di esecuzione o osservazioni di azioni o gesti.

## Bibliografia

- [1] Volkmar FR, Pauls D. Autism. *Lancet*. 2003;362(9390):1133-41
- [2] Muller RA, Pierce K, Ambrose JB, Allen G, Courchesne E. Atypical patterns of cerebral motor activation in autism: a functional magnetic resonance study. *Biol Psychiatry*. 2001;49(8):665-76.
- [3] Schmitz C, Martineau J, Barthelemy C, Assaiante C. Motor control and children with autism: deficit of anticipatory function? *Neurosci Lett*. 2003;348(1):17-20.
- [4] Nayate A, Bradshaw JL, Rinehart NJ. Autism and Asperger's disorder: are they movement disorders involving the cerebellum and/or basal ganglia? *Brain Res Bull*. 2005;67(4):327-34.
- [5] Teitelbaum O, Benton T, Shah PK, Prince A, Kelly JL, Teitelbaum P. Eshkol-Wachman movement notation in diagnosis: the early detection of Asperger's syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(32):11909-14.
- [6] Sweeney JA, Takarae Y, Macmillan C, Luna B, Minshew NJ. Eye movements in neurodevelopmental disorders. *Curr Opin Neurol*. 2004 Feb;17(1):37-42.
- [7] Fogassi L, Ferrari PF, Gesierich B, Rozzi S, Chersi F, Rizzolatti G. Parietal lobe: from action organization to intention understanding. *Science*. 2005;308(5722):662-7.
- [8] Rizzolatti G, Craighero L. The mirror-neuron system. *Annu Rev Neurosci*. 2004;27:169-192
- [9] Oberman LM, Hubbard EM, McCleery JP, Altschuler EL, Ramachandran VS, Pineda JA. EEG evidence for mirror neuron dysfunction in autism spectrum disorders. *Brain Res Cogn Brain Res*. 2005;24(2):190-8.
- [10] Williams JH, Whiten A, Suddendorf T, Perrett DI. Imitation, mirror neurons and autism. *Neurosci Biobehav Rev*. 2001;25:287-295.
- [11] Cattaneo L, Fabbri-Destro M, Boria S, Pieraccini C, Monti A, Cossu G, Rizzolatti G. Impairment of actions chains in autism and its possible role in intention understanding. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Nov 6;104(45):17825-30
- [12] Brambilla P, Cerini R, Gasparini A, Versace N, Andreone E, Vittorini C, Barbui L, Pelizza M, Nosè L, Barlocco G, Marrella M, Gregis K, Tournikioti AS, David MS, Keshavan M, Tansella. Investigation of corpus callosum in schizophrenia with diffusion imaging. *Schizophrenia Res* 79: 201-210, 2005.
- [13] Andreone N, Tansella R, Cerini A, Versace G, Rambaldelli C, Perlini N, Dusi L, Pelizza M, Balestrieri C, Barbui M, Nosè A, Gasparini P, Brambilla. Cortical white matter disruption in schizophrenia: a diffusion imaging study. *British Journal of Psychiatry* 191:113-9.

## Attività previste

### Risultati previsti

- a) Confermare il precedente esperimento eseguito dal Professor Rizzolatti (Cattaneo et al, PNAS 2007).
- b) Evidenziare differenze nell'intenzionalità tra bambini con autismo e bambini con DSL.
- c) Valutare gli effetti della riabilitazione vs programma TEACCH sugli effetti "mirror" dell'intenzionalità.
- d) Confrontare gli effetti della riabilitazione sulle risposte mirror nei bambini con autismo e nei bambini con DSL sottoposti a logopedia.

### Reclutamento dei soggetti

Soggetti autistici e gruppo di controllo con patologie dello sviluppo verranno reclutati presso i centri di riabilitazione dell'IRCCS "E. Medea" della Associazione La Nostra Famiglia del Polo friulano. All'interno di queste strutture saranno individuati alcuni pazienti, con diagnosi accertata di disturbo dello spettro autistico, sia maschi che femmine, in età superiore o uguale a 3 anni. A tali soggetti o ai loro tutori verrà proposta la partecipazione alla sperimentazione. Tutti i soggetti saranno sottoposti ad una intervista preliminare al fine di valutare la loro idoneità allo studio. Saranno inclusi nel progetto di ricerca solo quei pazienti con diagnosi di sindrome autistica cosiddetti "High-Functioning", ossia con normale Quoziente Intellettivo (QI). Saranno esclusi quei soggetti senza una chiara diagnosi di autismo valutata mediante le scale CARS, PEP-R, ADOS. Per quanto riguarda il gruppo di controllo verranno identificati soggetti di età confrontabile a quella dei soggetti autistici, che presentino disturbi specifici del linguaggio. E' prevista la possibilità di reclutare soggetti sani in età evolutiva presso strutture scolastiche, previa autorizzazione da parte delle figure dirigenziali delle scuole stesse.

Volontari sani. Il gruppo di controllo sarà costituito da volontari sani, equiparati per età e sesso.

### Procedura sperimentale

Per ciascun soggetto, lo studio potrà prevedere una o più sedute sperimentali e potrà essere effettuato nell'arco di una o più giornate. Ogni sessione sarà di breve durata al fine di evitare un possibile affaticamento o stress da parte dei soggetti (durata da pochi minuti a due ore circa).

Le registrazioni avverranno nelle strutture assistenziali di provenienza o presso strutture scolastiche. Nella sede di provenienza verrà richiesto ai sogget-

to o ai loro tutori un preliminare consenso informale alla partecipazione. Al momento di effettuare le sedute sperimentali saranno nuovamente espone ai soggetti o ai loro tutori le ragioni del progetto, i suoi scopi e le modalità sperimentali, infine verrà presentato loro un protocollo di consenso informato, con la richiesta di sottoscrivere il consenso alla partecipazione.

Protocollo sperimentale: in ogni seduta sarà possibile effettuare una o più misurazioni contemporaneamente di quelle descritte di seguito durante uno o più compiti comportamentali che includano l'effettuare un movimento o l'osservare un movimento.

In particolare verranno effettuate:

a) registrazione dell'attività elettromiografica e la registrazione delle risposte del sistema nervoso autonomo. Vengono effettuate attraverso elettrodi di superficie applicati alla cute. Il segnale elettrico proveniente dal muscolo, dalla cute stessa o dall'elettrocardiogramma, a seconda del protocollo viene amplificato e digitalizzato tramite apparecchi dedicati. Nella caso delle registrazioni muscolari verranno applicati elettrodi su diversi effettori (arti superiori, inferiori, capo o bocca); nel caso delle registrazioni della risposta psicogalvanica o dell'elettrocardiogramma la posizione degli elettrodi sarà fissa, sul palmo della mano e sul torace rispettivamente.

b) Studio della cinematica del movimento. Si avvale di minuscoli marcatori adesivi applicati sulla cute del soggetto, che vengono riconosciuti a distanza da un sistema di telecamere ad infrarossi. La lettura della posizione del marcatore nello spazio consente di ricostruire la traiettoria del movimento e i principali parametri temporali del movimento stesso.

c) Studio dei movimenti oculari. Si avvale di un sistema di telecamere ad infrarossi che, previa calibrazione, riconosce la posizione della pupilla e ricostruisce la direzione dello sguardo nel tempo. I sensori vengono posti davanti al soggetto. Tutte le misurazioni vengono effettuate a distanza e pertanto non è necessario alcun marcatore applicato al soggetto.

d) L'EEG e i potenziali evocati. La registrazione dell'attività elettrica cerebrale dei soggetti si avvale di piccoli elettrodi registranti applicati alla cute dello scalpo del soggetto. Il contatto con la cute sarà garantito da una cuffia su cui saranno montate le serie di elettrodi. Il segnale viene amplificato da un poligrafo. Saranno studiate eventuali modificazioni dei ritmi cerebrali in associazione a compiti motori o cognitivi nonché la comparsa di potenziali evoca-

ti evento-correlati in corrispondenza di tali compiti.  
e) Gli studi comportamentali. Non si avvarranno di nessuna strumentazione se non dell'osservazione diretta del soggetto.

In tutte le sedute ci avvarremo eventualmente di una videoregistrazione della seduta sperimentale tramite una comune videocamera digitale. Le immagini non verranno divulgate in alcun modo e serviranno all'analisi dei dati. Nel caso si volesse utilizzare delle immagini a scopo dimostrativo, verrà richiesto il consenso del soggetto o dei relativi tutori.

#### *Sicurezza della procedura e riconoscimento degli effetti secondari*

Tutte le tecniche sopra elencate non comportano alcun rischio diretto per i soggetti, trattandosi di procedure non invasive, che non prevedono alcun tipo di stimolazione e che si limitano a registrare alcuni parametri biologici. Ogni esame comunque sarà effettuato in presenza di un medico. L'esperimento può essere immediatamente sospeso in qualsiasi istante, ove il soggetto o il tutore del soggetto lo richieda o il medico responsabile ne ravvisi l'opportunità.

#### *Consenso informato*

È previsto un consenso informato scritto da parte dei soggetti o dei loro genitori/tutori. In aggiunta è esplicitato il carattere sperimentale della procedura, il fatto che nessun vantaggio diretto verrà conseguito dai partecipanti, nonché il diritto dei soggetti ad interrompere in qualsiasi momento la registrazione.

#### *Replica del precedente esperimento*

Otto bambini, tra 6 e 12 anni, affetti da autismo ad alto funzionamento o da sindrome di Asperger verranno sottoposti all'esperimento sopra descritto (Gruppo Autismo) [11].

Otto bambini, tra 6 e 12 anni affetti da disturbo specifico del linguaggio (DSL) con prevalente disturbo della espressione verbale (F80.0; F80.1) verranno sottoposti all'esperimento (Gruppo DSL).

Otto bambini di controllo, con età tra 6 e 12 anni, verranno sottoposti allo stesso esperimento (Gruppo di Controllo).

I bambini del Gruppo Autismo verranno sottoposti a Risonanza Magnetica (RM) morfologica 3D e diffusiva, che permette uno studio dell'integrità microstrutturale della sostanza bianca secondo metodiche già utilizzate presso il nostro laboratorio [12, 13]. Per ogni bambino con autismo verrà definito il livello di gravità e correlato con i risultati

elettromiografici e morfologici.

Effetti della riabilitazione sui sistemi motori dei soggetti affetti da autismo.

Primo Gruppo Autismo. Otto bambini, con età tra 3 e 7 anni, affetti da autismo ad alto funzionamento o sindrome di Asperger verranno sottoposti all'esperimento descritto sopra (valutazione 1: baseline).

Gli stessi soggetti saranno sottoposti a una terapia psicomotoria bisettimanale per 6 mesi e quindi sottoposti alle stesse procedure sperimentali (valutazione 2).

Lo stesso gruppo di bambini verrà quindi sottoposto a trattamento psicoeducativo TEACCH per 6 mesi e quindi verranno effettuate le medesime procedure sperimentali descritte (valutazione 3).

Secondo Gruppo Autismo. Otto bambini, con età tra 3 e 7 anni, affetti da autismo ad alto funzionamento o sindrome di Asperger verranno sottoposti all'esperimento descritto sopra (valutazione 1: baseline).

Gli stessi soggetti saranno sottoposti a un trattamento psicoeducativo TEACCH per 6 mesi e quindi sottoposti alle stesse procedure sperimentali (valutazione 2).

Lo stesso gruppo di bambini verrà quindi sottoposto a una terapia psicomotoria bisettimanale per 6 mesi e quindi verranno effettuate le medesime procedure sperimentali descritte (valutazione 3).

Gruppo di bambini con DSL. Un gruppo di 16 bambini con DSL (F80.0; F80.1), con età tra 3 e 7 anni, verrà sottoposto a tre valutazioni sperimentali secondo le procedure descritte: 1) baseline; 2) dopo sei mesi di riabilitazione logopedica; 3) dopo 12 mesi di riabilitazione.

Gruppo di controllo. Sarà formato da 16 bambini tra 3 e 7 anni.

## RUOLO DELLA SIMULAZIONE MENTALE DURANTE L'ELABORAZIONE LINGUISTICA

**DOTT.SSA BARBARA TOMASINO**

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

San Vito al Tagliamento

### Collaborazioni

SOC di Neurochirurgia, Azienda Ospedaliero Universitaria S.Maria della Misericordia di Udine

## DESCRIZIONE

L'elaborazione di frasi, parole di azione o verbi che descrivono un movimento attiva, infatti, oltre alle "classiche" aree linguistiche, anche le aree motorie (e.g., Hauk et al., 2004; Tettamanti et al., 2005; Buccino et al., 2005; Oliveri et al., 2004; Tomasino et al., 2007). In particolare, il ruolo della corteccia motoria primaria (M1) in compiti linguistici che comprendono parole o verbi che descrivono movimento rimane controverso. Resta da chiarire, infatti, la causa dell'attivazione di M1 e come tale area contribuisca all'elaborazione di frasi, parole di azione o verbi che descrivono un movimento. Gli autori citati sopra propongono un nuovo ruolo linguistico per M1 suggerendo che elabori il significato delle parole. L'ipotesi del presente progetto di ricerca propone invece, che leggendo o elaborando frasi, parole di azione o verbi che descrivono un movimento, i soggetti, sebbene non siano esplicitamente istruiti a immaginare mentalmente il contenuto della frase o della parola, automaticamente immaginino sé stessi o qualcun altro eseguire il movimento descritto dalla frase (e.g., leggo "correre" e immagino me stesso correre, simulando il movimento corrispondente). Tale simulazione mentale di un movimento sarebbe la causa della riportata attivazione in M1 durante la let-

tura di frasi o parole "motorie". In uno studio fMRI precedente (Tomasino et al., 2007) ho studiato l'influenza di compiti secondari (detezione di lettere e immaginazione motoria) sull'attività neurale della corteccia motoria primaria durante l'elaborazione di frasi mostrando che la corteccia motoria si attivava in maniera differenziale solo durante il compito immaginativo e solo per le frasi motorie (vs. le non-motorie). Inoltre, la stimolazione mediante TMS (stimolazione magnetica transcranica) di M1 ha effetto su un compito di immaginazione ma non su un compito linguistico (Tomasino et al., accettato per *Neuropsychologia*). Si sa che la simulazione mentale di un movimento attiva M1 in modo selettivo (Ehrsson et al., 2004) e che ad esempio la simulazione di movimenti rotatori della mano o di afferramento e rotazione di oggetti attiva l'area della mano (e.g., Tomasino et al., 2005), che a seguito di una lesione tale meccanismo è danneggiato (e.g., Tomasino et al., 2004) e che la stimolazione dell'area della mano mediante griglia di elettrodi posta su M1 può disturbare l'esecuzione di tali compiti (e.g., Tomasino et al., 2005).

Una migliore comprensione dei meccanismi neurali sottostanti alla simulazione mentale durante l'elaborazione linguistica è fondamentale per la comprensione del ruolo che la teoria "embodied cognition" può giocare durante la comprensione linguistica, teoria che propone che possiamo capire le azioni dei nostri conspecifici attraverso il meccanismo dei neuroni a specchio. In questo contesto il progetto ambisce a comprendere il potere della simulazione mentale visiva e motoria: le persone potrebbero elaborare le parole descrittive movimento mappando e associando la rappresentazione del movimento descritto dalla parola con la propria rappresentazione motoria (contenuta in M1) attraverso appunto la simulazione mentale motoria.

### Obiettivi dello Studio

Il progetto determinerà, mediante studi di i) pazienti neurochirurgici (adulti e bambini) e ii) bambini con diagnosi clinica di disturbo dello sviluppo del linguaggio (DLD) o il disturbo dello sviluppo della coordinazione (DCD) il ruolo di M1 e di separare l'elaborazione semantica dall'immaginazione motoria. Inoltre iii) la Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) su adulti sani può portare a dare contributi significativi alla comprensione del ruolo delle aree motorie. Gli esperimenti pianificati sono disegnati in modo tale da fornire delle misure in grado di evidenziare differenze funzionali tra l'esecuzione di simulazione mentale e l'esecuzione di

compiti secondari non-motori durante o successivamente alla lettura e comprensione di parole che descrivono movimento. Intendono inoltre studiare il ruolo di entrambe le corteccie motorie dell'emisfero destro e sinistro per verificare se esiste una sorta di lateralizzazione emisferica sinistra durante la simulazione mentale, e infine testare la presenza di una possibile somatotopia: ovvero investigare se leggere verbi che descrivono movimenti della mano o del piede e immaginare i movimenti attiva settori diversi della corteccia motoria. I risultati degli studi pianificati potranno fornire indicazioni utili per la comprensione e l'intervento riabilitativo dei disturbi dello sviluppo e dei disturbi linguistici in pazienti cerebrolesi.

### Attività previste

– Parte studio pazienti neurochirurgici: saranno reclutati 40 pazienti neurochirurgici volontari e maggiorenni in grado di dare un consenso informato alla partecipazione allo studio. A tutti i partecipanti saranno somministrate diverse sessioni sperimentali volte a valutare i diversi livelli dell'elaborazione di frasi e verbi. Saranno esclusi dalla partecipazione allo studio, senza che ciò comporti alcuna penalizzazione, gli individui con patologie psichiatriche e con lesioni o formazioni cerebrali in aree non interessate dal presente progetto. Ciascun partecipante potrà decidere di interrompere lo studio in qualsiasi momento e senza alcuna penalizzazione. Per confrontare le prestazioni ai compiti dei pazienti con quelle di un gruppo di soggetti sani è necessario includere 1 o più gruppi di controllo a seconda delle necessità dello studio.

– Parte studio bambini neurochirurgici o con diagnosi clinica di DLD o DCD: saranno reclutati 40 bambini con patologie neurochirurgiche o diagnosi clinica di disturbo dello sviluppo del linguaggio (DLD) o di disturbo dello sviluppo della coordinazione (DCD). In questo caso il Foglio Informativo e Consenso Informato saranno consegnati ai genitori e la firma dovrà essere di entrambi (madre e padre). A tutti i partecipanti saranno somministrate diverse sessioni sperimentali volte a valutare i diversi livelli dell'elaborazione di frasi e verbi. Saranno esclusi dalla partecipazione allo studio, senza che ciò comporti alcuna penalizzazione, gli individui con patologie psichiatriche. Ciascun partecipante potrà decidere di interrompere lo studio in qualsiasi momento e senza alcuna penalizzazione. Per confrontare le prestazioni ai compiti dei bimbi con diagnosi clinica di DLD o DCD con quelle di un gruppo di bimbi sani è necessario includere 1 o più gruppi di controllo a seconda delle necessità dello studio.

- Parte studio con l'utilizzo di stimolazione magnetica transcranica (TMS) su adulti: saranno reclutati 40 soggetti sani volontari e maggiorenni in grado di dare un consenso informato alla partecipazione allo studio. A tutti i partecipanti saranno somministrate diverse sessioni sperimentali volte a valutare i diversi livelli dell'elaborazione di frasi e verbi. Saranno esclusi dalla partecipazione allo studio, senza che ciò comporti alcuna penalizzazione, gli individui con patologie neurologiche e psichiatriche o che si trovino in una delle condizioni di esclusione dagli studi di TMS. 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.

- Per la parte di raccolta dati su soggetti sani (gruppo di controllo): per interpretare la prestazione dei pazienti ai compiti sperimentali abbiamo bisogno di confrontarla con la prestazione di un gruppo di soggetti sani di età e scolarità pari a quelle dei pazienti. Secondo le necessità dello studio o dei compiti somministrati saranno reclutati 40 adulti e 40 minorenni soggetti sani volontari in grado di dare un consenso informato (per i minorenni il Foglio Informativo e Consenso Informato saranno consegnati ai genitori e la firma dovrà essere di entrambi (madre e padre) alla partecipazione allo studio. A tutti i partecipanti saranno somministrate diverse sessioni sperimentali volte a valutare i diversi livelli dell'elaborazione di frasi e verbi. Saranno esclusi dalla partecipazione allo studio, senza che ciò comporti alcuna penalizzazione, gli individui con patologie neurologiche e psichiatriche. Ciascun partecipante potrà decidere di interrompere lo studio in qualsiasi momento e senza alcuna penalizzazione.

### Protocollo

Lo studio sarà effettuato presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria "S. Maria della Misericordia" di Udine, Neurochirurgia per quanto riguarda la parte di studio sui pazienti neurochirurgici (adulti e bambini) e presso l'UDGEE (Unità per le Disabilità Gravi in Età Evolutiva) per quanto riguarda la parte di studio sui bambini con diagnosi clinica di DLD o DCD. Inoltre, per la parte di studio che richiederà l'utilizzo della Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) la raccolta di dati verrà effettuata all'IMFR- Istituto di Medicina Fisica e Riabilitazione "Gervasutta", all'interno della collaborazione con il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biomediche dell'Università di Udine.

Prima di cominciare l'esperimento a ciascun partecipante sarà consegnato un foglio informativo sugli scopi del protocollo della ricerca in corso e gli sarà dato tutto il tempo necessario per leggerlo e per chiedere eventuali chiarimenti. Verrà inoltre consegnato un modulo di consenso informato e l'autorizzazione al trattamento dei dati personali che ciascun partecipante dovrà compilare ed eventualmente firmare per acconsentire a partecipare alla ricerca. Nel caso di soggetti minorenni il Foglio Informativo e Consenso Informato saranno consegnati ai genitori e la firma dovrà essere di entrambi (madre e padre).

– Per la parte di studio con pazienti neurochirurgici e bimbi con diagnosi clinica di DLD o DCD: durante l'esperimento ai partecipanti verranno presentati stimoli che in diversi esperimenti potranno essere, frasi o singoli verbi, presentati visivamente o uditivamente. Gli stimoli visivi saranno presentati sullo schermo di computer, mentre gli stimoli uditivi saranno presentati attraverso cuffie. Ai partecipanti verrà richiesto di rispondere agli stimoli presentati per dimostrarne l'avvenuta elaborazione e riconoscimento mediante pressione di pulsanti. Saranno analizzate l'accuratezza e la velocità di risposta come parametri comportamentali da correlare con la sede lesionale.

– Parte studio con l'utilizzo di stimolazione magnetica transcranica (TMS) su adulti: durante l'esperimento ai partecipanti verranno presentati stimoli che in diversi esperimenti potranno essere, frasi o singoli verbi, presentati visivamente o uditivamente. Contemporaneamente verrà eseguita la stimolazione magnetica transcranica (a singoli impulsi) sulla corteccia motoria primaria (M1). La stimolazione e il compito avranno una durata inferiore a 30 minuti. Prima di cominciare l'esperimento a ciascun partecipante sarà consegnato un foglio informativo sulla TMS 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. Verrà inoltre consegnato un modulo di consenso informato che conterrà una serie di domande relative alle condizioni di esclusione dalla TMS e l'autorizzazione al trattamento dei dati personali che ciascun partecipante dovrà compilare ed eventualmente firmare per acconsentire a partecipare alla ricerca. Tutte le procedure per l'effettuazione di TMS seguiranno le linee guida internazionali di sicurezza (Wassermann et al., 1998).

L'utilizzo della TMS sarà parte essenziale del progetto per confermare studiando soggetti sani i risultati ottenuti con in pazienti neurochirurgici. La

TMS è una delle tecniche migliori per studiare il ruolo e le funzioni della corteccia motoria, offrendo una lunga tradizione di paradigmi e applicazioni che sono state utilizzate per registrare l'attività eccitatoria cortico-spinale e le funzioni motorie. Nel presente progetto, se M1 è una regione critica per la simulazione mentale dei movimenti descritti dai verbi, allora ci aspettiamo di trovare una prestazione alterata (registrando i tempi di risposta) durante i compiti di immaginazione mentale o una facilitazione dei MEP (registrando l'attività muscolare) stimolando M1. Testeremo le ipotesi localizzatorie e le correlazioni funzionali osservate nel primo sub-progetto coinvolgente i pazienti neurochirurgici su un campione più ampio di soggetti sani. Test di elaborazione semantica e di simulazione mentale verranno disegnati appositamente e verranno confrontati durante stimolazione di M1. In una seconda fase pianifichiamo di combinare la stimolazione del lobo parietale sinistro (che gioca un ruolo chiave nella simulazione motoria) e la stimolazione di M1.

Saranno analizzati l'accuratezza e la velocità di risposta, come parametri comportamentali da correlare ai dati neuroradiologici (nel caso dei pazienti) e di registrazione di attività cortico-spinale (MEP) nel caso di TMS. I dati saranno analizzati con programmi appositi (e.g., SPSS\_Statistical Package for Social Science) e saranno condotte analisi statistiche appropriate.

## FUNZIONI PREFONOLOGICHE E ATTENTIVE NELLA DISLESSIA EVOLUTIVA: UNO STUDIO CROSS-LINGUISTICO

**DOTT. 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

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

Laboratoire de Psychologie Cognitive (LPC) CNRS et Université de Provence, Marseille, France  
Centre for Neuroscience in Education Fellow, St John's College, Cambridge, England.

## DESCRIZIONE

Diversi studi hanno dimostrato che sia bambini sia adulti con dislessia evolutiva (DE) evidenziano, in aggiunta ad un disturbo fonologico (e.g., Ramus, 2003), anche un difetto nell'elaborazione visuo-percettiva (e.g., Stein e Walsh, 1997), che coinvolgerebbe principalmente la capacità di escludere il rumore dall'elaborazione del segnale (e.g., Sperling et al., 2005; Hari e Renvall, 2001). Individui con DE manifesterebbero una specifica difficoltà ad elaborare il segnale visivo quando esso è presentato insieme ad un rumore vicino nel tempo (i.e., interferenza temporale; e.g., Di Lollo et al., 1983) e/o nello spazio (i.e., interferenza spaziale; e.g., Sperling et al., 2005).

I risultati di alcuni studi sembrano, inoltre, coerenti nel dimostrare che esiste un legame specifico tra l'attenzione selettiva (AS) visiva spaziale e la funzionalità della via sub-lessicale, tipicamente misurata mediante la lettura di nonparole (e.g., Cestnick e Coltheart, 1999). Inoltre, l'AS visiva spaziale potrebbe giocare un ruolo fondamentale nella segregazione grafemica (SG), processo cruciale per la lettura di nonparole (Perry et al., 2007).

Infatti, durante le prime fasi di acquisizione della lettura, è necessario un'adeguata focalizzazione sui singoli grafemi al fine di decodificarli nei fonemi corrispondenti.

I risultati fino ad ora collezionati su bambini con DE di lingua italiana si sono concentrati sullo studio dell'orientamento dell'attenzione visiva (si veda per i dettagli Facoetti et al., 2006) e la percezione visiva di lettere (e.g., Bosse et al., 2007).

I risultati supportano l'ipotesi di uno specifico difetto dell'AS visiva spaziale nei bambini dislessici con un disturbo della via sub-lessicale, indipendentemente dalle abilità fonologiche, e forniscono evidenze a favore della natura multi-fattoriale di tale disturbo, fornendo utili indizi anche per una più efficace riabilitazione del disturbo specifico della lettura.

### Attività previste

#### Obiettivi della ricerca

Lo scopo del presente progetto di ricerca è quello di approfondire la natura multi-fattoriale della DE indagando fattori pre-fonologici e percettivo-attentivi sia visivi sia uditivi in bambini italiani con diagnosi di DE messi a confronto con due gruppi di normali lettori: uno di pari livello intellettuale e pari età cronologica; l'altro, invece, di pari livello intellettuale e pari abilità di lettura (gruppo in fase di campionamento).

Inoltre, per studiare le possibili basi comuni tra lingue con ortografia diversa da quella italiana, la stessa procedura sperimentale verrà applicata a bambini dislessici francesi ed inglesi, mediante la diretta collaborazione del Professor Johannes Ziegler (Laboratoire de Psychologie Cognitive, CNRS et Université de Provence, Marseille, France) e della Professoressa Usha Goswami (Centre for Neuroscience in Education, Faculty of Education, University of Cambridge, England).

Lo studio cross-linguistico potrà in questo modo permettere di studiare il selettivo contributo dei diversi fattori pre-fonologici e attentivi come fattori eziologici della DE nelle tre lingue che ben si differenziano per trasparenza ortografica.

### Metodologia

Per approfondire le singole funzioni cognitive che influenzano lo sviluppo dell'abilità di lettura verranno utilizzate:

- le abilità fonologiche e metafonologiche;
- l'orientamento dell'attenzione visiva (si veda per i dettagli Facoetti et al., 2006);
- la percezione visiva di lettere (e.g., Bosse et al.,

- 2007);
- la percezione fonetica in assenza o presenza di interferenza (si veda per i dettagli Ziegler et al., 2005. Dato in fase di campionamento);
  - la percezione di uno stimolo uditivo (si veda per i dettagli Goswami et al., 2002. Dato in fase di campionamento).

## **STANDARDIZZAZIONE ITALIANA DELLA NEPSY: A DEVELOPMENTAL NEUROPSYCHOLOGICAL ASSESSMENT (M. KORKMAN, U. KIRK, S. KEMP, 1998)**

**DOTT. FRANCO FABBRO**

e-mail: FABBRO@SV.LNF.IT

### **Linea di ricerca n.3**

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### **Tipo di ricerca**

Corrente

### **Periodo di svolgimento**

2008

### **Polo scientifico**

San Vito al Tagliamento

## **DESCRIZIONE**

La NEPSY-II è una batteria di valutazione neuropsicologica del bambino sviluppata in lingua inglese ed ampiamente usata a livello internazionale. La Nepsy-II è uno strumento di valutazione neuropsicologica del bambino dai 3 ai 16 anni, che esamina lo sviluppo neuropsicologico in 6 domini cognitivi: 1. Attenzione e Funzioni Esecutive; 2. Linguaggio; 3. Funzioni Sensorimotorie; 4. Elaborazione Visuo-spaziale; 5. Memoria e Apprendimento; 6. Percezione Sociale. Le prove possono essere combinate in modo flessibile per formare una valutazione di base o estesa dei vari domini cognitivi. La possibilità inoltre di fornire sia punteggi quantitativi, che si compongono in un profilo neuropsicologico, sia osservazioni qualitative affina ulteriormente lo strumento nel rilevare deficit cognitivi sottili che possono interferire con l'apprendimento.

Considerate le difficoltà di un uso diretto della versione originale in altri paesi a causa di differenze socio-culturali e linguistiche, sono state fornite versioni standardizzate della NEPSY in altre lingue, tra cui francese, olandese, svedese e finlandese. Il presente progetto si propone di preparare una versione standardizzata in lingua italiana, che possa essere usata dai diversi operatori nel campo della Neuropsicologia Infantile con riferimento ad un campione normativo rappresentativo della popolazione infantile nazionale. Il processo di traduzione

e adattamento della batteria sarà curato dal coordinatore e dal responsabile della progetto sotto la supervisione del primo autore della batteria, Prof. Marit Korkman. Partendo dalla versione inglese, ma facendo all'uopo riferimento alla versione francese, soprattutto negli adattamenti linguistici, sarà preparata una versione provvisoria in italiano sia della batteria che di un manuale di istruzioni. Tale versione provvisoria sarà passata al vaglio di un gruppo selezionato di valutatori esterni e sarà testata sul campo in uno studio pilota che coinvolgerà un gruppo di bambini con normale sviluppo neuropsicologico (N=20). Vista la finalità clinica dello strumento, uno studio pilota di validazione clinica coinvolgerà anche bambini con varie problematiche neuropsicologiche afferenti al Centro di San Vito al Tagliamento. La versione definitiva che emergerà da tale lavoro sarà standardizzata in larga scala su un campione rappresentativo, stratificato per età, sesso, regione geografica di provenienza e livello di istruzione dei genitori. Saranno campionati 700 bambini, 25 bambini e 25 bambine per ogni gruppo di età dai 3 ai 16 anni. La distribuzione del campione nelle tre aree geografiche di riferimento (Nord, Centro, Sud e Isole) e nelle tre categorie di livello di istruzione dei genitori (8, 13 o 16 anni di scolarizzazione) seguirà le statistiche dell'ultimo censimento nazionale. Saranno raccolti i dati presso i centri dell'Associazione La Nostra Famiglia presenti in Friuli Venezia Giulia [S. Vito al Tagliamento (PN) e Pasian di Prato (UD)], dell'Istituto Besta di Milano, dell'Azienda Ospedaliera di Milano, dell'Ospedale di Cagliari, della Neuropsichiatria Infantile de L'Aquila, e del servizio di assistenza psicologica nella scuola del Canton Ticino. Un'intervista strutturata a genitori e insegnanti ed uno screening neuropsicologico permetteranno di escludere problematiche evidenti di sviluppo neurologico e neuropsicologico. Una selezione e formazione adeguata degli esaminatori e un controllo qualità garantiranno una procedura standard di somministrazione nei diversi centri che parteciperanno alla raccolta dati. I dati che risulteranno dall'esame del campione saranno elaborati seguendo il modello di analisi della versione originale, in modo da fornire dati normativi che possano essere facilmente usati in campo clinico. I dati normativi saranno poi raccolti in un manuale in italiano che conterrà anche le istruzioni per una corretta somministrazione, attribuzione dei punteggi ed interpretazione del test. Il manuale conterrà anche una sezione dedicata alla validazione della batteria su una popolazione clinica.

### Attività previste

Continuazione della raccolta dei dati normativi in Friuli Venezia Giulia.

La standardizzazione della batteria NEPSY sarà effettuata su un campione di 700 bambini dai 3 ai 16 anni selezionati su tutto il territorio nazionale. Sarà usato un piano di campionamento random stratificato per assicurare una presenza rappresentativa di tutti i gruppi demografici. Come criteri di stratificazione saranno considerati l'età, il sesso, l'area geografica di provenienza e il livello di istruzione dei genitori. Saranno campionati 50 bambini per ciascuno dei 10 gruppi di età dai 3 ai 16 anni, con mediana del gruppo posta al quinto mese dell'anno solare (i.e., 7 anni e 5 mesi). Per ogni gruppo di età il campione includerà 25 bambine e 25 bambini. La stratificazione per area geografica di provenienza sarà effettuata suddividendo il territorio nazionale in tre aree principali di riferimento: Nord, Centro, Sud e Isole. Per ognuna di queste aree di riferimento saranno individuati dei Centri sulla base della presenza e disponibilità di personale esperto e dell'accesso ad una popolazione più o meno ampia di bambini. Saranno raccolti i dati presso i Centri dell'Associazione La Nostra Famiglia presenti in Friuli Venezia Giulia [S. Vito al Tagliamento (PN) e Pasian di Prato (UD)], dell'Istituto Besta di Milano, dell'Azienda Ospedaliera di Milano, dell'Ospedale di Cagliari, della Neuropsichiatria Infantile de L'Aquila, e del servizio di assistenza psicologica nella scuola del Canton Ticino. Per ogni gruppo di età la proporzione di bambini provenienti dalle tre aree geografiche di riferimento seguirà le stime della popolazione presente in tali aree secondo l'ultimo censimento nazionale. Inoltre, il campione coprirà sia aree metropolitane che di provincia nelle tre aree geografiche di riferimento, tenendo presente la distribuzione della popolazione corrispondente.

La stratificazione per livello di istruzione dei genitori seguirà tre categorie a seconda del livello di istruzione più alto conseguito dai genitori: 8 anni o meno (scuola media inferiore), 13 anni (scuola media superiore), 16 anni o più (formazione universitaria). Per i bambini che vivono con entrambi i genitori sarà usata la media degli anni di istruzione di entrambi. Tutti i bambini selezionati a far parte del campione normativo saranno di madrelingua italiana e con una storia di normale sviluppo neurologico e neuropsicologico. Informazioni circa la storia clinica dei bambini saranno acquisite con una intervista strutturata fatta ai genitori e agli insegnanti o agli animatori/badanti. Sarà inoltre preparato un veloce screening neuropsicologico

che permetterà di escludere problemi di sviluppo neuropsicologico che possano compromettere la prestazione al test.

Per assicurare una somministrazione il più possibile standardizzata della batteria durante la raccolta di dati normativi, saranno selezionati esaminatori esperti nella somministrazione di test individuali a bambini. Sarà preparato e distribuito a tutti gli esaminatori, incluso con i materiali di somministrazione del test, un manuale preliminare in italiano in cui saranno contenute tutte le istruzioni per una corretta somministrazione dei vari test della NEPSY e per un'attribuzione standardizzata dei punteggi. Inoltre sarà programmato un training specifico per gli esaminatori che sarà effettuato su tutto il territorio nazionale dal coordinatore del progetto. Sarà predisposto un controllo qualità al fine di verificare l'adeguatezza della selezione del campione e la correttezza delle modalità di somministrazione della batteria nei vari centri che collaboreranno alla standardizzazione.

#### *Analisi dei dati*

Tutti i materiali compilati e i dati saranno poi raccolti e analizzati in un unico centro che avrà anche la cura dell'elaborazione dei dati normativi. L'attribuzione dei punteggi alle varie prove seguirà le regole indicate nella versione originale. Saranno calcolati i punteggi grezzi per ogni prova dei vari domini della batteria, suddivisi nei vari gruppi demografici. Per alcune prove che richiedono la valutazione sia dell'accuratezza che dei tempi di risposta (i.e., Denominazione rapida, Precisione visuomotoria e Attenzione visiva) sarà calcolato un punteggio totale che permetta di considerare entrambi questi parametri che sono egualmente importanti nel determinare la prestazione in queste prove. Sarà analizzato l'andamento della distribuzione dei punteggi grezzi alle varie prove nel campione normativo. Per le prove con distribuzione normale saranno derivati i punteggi scalari con una trasformazione in scala con media 10 e deviazione standard 3. Tali equivalenti scalari saranno calcolati ed espressi per età del campione normativo con un intervallo di 6 mesi partendo dall'età di 3 anni, 0 mesi, 0 giorni fino a 12 anni, 11 mesi, 30 giorni. Per le prove invece i cui punteggi non seguiranno la distribuzione normale saranno derivati i punti percentili, suddivisi per età ad intervalli di 12 mesi, partendo dall'età di 3 anni, 0 mesi, 0 giorni fino a 12 anni, 11 mesi, 30 giorni. Partendo dai punteggi derivati sarà poi calcolato, per le due fasce di età, dai 3 ai 4 anni e dai 5 ai 12 anni (essendo diversi i test somministrati alle due fasce d'età), un punteggio totale per ogni dominio.

Tale punteggio sarà analizzato in base al gruppo di età del campione normativo e sarà espresso in una scala con media 100 e deviazione standard 15. Saranno inoltre analizzati i punteggi supplementari, espressi come percentuali cumulate del campione normativo, e le osservazioni qualitative alle varie prove, espresse, a seconda delle prove, o come percentuali cumulate o come frequenze di occorrenza nel campione normativo.

#### *Traduzione e adattamento del manuale*

I risultati dell'elaborazione dei dati normativi saranno presentati in un adattamento alla versione italiana del manuale del test. Esso sarà curato in collaborazione con la Prof.ssa Marit Korkman e conterrà oltre ai dati normativi, anche i presupposti teorici e clinici e le istruzioni dettagliate per una corretta somministrazione, attribuzione di punteggi ed interpretazione del test. Il manuale conterrà anche una sezione dedicata alla validazione della batteria su una popolazione clinica, sia facendo riferimento alle esperienze cliniche fatte con la versione originale, sia riportando i dati dello studio di validazione della versione in italiano su alcune popolazioni cliniche afferenti ai Centri dell'Associazione La Nostra Famiglia.

## CRITERI DI VALUTAZIONE LINGUISTICO-CLINICA DEL DISTURBO PRAGMATICO DEL LINGUAGGIO: DEFINIZIONE ED APPLICAZIONE DI UN PROTOCOLLO RIABILITATIVO SPECIFICO PER LA PRAGMATICA VERBALE

**DOTT. ALESSANDRO TAVANO**

e-mail: ALESSANDRO.TAVANO@LIBERO.IT

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

San Vito al Tagliamento

### Collaborazioni

IRCCS "E. Medea" Polo di Bosisio Parini  
Università di Verona  
Università di Barcellona (Spagna)

## DESCRIZIONE

### Introduzione

La valutazione linguistico-clinica dei disturbi pragmatici coinvolge sia il dominio delle abilità inferenziali che il dominio delle abilità interazionali. I due domini possono essere disturbati in maniera diversa nelle patologie dello sviluppo (Rapin 1996a,b). Nei bambini con Disturbo Pragmatico del Linguaggio sono state clinicamente documentate difficoltà nella comprensione del discorso conversazionale, difficoltà a mantenere l'argomento della discussione, eccessiva verbosità con scelta di parole inusuali, difficoltà nell'inferire un significato implicito o figurativo, e infine una marcata difficoltà nel controllare il tono della voce (Rapin 1996b). Si tratta quindi di un profilo di difficoltà misto rispetto ai domini interazionale e inferenziale, e molto diverso dalle descrizioni tipiche dei Disturbi Specifici del Linguaggio (Bishop 1997). I bambini con Di-

sturbo Pragmatico del Linguaggio sembrano infatti assomigliare per alcuni aspetti ai bambini con patologia dello spettro autistico o con sindrome di Asperger, in particolare per quanto riguarda le difficoltà nello stabilire una comunicazione efficace che consideri il punto di vista dell'interlocutore (Bishop 1989). Bishop propone di considerare il bambini con Disturbo Pragmatico del Linguaggio all'interno di un continuum patologico rispetto ai bambini con Disturbo Specifico del Linguaggio e ai bambini con Sindrome di Asperger/Disturbi dello spettro autistico.

I bambini con Sindrome di Asperger e Disturbi dello spettro autistico manifestano una marcata difficoltà a stabilire relazioni interpersonali che si nota principalmente nell'interazione faccia a faccia. Nonostante una preservata capacità di percepire la complessità degli stimoli linguistici rispetto ad altri stimoli uditivi, i bambini con autismo sembrano incapaci di prestare attenzione all'eloquio del partner conversazionale (Ceponiené, Lepistö, Shestakova, Vanhala, Alku, Näätänen, Yaguchi 2003). I fattori che possono rendere conto di questa specifica difficoltà sono molti. In particolare, i disturbi della comunicazione sociale potrebbero essere dovuti a difficoltà nell'orientamento a stimoli socialmente rilevanti (Stella, Mundy, Tuchman 1999). Fra i molti tipi di stimoli sociali quelli prosodici presentano un interesse particolare, perché permettono di veicolare significati interpersonali (emozioni e intenzioni) attraverso segnali sopra-segmentali, anche indipendentemente dai mezzi linguistici. La rilevanza dell'indagine delle abilità vocali dei bambini con autismo è sostenuta da recenti ricerche che sottolineano come anche nei bambini con autismo ad uno stadio comunicativo preverbale si possano identificare indici di difficoltà espressive a carico del sistema vocale (Sheinkopf, Mundy, Oller, Steffens 2000). Inoltre, adulti con Autismo ad alto funzionamento e con sindrome di Asperger mostrano marcate difficoltà nell'attribuire connotati emotivi o mentalistici a frammenti di dialoghi veicolati uditivamente (Rutherford, Baron-Cohen, Wheelwright 2002).

Nei bambini con sindrome di Down sembra che le abilità interazionali siano invece più preservate di quelle inferenziali (Rondal, Perera, 2006). In uno studio recente da noi condotto le abilità prosodiche, come indice delle abilità interazionali, sono state misurate in un gruppo di 13 bambini e ragazzi con sindrome di Down e sono risultate simili a quelle di un gruppo di controllo di pari profilo intellettivo (Tavano, Francescutto, Fabbro, Rondal 2007). Al contrario, le abilità inferenziali, quali quelle coin-

volte nella comprensione del linguaggio figurato, sono compromesse, anche rispetto a soggetti di pari livello cognitivo. A questo proposito manca però ancora il confronto con gli adulti per verificare quali processi pragmatici siano ben formati oppure in evoluzione nei bambini con sviluppo tipico e nei bambini con sviluppo atipico.

I bambini con Sindrome di Williams presentano un quadro marcatamente prosociale ma la loro comunicazione verbale, benché più funzionale rispetto a quella dei bambini Down, risulta semplificata e cantilenante. In questa prospettiva è importante confrontare i parametri pragmatici della produzione e della comprensione verbale nei bambini con Sindrome di Down e Sindrome di Williams rispetto alle variabili pragmatiche della prosodia e della comprensione inferenziale.

Un ulteriore passo avanti nell'indagine eziologica sul Disturbo Pragmatico del Linguaggio potrebbe derivare dal confronto tra il profilo dei bambini con Sindrome di Williams e i bambini con lesione cerebellare, data la recente ipotesi che le difficoltà pragmatiche nella produzione verbale dei bambini con Sindrome di Williams siano dovute a incoordinazione (de-sincronizzazione) tra il piano melodico e il piano sintattico (Marchione, Tavano, Annaz, Thomas, Devescovi, Karmiloff-Smith 2007). Inoltre, sulla base di alcuni risultati della ricerca corrente 2007, i disturbi del linguaggio in bambini con lesioni cerebellari sembrano associati ai disturbi della relazione (Tavano et al. 2007, Tavano, Fabbro, Borgatti 2007): tale relazione richiede un approfondimento funzionale di tipo neurolinguistico, neuropsicologico, e potenzialmente anche elettrofisiologico, dato il successo delle metodiche dei potenziali evocati cognitivi nel rilevare lo specifico contributo del cervelletto al processamento implicito dell'informazione, anche di tipo uditivo-prosodico (Chandrasekan, Gandour, Krishnan).

#### *Razionale*

Il protocollo di valutazione PAPB (Protocollo di valutazione delle Abilità Pragmatiche nei Bambini, Tavano, De Fabritiis, Francescutto, Maran, Yoanette, Côté 2005/2006, rivisto per i bambini dai 3 ai 6 anni nel corso della ricerca corrente 2007) permette di disegnare un profilo delle abilità pragmatico-inferenziali e delle abilità interazionali che tiene conto anche delle limitate risposte verbali spontanee da parte dei bambini. Inoltre, attraverso il confronto con gruppi di controllo di età cronologica o età mentale corrispondente, permette di capire se le difficoltà evidenziate si situano nell'ambito della patologia.

Il PAPB rappresenta uno strumento di valutazione formale di alcuni indici pragmatico-inferenziali e interazionali. Per quanto riguarda le capacità di inferenza di tipo pragmatico, lo strumento misura la comprensione del linguaggio figurato e della comunicazione implicita, mentre le abilità interazionali sono indagate attraverso la comprensione e la produzione di contorni intonativi linguistici ed emotivi, e la codifica di aspetti principali della conversazione, quali la presa di turno conversazionale. Si intende quindi utilizzare il PAPB per integrare i criteri clinico-osservativi o da questionario nella definizione clinica del Disturbo Pragmatico del Linguaggio, strutturando una ricerca di tipo clinico-epidemiologico sperimentale. A tale proposito si completerà la raccolta dati sia normativi che patologici iniziata nel 2007. Inoltre, verranno somministrati brevi compiti sperimentali sia di tipo carta e matita che utilizzando un computer portatile, per ottenere la codifica quantitativa di aspetti particolari della conversazione e della relazione tra prosodia e linguaggio. A tale proposito, sarà attivata una collaborazione con il dott. Marco Cristani, ricercatore del Dipartimento di Informatica dell'Università di Verona, per la formulazione di un software specifico per la codifica quantitativa di aspetti linguistici e prosodici della conversazione.

L'utilità clinica del PAPB permette di individuare specifiche aree di intervento riabilitativo per le singole patologie (Tavano, Francescutto, Fabbro, Rondal 2007). Intendiamo quindi utilizzare i profili al PAPB per creare un programma di riabilitazione mirato e che distingua l'intervento sulle modalità interazionali dall'intervento sulle capacità inferenziali.

Infine, attraverso un periodo di soggiorno del responsabile della ricerca presso il laboratorio di neuroscienze cognitive dell'Università di Barcellona, diretto dal professor Escera, intendiamo utilizzare l'esperienza acquisita con la codifica prosodica nelle diverse popolazioni patologiche e nei bambini con sviluppo nella norma per progettare una serie di esperimenti sulla percezione della prosodia utilizzando la metodica della Mismatch Negativity.

#### **Bibliografia**

Bishop DVM. Autism, Asperger's syndrome and semantic-pragmatic disorder: Where are the boundaries? *British Journal of Disorders of Communication*, 1989; 24: 229-241

Bishop DVM. *Uncommon Understanding*. Hove: The Psychology Press, 1997

Ceponienė R, Lepistö T, Shestakova A, Vanhala R,

Alku P, Näätänen R, Yaguchi K. Speech-sound-selective auditory impairment in children with autism: They can perceive but do not attend. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2003; 100: 5567-5572

Chandrasekaran B, Gandour JT, Krishnan A. Neuroplasticity in the processing of pitch dimensions: A multidimensional scaling analysis of the mismatch negativity. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 2007; 25: 195-210

Hwang B, Hughes C. The Effects of Social Interactive Training on Early Social Communicative Skills of Children with Autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2000; 30: 331-343

Marchione D, Tavano A, Annaz D, Thomas M, Dovescovi A, Karmiloff-Smith A. Analysis of intonation in atypical populations: the case of an Italian boy with Williams Syndrome. *Speech prosody in Atypical Populations, A One-Day Workshop, Reading (UK)*, Monday 2 April 2007.

Rapin I. *Preschool children with inadequate communication: developmental language disorders, autism, low IQ*. London: Mac Keith Press, 1996a

Rapin I. *Developmental Language Disorders: a clinical update*. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 1996b; 37: 643-655

Rondal JA, Perera J. *Down syndrome: Neurobehavioural specificity*. London: Wiley, 2006

Rutherford MD, Baron-Cohen S, Wheelwright S. *Reading the Mind in the Voice: A Study with Normal Adults and Adults with Asperger Syndrome and High Functioning Autism*. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2002; 32: 189-194

Sheinkopf SJ, Mundy P, Oller DK, Steffens M. *Vocal Atypicalities of Preverbal Autistic Children*. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2000; 30: 345-354

Stella J, Mundy P, Tuchman R. *Social and Nonsocial Factors in the Childhood Autism Rating Scale*. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 1999; 29: 307-317

Tavano A, De Fabritiis P, Francescutto A, Maran C, Yoanette Y, Côté H. *Protocollo di valutazione delle abilità pragmatiche nei bambini – PAPB*. IRCCS "E. Medea", Ricerche Correnti. 2005/2006

Tavano A, Francescutto A, Fabbro F, Rondal JA. *Pragmatica verbale e sviluppo cognitivo nella sindrome di Down*. Poster presentato alle II Giornate di Neuropsicologia dell'Età Evolutiva, Bressanone/

Brixen, 18/21 Gennaio 2007

Tavano A, Grasso R, Gagliardi C, Triulzi F, Bresolin N, Fabbro F, Borgatti R. *Disorders of Cognitive and Affective Development in Cerebellar Malformations*. *Brain*, 2007, 130(10): 2646-2660

Tavano A, Fabbro F, Borgatti R. *Language and social cognition in children with cerebellar dysgenesis*. *Folia Phoniatrica et Logopedica*, 2007; 59: 201-9

## Attività previste

### Obiettivi del progetto

- 1) Completare la raccolta di dati normativi per il PAPB 3.01 – 6.11; riformulare il PAPB per bambini dai 7 ai 10 anni.
- 2) Somministrare il protocollo aggiornato a 5 classi di soggetti patologici:
  - a. bambini con Disturbo Pragmatico del Linguaggio;
  - b. bambini con sindrome di Asperger/Autismo ad Alto Funzionamento;
  - c. bambini con sindrome di Down;
  - d. bambini con sindrome di Williams;
  - e. bambini con lesioni cerebellari;
  - f. gruppo di controllo costituito da adulti.
- 3) Istruire un protocollo riabilitativo intensivo pilota (2 mesi) di tipo AB incrociato sulla base dei profili al PAPB per un insieme selezionato di bambini con sindrome di Asperger/Autismo ad Alto Funzionamento e bambini con Disturbo Pragmatico del Linguaggio, in collaborazione con gli educatori TEACCH.
- 4) Raccogliere dati sperimentali sulla conversazione utilizzando programmi sperimentali a computer.
- 5) Valutare gli effetti del training riabilitativo in due sessioni (immediatamente alla fine del ciclo e dopo washout di 2 mesi).
- 6) Adattare il training riabilitativo specifico ad altre sindromi evolutive sulla base dello specifico profilo clinico-pragmatico.
- 7) Acquisire conoscenze tecniche sull'utilizzo della Mismatch Negativity tramite un soggiorno presso il gruppo di ricerca del professor Escera, Università di Barcellona.

## Materiali e metodi

### Partecipanti

I partecipanti al progetto saranno divisi in tre gruppi principali:

- 1) bambini con sviluppo normale dai 3 ai 10 (20

bambini per classe d'età, totale 140, di cui 40 già raccolti nel 2007, rimanenti 100).

2) Bambini con Disturbo Pragmatico del Linguaggio (10, di cui 5 già raccolti nel 2007); bambini con sindrome di Asperger/Autismo ad Alto Funzionamento (10, di cui 5 già raccolti nel 2007); bambini con sindrome di Down (10, di cui 7 già raccolti nel 2007); bambini con sindrome di Williams (10, di cui 5 già raccolti nel 2007); bambini con lesioni cerebellari (10). Per i bambini con sindrome di Williams e i bambini con lesione cerebellare si continuerà con la collaborazione attivata nel 2007 con il Dipartimento di Neuroriabilitazione 1, IRCCS "E. Medea", Polo di Bosisio Parini, nella persona del dr. Renato Borgatti.

3) Un gruppo di controllo costituito da 40 adulti (di cui 12 già raccolti nel 2007).

#### *Materiali*

Oltre al PAPB, si opererà attraverso la strutturazione di sedute di gioco conversazionale basate sull'addizione tra la dimensione della distribuzione dei partecipanti nello spazio e la dimensione della modificazione del contorno prosodico per individuare indizi di cambio di turno conversazionale. Tali compiti, in forma ludica, saranno trasformati e resi sufficientemente formali per poterli somministrare sia sotto forma di test carta e matita, sia utilizzando il supporto computazionale. A questo proposito sarà attivata una collaborazione con il dott. Marco Cristani, ricercatore del Dipartimento di Informatica dell'Università di Verona, per la formulazione di un software specifico per la codifica quantitativa di aspetti linguistici e prosodici della conversazione. Per quanto riguarda le abilità inferenziali invece risulta importante distinguere tra le inferenze legate alla quantità di informazione veicolata e le inferenze legate all'appropriatezza dell'informazione rispetto al contesto. In questa prospettiva si identificheranno attività di training cognitivo legate alla selezione delle informazioni contestuali a partire da diversi tipi di contesto situazionale. Tutte le attività riabilitative saranno strutturate a giorni alterni (3 sedute la settimana per 4 settimane) e saranno articolate e valutate secondo i parametri riconosciuti dalla ricerca internazionale (Hwang, Hughes 2000). Particolare attenzione verrà data al training riabilitativo nella seconda fase dell'anno 2008.

#### *Fasi del progetto e tempi di realizzazione*

- 1) Completamento della raccolta di dati di riferimento (gennaio – ottobre 2008);
- 2) somministrazione del nuovo protocollo ai sog-

getti patologici (gennaio – ottobre 2008);

- 3) istruzione di un protocollo riabilitativo intensivo sulla base dei profili al PAPB per un gruppo di bambini con sindrome di Asperger /Autismo ad Alto Funzionamento e un gruppo di bambini con Disturbo Pragmatico del Linguaggio, in collaborazione con gli educatori TEACCH (marzo-maggio 2008);
- 4) somministrazione del protocollo riabilitativo a cura degli educatori TEACCH (giugno – luglio 2008), del settore logopedico e valutazione finale;
- 5) valutazione del training riabilitativo (settembre 2008);
- 6) soggiorno presso il laboratorio del professor Escera, Università di Barcellona (ottobre-novembre 2008);
- 7) adattamento del training riabilitativo specifico ad altre sindromi evolutive sulla base dello specifico profilo clinico-pragmatico (dicembre 2008).

#### **Risultati attesi**

Nella prospettiva di una ricaduta terapeutica efficace delle attività di ricerca, il progetto prevede di ottenere un avanzamento significativo nella definizione clinico-linguistica del disturbo pragmatico del linguaggio, per una migliore valutazione e una più specifica presa in carico. Inoltre, si prevedono risultati significativi a livello riabilitativo attraverso l'introduzione di un protocollo riabilitativo specifico.

## LA POSSIBILITÀ DI IMPLEMENTAZIONE DELLE COMPETENZE COMUNICATIVE NEI BAMBINI CON DISTURBO AUTISTICO CON L'USO DEL PICTURE EXCHANGE COMMUNICATION SYSTEM (PECS)

**DOTT. ANGELO MASSAGLI**

e-mail: ANGELO.MASSAGLI@OS.LNF.IT

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Ostuni

## DESCRIZIONE

È noto come la problematica comunicativa sia uno dei sintomi principali del Disturbo Autistico (DA). I tre sintomi core di questo disturbo sono infatti la compromissione qualitativa dell'interazione sociale, la compromissione qualitativa della comunicazione e le modalità di comportamento, interessi e attività ristretti, ripetitivi e stereotipati (secondo la classificazione del DSM IV TR).

Gli approcci terapeutico-riabilitativi al DA sono molteplici. Con questa ricerca si è voluto focalizzare l'attenzione su un aspetto dell'intervento riabilitativo: quello sulla disabilità di comunicazione. Il lavoro riabilitativo sulla disabilità di comunicazione del DA non rientra in genere nei canoni di una logoterapia classica. Già da tempo quindi tra le varie tipologie di intervento si è pensato di usare sistemi di comunicazione alternativi/aumentativi nell'intento di aggirare il blocco comunicativo verbale di questi bambini. Tra questi sistemi il PECS (Picture Exchange Communication System/Sistema di comunicazione con scambio di immagini) è quello più strutturato e consente di agire contemporaneamente anche sull'aggancio relazionale.

Il PECS è un programma di intervento comportamentale sviluppato in Nord America da Bondy e Frost

(1994) basato sull'impiego di simboli visuo-grafici e finalizzato a sviluppare o migliorare la comunicazione in bambini con disturbo dello spettro autistico. Il sistema, nella sua forma completa, consiste di 6 fasi e sfrutta uno dei punti di forza dei bambini con tale disturbo, ovvero le loro capacità visuo-spaziali (che, come molte ricerche hanno dimostrato, spesso sono preservate), per cercare di compensare i deficit dell'elaborazione uditivo-verbale (Cohen, D.J. e Volkmar, F. R., 2004).

La maggior parte degli studi pubblicati sul PECS si basano sull'esperienza accumulata dagli autori stessi (Bondy e Frost, 1994; 1998, 2002). Si tratta però di studi che riguardano singoli casi o piccoli gruppi, con risultati non sempre chiari, sicuramente non definitivi.

L'obiettivo generale di questa ricerca, iniziata nel 2006, è quello di determinare la reale efficacia del PECS nella riabilitazione del DA e, in caso di risposta positiva, introdurre l'utilizzo nei protocolli terapeutici in uso per questa patologia, implementando questi con ausili ad alta e bassa tecnologia.

### Attività previste

Al fine di raggiungere i suddetti obiettivi, le attività previste sono le seguenti:

- effettuare una rivalutazione psicologica e psicolinguistica dei soggetti attraverso la risomministrazione degli stessi strumenti standardizzati utilizzati all'avvio della sperimentazione, per verificare la presenza di eventuali cambiamenti significativi;
- proseguire la raccolta dei dati mediante videoregistrazione, compilazione di griglie di osservazione e l'uso dell'Observer.
- avviare le fasi più avanzate del PECS per i soggetti che hanno acquisito le abilità necessarie;
- reclutare nuovi bambini con Disturbo Autistico, afferenti al Polo di Ostuni dell'IRCCS "E. Medea" e al Centro di Riabilitazione a questo annesso, ed ottenere il consenso informato per la partecipazione alla ricerca da parte dei genitori;
- avviare il trattamento PECS per i nuovi soggetti;
- valutare i nuovi soggetti del campione con gli stessi strumenti utilizzati per la valutazione dei soggetti della ricerca corrente 2006 (valutazione psicolinguistica, neuropsicologica e psicologica);
- predisporre e realizzare quaderni di comunicazione PECS per i nuovi soggetti e addestrarli all'utilizzo degli stessi;
- effettuare rivalutazione statistica;
- predisporre incontri periodici con insegnanti e proporre loro un training sul sistema PECS.

## DISLESSIA EVOLUTIVA: RUOLO DEL SISTEMA MAGNOCELLULARE-DORSALE, ATTENTIVO-PARIETALE E DEL CERVELLETTO

**DOTT. PAOLO CECCHINI**

e-mail: PAOLO@PPLNF.IT

### Linea di ricerca n.3

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

San Vito al Tagliamento

### Collaborazioni

Servizio di Neurofisiologia – IRCCS “E. Medea” polo Friuli Venezia-Giulia

## DESCRIZIONE

### Razionale del progetto

Sebbene la dislessia evolutiva (DE) sia frequentemente associata a un deficit linguistico-fonologico, l'eziologia sottostante a tale complesso disturbo neuroevolutivo rimane a tutt'oggi sconosciuta. Le tecniche di neuroimmagine funzionale hanno, a loro volta, rivelato una serie di aree cerebrali anormalmente attivate nella dislessia. In particolare, i dislessici sembrano mostrare una ipoattivazione non solo delle aree posteriori (area di Wernicke, giro angolare e corteccia striata), direttamente interpretabile come indice di disconnessione del sistema fonologico, ma anche di altre aree non direttamente o specificamente implicate in tale meccanismo. E' stata individuata, ad esempio, una ridotta attivazione del sistema magnocellulare (Eden 1996; Stein & Walsh, 1997), che presiede all'elaborazione della posizione spaziale e del movimento degli stimoli sia visivi che uditivi (Boden & Giaschi 2007, Stein 2001, Renvall & Hari 2002). La via M visiva proietta principalmente al sistema Dorsale che termina nella Corteccia Parietale Posteriore (Hari & Renvall, 2001). La Corteccia Parietale Posteriore presiede all'orientamento dell'attenzione visiva che risulta indispensabile per “isolare” visivamente

i singoli grafemi che devono poi essere convertiti nei corrispondenti fonemi. La via M, attraverso la mediazione del sistema Dorsale e Attentivo-parietale potrebbe essere alla base dei complessi deficit neurocognitivi che ostacolerebbero il normale sviluppo della lettura (si vedano le rassegne di Stein & Walsh, 1997; Vidyasagar, 1999; Hari & Renvall, 2001; Facoetti e coll., 2006; Doden & Giaschi, 2007). Il cervelletto, come stazione intermedia della via M-Dorso-Parietale, potrebbe essere altrettanto coinvolto nell'eziopatogenesi della DE (Nicolson & Fawcett, 2001), modulando ed integrando l'elaborazione sensorio-motoria.

Per contro, altri studi di neuroimmagine funzionale hanno evidenziato una ridotta attivazione, in adulti dislessici, delle strutture cerebellari (Nicolson 1999, 2000). L'evidenza clinica di coinvolgimento cerebellare é stata inoltre suggerita anche da ulteriori studi neuropsicologici (Vicari 2003). Le funzioni cerebellari sono, allo stato attuale, esplorabili solo indirettamente mediante tecniche funzionali neurofisiologiche; recentemente, alcuni studi hanno evidenziato la possibilità di rilevare modeste anomalie della discriminazione tattile funzionalmente correlate a disfunzione cerebellare (Restuccia 2001, 2007). In particolare, la registrazione della mismatch negativity somestesica (Restuccia 2007) ha evidenziato chiare anomalie in pazienti con lesione anatomica del cervelletto.

Allo scopo di chiarire la complessa eziopatogenesi della DE, il presente progetto di ricerca mira ad indagare nella stessa popolazione di bambini con DE le funzioni cognitive legate a tale sistema M-Dorso-Parieto-Cerebellare, mediante l'uso di 4 specifici paradigmi sperimentali in grado di misurare la funzionalità di tale sistema neurobiologico. Nello specifico:

- il sistema M verrà valutato mediante specifica perimetria che sfrutta la percezione dell'illusione di duplicazione spaziale di stimoli visivi a bassa frequenza spaziale ed alta frequenza temporale (Anderson e coll. 2005, Brusini e coll. 2006; Cecchini e coll., 2007 inviato per la pubblicazione);
- la funzionalità del sistema Dorsale verrà invece valutata attraverso la percezione del movimento coerente, presieduta dalle aree V5-MT (Boets e coll. 2006; Cornillisen e coll., 1998);
- il sistema Attentivo-Parietale verrà indagato mediante il paradigma sperimentale di orientamento implicito dell'attenzione visiva (Posner, 1980; Facoetti e coll., 2007);
- infine, la funzionalità cerebellare verrà misurata attraverso la registrazione della “MMN” prodotta da una stimolazione tattile (Restuccia e coll., 2007).

Le prestazioni dei bambini con DE (dagli 8 ai 12 anni) saranno confrontate con due gruppi di controllo: uno pareggiato per età cronologica e QI, mentre l'altro pareggiato per abilità di lettura e QI. Quest'ultimo gruppo di controllo risulta cruciale per determinare la direzione di causa ed effetto delle diverse funzioni neurocognitive indagate e la DE (Goswami, 2003). Infine, verranno indagate anche le abilità linguistiche fonologiche per cercare di capire la possibile relazione con i diversi processi neurocognitivi di base indagati nel presente studio.

### Attività previste

La ricerca prevede le seguenti fasi:

- fase di reclutamento: si provvederà a identificare i pazienti invitandoli a partecipare alla ricerca;
- fase di raccolta dati: si testeranno i pazienti;
- fase di analisi dei dati: si codificheranno i dati ottenuti e si analizzeranno dal punto di vista statistico;
- fase finale: si stenderà la relazione finale e ci si dedicherà alla preparazione di manoscritti da sottoporre a pubblicazione su una rivista indicizzata.

### Materiali e Metodi

#### Campione

I soggetti appartenenti al gruppo sperimentale saranno bambini con diagnosi di dislessia afferenti al Centro de La Nostra Famiglia di Pesian di Prato (UD) e San Vito al Tagliamento (PN). Mentre i bambini normolettori saranno reclutati dal servizio di oculistica pediatrica del Centro de La Nostra Famiglia di Pesian di Prato (Ud).

I criteri di inclusione dei soggetti dei dislessici sono:

- livello di funzionamento intellettivo superiore a 85;
- visus naturale o corretto > 1.0;
- assenza di diagnosi di deficit attentivo con o senza iperattività;
- assenza di diagnosi attuale di Disturbo Specifico del Linguaggio.

I criteri di inclusione dei soggetti del campione normolettori sono:

- livello di funzionamento intellettivo nella norma;
- visus naturale o corretto  $\geq 1.0$ ;
- assenza di patologie oculari attuali o pregresse (interventi per strabismo che possono inficiare il valore dei potenziali visivi e dello studio della motilità oculare).

### Procedura sperimentale

L'intero campione verrà sottoposto ad una valutazione dell'attenzione sostenuta e spaziale attraverso il test di orientamento implicito dell'attenzione visiva (Posner, 1980).

Il compito consiste nel rilevare il più velocemente possibile (tempi di reazione semplici, TR) un segnale bersaglio preceduto da un segnale indizio. Il segnale indizio può essere valido (indizio nella stessa posizione del bersaglio) oppure invalido (indizio nella posizione opposta rispetto al bersaglio). La differenza nei TR tra prove invalide vs. valide misura l'effetto di orientamento dell'attenzione spaziale.

Per elicitare la risposta M, si utilizzerà la Frequency Doubling Perimetry, uno strumento che sfrutta un fenomeno descritto negli anni 60, definito "frequency doubling". Quando un pattern a bassa frequenza spaziale viene presentato in modalità flicker ad elevata frequenza temporale, esso viene percepito come se avesse raddoppiato la frequenza spaziale. Il pattern consiste in barre verticali che rapidamente si alternano tra nero e bianco, presentate nei 30° centrali. Il soggetto deve rispondere quando vede le barre (Andreson, 2003, Becker, 2003).

Per studiare la via P si utilizzerà il perimetro High-Pass Resolution Perimetry.

Lo strumento utilizza degli stimoli a forma di anello, con un centro più chiaro ed i contorni più scuri. La luminanza dello sfondo è intermedia. I target sono proiettati in 50 posizioni all'interno dei 30° centrali. Vi sono 14 diverse dimensioni dello stimolo. In ogni posizione la più piccola dimensione del target che venga percepita determina la soglia in quel punto (Frisen, 1987).

La particolarità dello strumento è quella di filtrare le basse frequenze spaziali (filtro taglia basso) dello stimolo. In questo modo si riduce il divario tra percezione e risoluzione: se il target non può essere risolto, non potrà nemmeno essere percepito. Eliminare dallo stimolo le basse frequenze spaziali, permetterebbe una selettiva analisi della via parvocellulare. Sarebbe elicitata la via visiva del "che cosa" piuttosto che la via del "dove sia" il target.

Per valutare la funzionalità della via dorsale verrà somministrato un test di percezione del movimento coerente che prevede che il bambino, posto davanti al monitor di un computer, veda dei puntini in movimento e il suo compito consiste nell'indicare la direzione verso cui si muovono tali stimoli.

La funzionalità cerebellare verrà misurata attraverso la registrazione della MMN somestesica. Tale registrazione, prevede che, dopo posizionamento non invasivo di 8 elettrodi di superficie sullo scalpo

(in sede frontale, centrale e parietale), vengono erogate coppie di stimoli elettrici a soglia sensitiva, inferiore pertanto a 2 mAmpere, non dolorosa e tale da non causare shift dell'attenzione (20% stimolo deviante al pollice destro, 80% stimolo frequente al mignolo destro), mentre l'attenzione del bambino viene distratta da videogiochi adatti all'età, identico per tutti i pazienti.

Inoltre i soggetti verranno sottoposti ad una valutazione neuropsicologica che include tre subtest della scala wisc-r (somiglianze, disegno con cubi e vocabolario), prove di correttezza, rapidità e comprensione di lettura, lettura di parole e non parole e test di consapevolezza fonologica (sintesi fonemica e ripetizione di non parole).

### Obiettivi della ricerca

- A) Valutare il campo visivo e la capacità neuronale dei soggetti con dislessia evolutiva attraverso l'utilizzo della Frequency Doubling Perimetry.
- B) Valutare la funzionalità del sistema dorsale e attentivo parietale attraverso un paradigma sperimentale di percezione del movimento coerente e un paradigma di orientamento implicito dell'attenzione.
- C) Valutare la funzionalità cerebellare attraverso la registrazione della "MMN" elicitata da una stimolazione tattile.

## SINDROMI EPILETTICHE CRIPTOGENICHE ASSOCIATE O MENO A COMPROMISSIONE NEUROLOGICA: ASPETTI NEUROFISIOLOGICI E DI GENETICA MOLECOLARE

**DOTT. CLAUDIO ZUCCA**

e-mail: CLAUDIO.ZUCCA@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.4

Neurofisiopatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

UO Neuroriabilitazione 1 – IRCCS "E. Medea" Bosisio Parini

Laboratorio di Genetica molecolare – IRCCS "E. Medea" Bosisio Parini

Servizi di Neurofisiopatologia dei Poli IRCCS "E. Medea" di Conegliano, S. Vito al Tagliamento ed Ostuni

## DESCRIZIONE

La Ricerca Corrente 2006-2007 del Servizio di Neurofisiopatologia è stata dedicata allo studio delle caratteristiche neurofisiopatologiche delle cerebropatie epilettogene e non epilettogene associate a canalopatie.

Nella nostra casistica (62% circa di pazienti con età inferiore ai 18 anni, 42% con associata insufficienza mentale) l'eziologia del quadro rimane a tutt'oggi sconosciuta nel 40% dei casi.

È confermato quindi che in una percentuale variabile a seconda delle casistiche, comunque compresa tra il 30 ed il 50% dei pazienti, l'eziologia della sindrome epilettica rimane imprecisata (sindromi epilettiche criptogeniche o presumibilmente sintomatiche secondo l'ultima proposta di classificazione). In particolare la causa di quadri di epilessia (E) associati a ritardo mentale viene collocata in epoca prenatale in oltre il 50% dei casi.

Recenti lavori hanno sottolineato come in E criptogeniche sia di età infantile che adulta associa-

te a quadri neuroradiologici normali o aspecifici, possono essere individuate mutazioni di geni che codificano per subunità dei canali ionici di membrana.

È stato sottolineato come alcuni di questi pazienti, privi di dati significativi di familiarità e senza riscontri di valore eziologico, sulla base di un mero rapporto temporale non necessariamente causale erano stati considerati erroneamente sintomatici di encefalopatie peri-natali o post-vacciniche.

Tutti questi dati confermano che le cerebropatie criptogeniche con associate manifestazioni parossistiche (epiletiche e non), sono associate a dati neuroradiologici poco significativi mentre quelli neurofisiologici possono rivelarsi utili non solo per individuare le strutture e le vie nervose coinvolte dalla malattia ma anche per orientare le indagini di laboratorio, genetico-molecolari più idonee.

#### *Obiettivi*

Valutare all'interno dell'ampia casistica di E afferenti al nostro Istituto i pazienti affetti da E ad eziologia non definita. Sulla base dei dati clinici e strumentali verranno selezionati i casi da sottoporre ad analisi molecolare per l'individuazione di mutazioni in geni associati a forme di epilessia criptogeniche. Nei pazienti in cui saranno dimostrate mutazioni di questo tipo i dati clinici e genetici verranno integrati con quelli ottenuti dalla neurofisiologia clinica.

#### **Attività previste**

##### *Pazienti e metodi:*

Il reclutamento e lo studio dei pazienti prevede una collaborazione con la UO NR1 (Responsabile: Dr. R. Borgatti) ed il Laboratorio di Genetica molecolare (Responsabile: Dr.ssa M.T. Bassi) del Polo di Bosisio Parini dell'Istituto. Anche i Servizi di Neurofisiopatologia dei Poli di Conegliano, S. Vito al Tagliamento ed Ostuni dell'IRCCS parteciperanno al reclutamento della casistica.

I soggetti affetti da E ad eziologia non nota verranno selezionati sulla scorta dei dati clinici, EEG-poligrafici, neurofisiopatologici e neuroradiologici. Qualora vengano individuati dati clinici e strumentali effettivamente compatibili con forme associate a mutazioni geniche i soggetti reclutati verranno sottoposti ad analisi molecolare per l'individuazione della possibile alterazione. Le eventuali mutazioni riscontrate verranno poi ricercate all'interno dei familiari sia sintomatici che asintomatici.

In tutti i pazienti che risulteranno portatori di mutazioni il dato neurofisiopatologico verrà ulteriormente approfondito tramite registrazioni EEG-poligrafiche utilizzando sistemi computerizzati di acquisizione

e rielaborazione del segnale e potenziali evocati multimodali.

#### **Risultati attesi**

Queste indagini permetteranno di integrare i dati neurofisiologici ottenuti con quelli genetici e clinici e cercare di ottenere quindi una più chiara correlazione tra genotipo e fenotipo all'interno di queste forme di E in modo da cercare di caratterizzare quadri clinici associati a mutazioni note o di nuovo riscontro.

1) Individuazione di cause genetiche di sindromi epilettiche associate o meno a compromissioni neuro-psichiche attualmente considerate criptogeniche.

2) Individuazione di nuove mutazioni geniche responsabili di sindromi epilettiche.

3) Precisazione delle caratteristiche non solo cliniche ma anche neurofisiopatologiche che possono essere indicative di questo tipo di eziologie dell'epilessia.

4) L'analisi delle caratteristiche neurofisiopatologiche di questi pazienti permetterà una più precisa correlazione tra genotipo e fenotipo.

È previsto un reclutamento di pazienti sia già seguiti presso il nostro Centro sia di nuova diagnosi che verranno sottoposti alla completa revisione della documentazione clinica e ai routinari accertamenti finalizzati alla precisazione diagnostica epilettologica.

Nei casi di E Criptogenica (in cui la precisazione eziologica della forma di E rimarrà negativa) si approfondiranno gli aspetti neurofisiologici e clinici per valutare se sottoporre i pazienti ad analisi di mutazione per geni noti associati a sindromi epilettiche in particolare per quelli codificanti subunità dei canali ionici di membrana.

## STUDIO CLINICO-ELETTROENCEFALOGRAFICO ED EVOLUZIONE PROGNOSTICA DELLE EPILESSIE SINTOMATICHE CON CRISI A TIPO SPASMI CON ESORDIO NELLA PRIMA INFANZIA

**DOTT. ANTONIO TRABACCA**

e-mail: ANTONIO.TRABACCA@OS.LNF.IT

### Linea di ricerca n.4

Neurofisiopatologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Ostuni

## DESCRIZIONE

Gli spasmi infantili sono una forma di epilessia ad esordio nella prima infanzia (generalmente entro i primi 2 anni di vita) con incidenza pari a 1/3225 nati vivi (Frost and Hrachovy 2005).

È caratterizzata da una sintomatologia critica e da un pattern EEG critico ed intercritico ben definito, con associata alterazione dello sviluppo psicomotorio. Le crisi sono del tipo motorio e sono caratterizzate da improvvise, simultanee e simmetriche contrazioni di gruppi muscolari del capo, del tronco e degli arti della durata di circa 1 secondo con conseguenti movimenti in flessione e/o in estensione. Possono manifestarsi anche in modo asimmetrico. Nel 70-80% dei casi si presentano in cluster ed usualmente si associano ad altri fenomeni critici di difficile individuazione (subtle spasms) come fenomeni di staring, risveglio improvviso, deviazione oculare, pause respiratorie, fenomeni autonomici. L'EEG intercritico è nella maggior parte dei casi caratterizzato da un quadro di ipsaritmia, sebbene possa anche essere assente, che si interrompe durante l'evento critico. Si riconoscono forme di spasmi infantili criptogenetici (circa il 20%), idiopatici e sintomatici. In quest'ultimo ambito, che rappresenta la maggioranza dei casi, una grande varietà di condizioni morbose interessanti l'encefalo sono state identificate come fattori etiologici e/o predisponenti l'insorgenza di spasmi infantili: traumi, infezioni, neoplasie, eventi ipossico/

ischemici ed emorragici, quadri malformativi (ad es. lissencefalia, sclerosi tuberosa), patologie del metabolismo (ad es deficit della piridossina, deficit del metabolismo del triptofano e delle catecolamine, aminoacidopatie). In una recente review di oltre 400 lavori concernenti l'etiologia degli spasmi epilettici, sono state identificate 200 diverse condizioni morbose associate (Frost and Hrachovy 2003). Allo stato dell'arte, nessuna delle molte condizioni morbose predisponenti è stata associata in maniera univoca e invariabile al manifestarsi degli spasmi, né fattori neuropatologici specifici sono stati associati alla tipologia di risposta al trattamento farmacologico e alla storia naturale di questa forma di epilessia (ad es. remissione spontanea o evoluzione in altra forma di epilessia). La variabilità e non specificità delle condizioni morbose predisponenti si contrappone alla sostanziale specificità e stabilità delle caratteristiche cliniche ed elettroencefalografiche dell'epilessia a tipo spasmi infantili e all'età d'esordio, (per lo più tra i 4 e i 12 mesi di vita con un picco intorno al 6° mese). Gli studiosi ritengono pertanto che ci sia un non specifico meccanismo neuropatologico all'origine degli spasmi infantili, comune a tutte le condizioni morbose predisponenti (Mischel and Vinters 1997). Numerose ipotesi in merito sono state avanzate nell'ultimo decennio. Tra queste ricordiamo l'ipotesi di un'anomala interazione cortico-sottocorticale: secondo alcuni Autori infatti (Dulac 1994; Chugani 2002; Avanzini 2002) aree corticali -diffuse o focali- disfunzionali indurrebbero, in uno stato maturativo critico dell'encefalo, un'anomala attivazione delle regioni del tronco encefalo attraverso le connessioni cortico-sottocorticali; altri Autori (Frost and Hrachovy 2003) ritengono invece più probabile un'origine sottocorticale con secondario coinvolgimento corticale adducendo come prove a favore l'assenza in molti casi di lesioni corticali e la simmetria delle manifestazioni critiche.

Più recentemente Frost and Hrachovy (2005) hanno ipotizzato che multipli fattori patogenetici (ad es. alterazione della neurogenesi, della sinaptogenesi, della mielinizzazione e del sistema neurotrasmettitoriale), associati alle più svariate condizioni morbose encefaliche (anatomico-strutturali o biochimiche), siano direttamente coinvolti nella patogenesi degli spasmi infantili.

### Attività previste

#### Scopo dello studio

Il nostro studio è di tipo clinico-epidemiologico-osservazionale e si propone di studiare una popolazione di pazienti con epilessia a tipo spasmi infantili.

tili ad etiologia sintomatica.

In particolare ci soffermeremo a studiare le caratteristiche cliniche-elettroencefalografiche, le diverse condizioni morbose interessanti l'encefalo associate, la risposta alla terapia farmacologica e l'evoluzione clinica ad un follow-up di 3 anni allo scopo di individuare una eventuale correlazione tra i dati etiologici, clinici ed EEG all'esordio e il tipo di risposta alla terapia e l'evoluzione clinica di questa forma di epilessia (persistenza di crisi a tipo spasmi o evoluzione in altri tipi di crisi).

#### *Materiali e metodi*

Il campione sarà costituito da pazienti affetti da epilessia a tipo spasmi infantili ad etiologia sintomatica giunti in osservazione nella sede di Ostuni dell'Associazione La Nostra Famiglia IRCCS "E. Medea".

Per ogni paziente, in base alle indicazioni del West Delphy Group (2004), verranno raccolte e valutate le seguenti variabili: caratteristiche socio-demografiche; dati relativi alla storia pre-perinatale; classificazione delle condizioni morbose interessanti l'encefalo associate; età d'esordio dell'epilessia (esordio precoce, classico, tardivo); caratteristiche cliniche degli spasmi (spasmi simmetrici, asimmetrici, subtle spasms); classificazione del tipo di crisi presenti al follow-up a 3 anni secondo i criteri ILAE (1989); caratteristiche elettroencefalografiche ictali e non ictali ricavate con EEG di superficie (tracciati in veglia, tracciati in sonno N-REM e quando possibile video-EEG) all'esordio, dopo avvio del trattamento specifico e a distanza (follow-up a 3 anni); dati relativi allo sviluppo psicomotorio precedente e successivo all'esordio degli spasmi epilettici, dopo avvio del trattamento specifico e a distanza (follow-up a 3 anni); dati relativi alla terapia farmacologica (intervallo di tempo tra esordio degli spasmi ed introduzione della terapia antiepilettica, tipo di trattamento farmacologico utilizzato all'esordio e a distanza); risposta alla terapia (risposta clinica all'esordio e a distanza).

Tali dati verranno successivamente sottoposti ad analisi di correlazione statistica con lo scopo di individuare eventuali fattori clinici-etologici-EEG predittivi dell'evoluzione di tale forma di epilessia.

## VALUTAZIONE DI FUNZIONI COGNITIVE SPECIFICHE IN SOGGETTI IN ETÀ EVOLUTIVA CON EPILESSIA: CORRELAZIONI CON IL TRATTAMENTO FARMACOLOGICO

**DOTT. PAOLO BONANNI**

e-mail: PAOLO.BONANNI@CN.LNF.IT

#### **Linea di ricerca n.4**

Neurofisiopatologia

#### **Tipo di ricerca**

Corrente

#### **Periodo di svolgimento**

2008

#### **Polo scientifico**

Conegliano

#### **Collaborazioni**

Unità di Neurofisiologia IRCCS "E. Medea" Polo di Bosisio Parini  
IRCCS Stella Maris di Pisa

## DESCRIZIONE

Una valutazione neuropsicologica estesa, che comprenda l'assessment dell'intelligenza, delle abilità linguistiche, mnestiche, percettive, attentive e dell'apprendimento scolastico, appare quasi sempre indicata in età evolutiva. Questa ha lo scopo di stabilire un livello base di funzionamento verso il quale confrontare un eventuale cambiamento legato a fattori inerenti il paziente (età cronologica, fase di sviluppo, livello di plasticità del sistema nervoso centrale al momento dell'insorgenza dell'epilessia) e l'epilessia (patologia sottostante, tipo, gravità e frequenza delle crisi, terapia, anomalie elettroencefalografiche intercriche).

Scopo dello studio neuropsicologico del bambino con epilessia è quindi quello di identificare il profilo del funzionamento cognitivo attraverso un'analisi delle aree di maggiore capacità e di debolezza al fine d'intervenire tempestivamente per ridurre le eventuali disabilità. La valutazione cognitiva/neuropsicologica, inoltre, dovrebbe essere svolta il più precocemente possibile e quindi anche nel bambino in fase pre-scolare, al fine di documentare l'emergenza o meno delle principali funzioni (p.e. linguaggio), tracciandone il percorso al fine di

identificare sviluppi lenti, in ritardo o atipici.

La valutazione del funzionamento cognitivo e adattativo dovrebbe essere rivolta a tutti i pazienti con epilessia in età pediatrica, a prescindere dall'età cronologica e dalla gravità dell'epilessia, attraverso strumenti età-specifici che, tuttavia, non sono sempre disponibili per la popolazione italiana.

#### Obiettivi:

- messa a punto di protocolli neuropsicologici mirati per specifiche sindromi epilettiche;
- successiva sperimentazione di questi protocolli cercando eventuali correlazioni con il trattamento farmacologico;
- studio della influenza delle cosiddette anomalie elettroencefalografiche intercritiche su specifiche funzioni neuropsicologiche, come ad esempio l'attenzione, utilizzando paradigmi psico e neurofisiologici.

#### Attività previste

Nel corso del primo anno di ricerca è stato studiato un campione di 7 pazienti con epilessia mioclonico-astatica (EMA). Sono stati elaborati i risultati preliminari ma lo studio deve proseguire ancora per 1 anno per arrivare ad arruolare almeno 10 pazienti ed avere un follow-up clinico e neurofisiologico sufficiente.

Nel corso del II anno di ricerca studieremo inoltre il profilo neuropsicologico delle epilessie occipitali, sia cioè delle forme sintomatiche che idiopatiche. Su questi pazienti studieremo anche con tecniche di tipo psico e neurofisiologico (tempi di reazione e potenziali evocati) l'influenza delle anomalie EEG intercritiche sulle funzioni neuropsicologiche.

L'indagine prevede un assessment epilettologico completo, una valutazione neuropsicologica e uno screening globale delle problematiche comportamentali. Nello specifico della diagnostica neuropsicologica, si è definita una batteria ad ampio raggio – intelligenza, attenzione, memoria verbale e non verbale, lessico – dotandola di strumenti particolarmente specifici per la stima delle funzioni corticali più posteriori, come ad esempio il Giudizio di orientamento di linee, il Riconoscimento di volti sconosciuti e i subtest Silhouettes e Object recognition della batteria VOSP, cercando di interpretare opportunamente anche il quoziente Spatial visualization della batteria Leiter-R.

## RUOLO DELLA DINAMICA INTRACELLULARE DEI MITOCONDRI NELLA PATOGENESI DELLE NEUROPATIE PERIFERICHE

### PROF. EMILIO CLEMENTI

e-mail: EMILIO.CLEMENTI@BPLNF.IT

#### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

#### Tipo di ricerca

Corrente

#### Periodo di svolgimento

2008

#### Polo scientifico

Bosisio Parini

#### Collaborazioni

Laboratorio di biologia molecolare IRCCS "E. Medea" Bosisio Parini

Unità di neurofisiopatologia IRCCS "E. Medea" Bosisio Parini

Unità per le Gravi Disabilità in Età Evolutiva IRCCS "E. Medea" Polo di Conegliano

Dipartimento di Scienze Precliniche e Dipartimento di Biologia, Università di Milano

Telethon-Venetian Institute of Molecular Medicine

Dipartimento di medicina sperimentale, Università di Milano-Bicocca

The Wolfson Institute for Biomedical Research, University College London

## DESCRIZIONE

Molte delle neuropatie periferiche sono causate da mutazioni in geni che controllano direttamente o indirettamente i processi di fusione e fissione mitocondriale. Tra questi vi sono: la gigaxonina, che bloccando il proteasoma porta ad accumulo di una proteina associata ai microtubuli (MAP 8) che regola il trasporto assonale anche dei mitocondri, le proteine neurofilament light subunit (NFL) e KIF1B, anch'esse coinvolte nel trasporto dei mitocondri, la dinactina, che controlla il reclutamento della proteina di fissione DRP-1 ai mitocondri, GDAP 1 (ganglioside-induced differentiation associated protein 1) che regola la fissione mitocondriale, la mitofusina 2, che regola dinamicamente la fusione mitocondriale in rapporto con

FIS-1, OPA e DRP-1.

Nostri studi preliminari hanno dimostrato che il nitrossido (NO) è coinvolto a livello del muscolo scheletrico nella regolazione sia acuta che cronica dei processi di fissione e fusione mitocondriale, soprattutto attraverso una interazione con DRP-1. L'NO ha anche funzioni importanti nella omeostasi muscolare ed una alterazione delle sue vie di segnale può contribuire al danno neuronale secondario a patologia muscolare.

Lo scopo della ricerca è duplice: chiarire i meccanismi molecolari attraverso cui NO regola l'azione di DRP-1 e delle altre proteine coinvolte nelle neuropatie; verificare se mutazioni patogenetiche in queste specifiche proteine modificano l'azione di NO a livello mitocondriale e se questo evento può contribuire allo sviluppo di una neuropatia periferica con particolare rilievo agli aspetti di danno secondario ad una alterata fisiopatologia muscolare.

mitocondriale durante il differenziamento dei mioblasti. Verranno poi identificati i meccanismi tramite i quali l'NO regola i suoi bersagli, misurando in questi ultimi variazioni nell'attività enzimatica, localizzazione cellulare e/o l'interazione con proteine del citoscheletro e dei mitocondri, tramite classiche procedure biochimiche e immunoistochimiche.

### Attività previste

1. Ruolo di NO e della fusione/fissione dei mitocondri nel differenziamento muscolare. Studieremo il processo di differenziamento di cellule muscolari attraverso l'analisi di parametri morfologici e biochimici (Pisconti et al., 2006) in presenza/assenza dei donatori di NO DETA-NO e dell'inibitore della sua sintesi L-NAME. Saranno analizzati i livelli di espressione delle proteine implicate nel rimodellamento mitocondriale e la morfologia degli organelli durante il differenziamento, sia con tecniche di microscopia elettronica, che tramite PEG assay e videomicroscopia (Cipolat et al., 2004). Questi esperimenti permetteranno di stabilire l'effettiva inter-relazione tra eventi di dinamica mitocondriale, NO e differenziamento muscolare.

2. Funzione mitocondriale e ruolo di NO. Saranno studiati i parametri biofisici e biochimici della funzionalità mitocondriale a diversi stadi del differenziamento dei mioblasti. Si analizzeranno l'attività della catena respiratoria mitocondriale, la generazione di ROS e lo stato redox dei mitocondri, utilizzando DETA-NO e L-NAME. Tali esperimenti saranno condotti secondo i protocolli descritti (Clementi et al., 1998; Palacios-Callender et al., 2004).

3. Bersagli molecolari dell'azione dell'NO nella fusione/fissione mitocondriale. Le proteine coinvolte nel rimodellamento mitocondriale agiscono attraverso attività enzimatica specifica e in seguito a traslocazioni citosol/mitocondri (Chen et al., 2000). Con gli esperimenti descritti in precedenza (punto 1) si potrà stabilire quali sono le molecole responsabili degli effetti dell'NO sulla dinamica

## MECCANISMI MOLECOLARI DI NEURODEGENERAZIONE IN FORME DI SLA AD ESORDIO GIOVANILE (ALS2-ALS4), APOPTOSI, CITOSSICITA' E IPERSENSIBILITA' AL DANNO OSSIDATIVO: STUDIO DEL RUOLO DELLE PROTEINE SENATAXINA E ALSINA

**DOTT.SSA MARIA TERESA BASSI**

e-mail: MARIATERESA.BASSI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

Unità operative di riabilitazione funzionale e neuro-riabilitazione IRCCS "E. Medea" Bosisio Parini  
Università di Milano-Ospedale  
Università di Urbino

## DESCRIZIONE

Alsina e senataxina sono due proteine coinvolte in due forme di SLA ad insorgenza molto precoce (ALS2) o in età giovanile o giovane-adulta (ALS4). In entrambi i casi si tratta di forme a progressione molto lenta che solitamente non alterano la durata media della vita del soggetto affetto. L'alsina prodotto del gene ALS2, è altresì responsabile di forme complicate di paraparesi spastica ascendente con esordio molto precoce (IAHSP) e sclerosi laterale primaria ad esordio infantile (JPLS), entro i primi 10-18 mesi di vita. La senataxina prodotto del gene SETX oltre ad essere responsabile della forma dominante giovanile di SLA ALS4, è anche coinvolta in altre forme recessive di neurodegenerazione quali atassia e aprassia oculomotoria di tipo 2 (AOA2) e di atassia e neuropatia spesso associate a livelli elevati di alfa-feto proteina. Il lavoro svolto nell'ambito della Ricerca Corrente del 2007 appena conclusa ha portato all'identifica-

zione di diverse mutazioni in entrambi questi geni. Al fine di comprendere meglio il ruolo di entrambe queste proteine e una possibile loro correlazione funzionale essendo entrambe coinvolte in malattie del motoneurone ad esordio precoce, si è iniziato lo studio dell'espressione di queste proteine e del loro pattern di espressione con caratterizzazione della loro localizzazione subcellulare. I dati ottenuti per quanto preliminari indicano per l'alsina una localizzazione a livello di endosomi precoci a indicazione di un suo coinvolgimento nel traffico vescicolare (Panzeri 2006). In un sistema in vitro di cellule C2C12 di origine muscolare si è anche dimostrato in modo preliminare l'effetto inibente di una mutazione in alsina da noi identificata sul differenziamento muscolare. Scopo generale di questo lavoro sarà quindi quello di caratterizzare più approfonditamente questo effetto sul differenziamento muscolare e verificare se tale effetto è associato anche ad altre mutazioni di alsina nello stesso dominio proteico RCC1. Parallelamente verranno anche ricercati e caratterizzati gli interattori di alsina specifici del tessuto muscolare al fine di identificare altri partner funzionali dell'alsina tessuto specifici che svolgono un ruolo sulla degenerazione muscolare osservabile in questi pazienti parimenti alla degenerazione motoneuronale. Nel caso della senataxina, i dati disponibili in letteratura per quanto limitati indicano una localizzazione della proteina prevalentemente nucleare compatibile con la sua funzione di RNA-DNA elicasi ipotizzata in base all'omologia con altre proteine note aventi questa funzione (Chen 2004). Tale localizzazione non cambia nel caso di un nostro mutante associato a una forma di ALS4. Non ci sono a tutt'oggi altre informazioni circa il ruolo della proteina nella fisiologia della cellula. Dati pubblicati recentemente indicano che linee linfoblastoidi di pazienti AOA2 mutati in SETX mostrano una accentuata sensibilità al danno ossidativo sul DNA (Suraweera 2007). I dati sono stati pubblicati da un solo gruppo e non replicati in un secondo studio effettuato su altre linee cellulari di pazienti con atassia e neuropatia senza segni di aprassia oculomotoria (Nahas 2007). Scopo di questa ricerca è quindi quella di caratterizzare sotto questo aspetto le linee cellulari di pazienti con mutazioni in questo gene sia di tipo dominante associate a un quadro clinico di ALS4 sia in forma recessiva associate a un quadro clinico di Atassia e neuropatia. Sotto questo aspetto, verranno inoltre caratterizzate linee di pazienti con AOA2 privi di mutazioni sia in aprataxina sia in senataxina. Infatti dati appena usciti in letteratura indicano l'esistenza di una nuova forma

di atassia e aprassia oculomotoria non associata a nessuno di questi geni e con una sensibilità ad agenti ossidanti di tipo borderline molto simile a quella dei controlli (Gueven 2007). Dato il coinvolgimento di senataxina in forme neurodegenerative, parallelamente a questo si intende studiare il ruolo di senataxina nel differenziamento neuronale in un modello cellulare di P19 utilizzando sia la forma wt sia le mutazioni da noi identificate in ALS4 e Atassia e neuropatia.

### Attività previste

Identificazione di interattori di alsina muscolo specifici.

Al fine di identificare interattori muscolo specifici dell'alsina, si utilizzerà il sistema del two hybrid screening effettuato in lievito con una libreria di cDNA muscolo specifica. Il lavoro verrà svolto presso la ditta francese Hybrigenics. Date le dimensioni notevoli dell'alsina (1958 aa) ed i dati già disponibili in letteratura indicanti l'esistenza di domini di interazione proteina-proteina nei primi 1000 aminoacidi della sequenza, questa porzione di 1000 aminoacidi verrà sottoclonata in un vettore pGBT9 adatto a questo screening. Il costrutto così ottenuto verrà inviato alla ditta che si occuperà dello screening della libreria di cDNA di muscolo adulto con la sequenza wt inviata. La ditta si impegna all'invio dei cloni contenenti le sequenze anche parziali codificanti per gli eventuali interattori di alsina identificati. Tali cloni una volta ottenuti dovranno essere riconfermati tramite immunoprecipitazione e colocalizzazione con alsina. Per verificare inoltre l'eventuale ruolo della mutazione da noi identificata p.G540E in questa interazione, tali esperimenti verranno compiuti sia con il costrutto wt sia con quello mutante.

## STRESS OSSIDATIVO E MICOTOSSINE NELLA SINDROME AUTISTICA

### DOTT.SSA MARIA ELISABETTA RAGGI

e-mail: MARIAELISABETTA.RAGGI@BPLNF.IT

#### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

#### Tipo di ricerca

Corrente

#### Periodo di svolgimento

2008

#### Polo scientifico

Bosisio Parini

#### Collaborazioni

Unità Operativa Neuroriabilitazione 2 IRCCS "E. Medea" Bosisio Parini  
Istituto Superiore di Sanità di Roma

### DESCRIZIONE

Le micotossine, metaboliti secondari prodotti da funghi, sono dei killer silenziosi che colpiscono ovunque. Si possono trovare in tutti gli alimenti e nonostante la loro pericolosità che le pone come rischio reale tra i primi posti nella scala della valutazione (ad esempio prima dei pesticidi) questa non è avvertita dal consumatore. Invece l'attenzione del mondo scientifico nei riguardi di questo problema è notevole. Accanto alle micotossine per le quali sono stati ipotizzati o accertati sospetti di micotossicosi e verso le quali si è concentrata l'attenzione dei ricercatori e degli organismi deputati alla tutela della salute pubblica ve ne sono altre che possiamo considerare emergenti e per le quali può essere accettata l'espressione di "micotossine in cerca di malattia" quali micotossine da *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*. Tutti i paesi sono interessati ai problemi causati dalle micotossine. Infatti vi sono differenze in termini di scala di importanza ma aflatossine, fumonisine, ocratossine, tricoteceni e zearalenoni preoccupano tutti i paesi in particolare quelli emergenti. Ormai è accertato che le micotossine agiscono sull'organismo per ingestione, inalazione o per semplice contatto esplicando una serie di effetti. Noi abbiamo focalizzato la nostra attenzione sul probabile effetto ossidante, neurotossico ed immunologico nella sindrome autistica. Fino

all'inizio degli anni ottanta l'incidenza dell'autismo era pari a 3-5 casi ogni 10.000 nascite, con variazioni dipendenti da criteri diagnostici, autori delle ricerche e posizione geografica. Almeno due terzi dei soggetti con autismo manifestava sin dai primi mesi di vita i sintomi iniziali della sindrome. Meno di un terzo invece cominciava a mostrare regressione nella socialità, nel linguaggio e nel comportamento in un'età compresa tra uno e due anni. Le forme insorgenti come tali erano dunque in leggera prevalenza rispetto a quelle regressive, comunque in un generale andamento epidemiologico costante e non elevato. Nel periodo 1980-85 l'incidenza dell'autismo è raddoppiata. Nel 1985 i casi di cosiddetto autismo regressivo sono risultati di numero uguale a quelli con manifestazioni evidenti sin dai primi mesi di vita dando spazio così all'ipotesi che ci fosse una condizione acquisita al di là degli errori congeniti e delle condizioni puramente genetiche. Dagli anni novanta entrambi i tipi di autismo sono risultati in netto aumento ma questa volta con forte prevalenza percentuale della forma regressiva, divenuta pari a circa il 75% dell'incidenza totale, comunque cresciuta di 10 volte, fino a raggiungere i 30-35 casi su 10.000, con qualche rapporto locale indicante valori addirittura doppi. Ora l'autismo è considerato un disordine multifattoriale con una componente genetica ma parimenti influenzato da fattori ambientali e immunologici e da una aumentata vulnerabilità allo stress ossidativo e con una maggior presenza di intolleranze alimentari. Da dosaggi effettuati nel nostro laboratorio su sieri di bambini autistici e non e donne gravide, è risultato un aumento significativo delle IgG allergologiche per *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme* e *Penicillium brevi-compactum*, funghi produttori di importanti micotossine come la Fumonisina B1, l'Aflatossina e l'Ocratossina. Tutte queste tossine producono stress ossidativo, inoltre la Fumonisina B1, inibendo la ceramide sintasi, sembrerebbe aumentare la permeabilità intestinale favorendo le intolleranze alimentari. Perché alcuni soggetti potrebbero essere suscettibili all'azione delle micotossine ed altri no? Ci sono delle sostanze antiossidanti che svolgono un'azione protettiva?

### Attività previste

Studiare le sostanze antiossidanti che svolgono un'azione protettiva come il glutatione e la malondialdeide e in particolare la melatonina, ormone già indagato in una precedente ricerca e che protegge dallo stress ossidativo indotto da aflatossina ed ocratossina.

Metodica: per glutatione (sangue intero eparin-

zato) e malondialdeide (siero) HPLC con detector fluorimetrico, per melatonina (saliva raccolta alle ore 8,12,18,2) ELISA.

- Sequenziare il gene ASMT che codifica per l'ultimo enzima nella sintesi della melatonina, e si trova in PAR1, cioè nella regione pseudoautosomale dei cromosomi del sesso, e che è risultato mutato in diversi individui affetti da autismo. Si potranno poi analizzare eventuali altri geni candidati che si renderanno disponibili in letteratura durante il corso della ricerca;
- dosare i livelli di ocratossina e aflatossina.

Metodica: HPLC (siero) con detector fluorimetrico.

- Studiare l'alterato metabolismo degli sfingolipidi attraverso il rapporto urinario Sa/So (sfingalina/sfingosina) e l'alterazione della membrana intestinale con il test al lattulosio/mannitolo in quanto la Fumonisina B1 inibisce la ceramide sintasi, enzima coinvolto nel metabolismo degli sfingolipidi e sperimentalmente altera la permeabilità intestinale.

Metodica: per Sa/So (urine spontanee del primo mattino) HPLC con detector fluorimetrico; per il test al lattulosio/mannitolo (urine raccolte nelle successive 5 ore dopo somministrazione dei due zuccheri in soluzione acquosa) CE.

- Sequenziare il gene LASS che codifica per la ceramide sintasi per valutare la presenza di eventuali mutazioni;
- dosare le IgG specifiche allergologiche sia alimentari che fungine.

Metodica: chemiluminescenza.

- Valutare il fenotipo clinico con la somministrazione ai familiari e al personale di questionari finalizzati alla clusterizzazione della fenomenica comportamentale in modo da poter individuare sottotipi clinici per poter correlare eventuali indicatori biochimici con parametri clinici stimati per categorizzazione diagnostica e dimensione comportamentale.

### Casistica

- Bambini autistici senza ritardo mentale di età compresa fra 3 e 5 anni afferenti all'IRCCS "E. Medea" (circa 20) con cariotipo, telomeri, dosaggio aa plasmatici e urinari negativi.
- Gruppo di controllo costituito da bambini autistici con ritardo mentale di età compresa fra 3 e 5 anni afferenti all'IRCCS "E. Medea" (circa 20) con cariotipo, telomeri, dosaggio aa plasmatici e urinari negativi.

*Piano esecutivo*

Dopo la firma del consenso informato si effettueranno i prelievi di sangue, urine e saliva per le analisi secondo protocollo operativo.

Tutti i dosaggi degli antiossidanti, il sequenziamento dei geni, il test per la permeabilità intestinale e il dosaggio Sa/So e le valutazioni cliniche saranno effettuati nell'IRCCS "E. Medea".

Il dosaggio delle micotossine aflatoxina e ocratoxina saranno effettuati presso l'ISS dal Dottor Carlo Brera. Il materiale su cui effettuare i dosaggi gli sarà inviato periodicamente a cura del nostro Istituto.

## SVILUPPO DI UN MODELLO DI EPILESSIA MIOCLONICA GIOVANILE IN DROSOPHILA

**DOTT. ANDREA DAGA**

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Conegliano

### Collaborazioni

University of California Los Angeles

Trinity College Dublino, Irlanda

## DESCRIZIONE

Il progetto si sviluppa con un programma pluriennale ed è nato con il rationale di contribuire a chiarire la fisiopatologia molecolare di una forma di epilessia genetica giovanile (la mioclono epilessia giovanile) causata da mutazione del gene EFHC1. In questo progetto si utilizza la *Drosophila*, il cui genoma contiene due geni orologi a EFHC1, per comprendere la funzione di questa nuova famiglia di proteine analoghe a EFHC1 e per creare un modello di malattia che attualmente non è ancora disponibile in nessun organismo.

### Attività previste

Nel corso di questo anno ci si propone di proseguire il lavoro puntando ai seguenti obiettivi:

1. gli anticorpi precedentemente generati contro i geni CG8959 e CG11048 si sono rivelati inesatti. Quindi le informazioni ottenute sull'espressione endogena dei due geni non è corretta. Per superare questa difficoltà abbiamo generato un nuovo anticorpo contro la proteina CG8959 che sembra funzionare meglio del precedente e stiamo per iniziare la produzione anche di un nuovo anticorpo contro la proteina CG11048. I nuovi anticorpi ci consentiranno di condurre un'analisi del profilo di espressione nel corso dello sviluppo e di determinare la localizzazione a livello cellulare e subcellulare dei due prodotti genici.

2. Analisi del pattern di espressione di geni importanti per la struttura e/o funzione della giunzione neuromuscolare in condizioni di sovra-espressione e knock-out dei geni CG11048 e CG8959. A questo scopo saranno condotti esperimenti di immunostochimica con vari anticorpi disponibili contro proteine sinaptiche note per determinare se condizioni di eccesso o di carenza delle proteine CG8959 e CG11048 producano variazioni nel livello di espressione o localizzazione di proteine sinaptiche importanti. Questo obiettivo rimane anche se abbiamo finalmente ottenuto importanti indicazioni che suggeriscono che il gene CG8959 potrebbe essere coinvolto nella cascata del segnale controllata dal gene Notch.

3. Continuazione degli esperimenti di neurofisiologia nei vari transgenici per il gene CG11048 e per il knockout del gene CG11048 quando questo sarà disponibile, da continuare ad eseguirsi in collaborazione con il Prof. Ramaswami, professore al Trinity College di Dublino, Irlanda.

4. Analisi e caratterizzazione dei fenotipi causati dall'espressione delle proteine CG8959 e CG11048 contenenti una mutazione patologica. La mutazione introdotta è l'unica tra quelle finora identificate nei pazienti, che riguarda un residuo amioacidico conservato in entrambe le proteine di *Drosophila* e in EFHC1 umana. I fenotipi causati dall'espressione delle proteine mutate, in particolare a livello del sistema nervoso, saranno analizzati dal punto di vista comportamentale e dal punto di vista morfologico, strutturale e funzionale della giunzione neuro-muscolare. Questi esperimenti sono cruciali per stabilire un modello animale di epilessia mioclonica giovanile in *Drosophila*. Questo obiettivo rimane invariato rispetto all'anno passato.

5. Creazione di animali knock-out per il gene CG11048 utilizzando le nuove linee transgeniche "donor" generate nel corso dell'anno 2007. La disponibilità di un vero mutante genetico è fondamentale per poter analizzare le conseguenze fenotipiche della completa lack of function del gene CG11048, come è stato già fatto per il gene CG8959.

6. La scoperta che il gene CG8959 è coinvolto nello sviluppo dendritico apre molte nuove strade. È noto per esempio che la proteina Cut è un importante determinante dell'arborizzazione dendritica e i nostri risultati indicano chiaramente che CG8959 e Cut interagiscono geneticamente. Quindi saranno studiate e analizzate in dettaglio queste interazioni allo scopo di definire precisamente il ruolo del gene CG8959 in questo processo.

## VARIAZIONE STRUTTURALE DEL GENOMA UMANO: MECCANISMI MOLECOLARI CHE PREDISPONGONO ALLA FORMAZIONE DEI RIARRANGIAMENTI CROMOSOMICI NELL'UOMO

**DOTT.SSA MARIA CLARA BONAGLIA**

e-mail: CLARA.BONAGLIA@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

Sezione di Bioinformatica e Laboratorio di Biologia Molecolare IRCCS "E. Medea" Bosisio Parini  
Dipartimento di Genetica Medica, Università di Pavia

Laboratorio di Citogenetica, Istituto G.Gaslini, Genova

Dipartimento di Scienze Neurologiche, Università di Milano

### DESCRIZIONE

Si definiscono variazioni genomiche strutturali quelle che coinvolgono segmenti di DNA di taglia superiore ad 1 Kb (Feuk et al, 2006). Sebbene sia noto da tempo che il genoma umano contiene sbilanci la cui grandezza varia da un singolo nucleotide a oltre 3Mb, cioè anomalie visibili all'analisi del cariotipo, solo recentemente è stato possibile rilevare un numero abbondante di variazioni strutturali tra questi due estremi grazie a nuovi metodi molecolari che consentono di analizzare l'intero genoma ad altissima risoluzione. Le variazioni di struttura comprendono un mix eterogeneo di varianti che originano da differenti meccanismi mutazionali; questa eterogeneità necessita di un'ulteriore classificazione. Le varianti strutturali sono tipicamente suddivise in quelle che risultano da un cambiamento del

numero di copie di DNA (delezioni, duplicazioni dirette o invertite) e quelle in cui non vi è perdita o acquisizione di DNA (inversioni e traslocazioni bilanciate).

Intendiamo analizzare riarrangiamenti cromosomici diagnosticati in soggetti afferenti al nostro Istituto o riferiti da altri Centri italiani. Intendiamo definire la taglia del segmento cromosomico riarrangiato e definire l'intervallo dei punti di rottura mediante array-CGH utilizzando una piattaforma ad oligomeri ad alta risoluzione (Agilent, 1000k risoluzione ~5Kb). Questo ci consentirà, insieme ad altre tecniche molecolari quali Fish, MLPA e Real-Time PCR, di classificare le anomalie e individuare il meccanismo molecolare che determina il verificarsi della specifica anomalia, sia essa una delezione, inversione o duplicazione.

“Hotspots” di ricombinazione sono stati associati con alcuni riarrangiamenti sia ricorrenti che sporadici. In particolare la ricombinazione omologa non all'elica, mediata da regioni paraloghe su cromosomi omologhi o non omologhi, genera una varietà di delezioni, duplicazioni e traslocazioni. Le ricombinazioni non omologhe ricorrenti, invece, sembrano essere correlate alla presenza di specifiche sequenze potenzialmente instabili, la cui instabilità è spesso dovuta alla presenza di sequenze ripetute clusterizzate chiamate Low Copy Repeats (LCR).

Analisi precedenti hanno indicato che le rotture del DNA a doppio filamento (DSB, double strand breaks) sono responsabili, nel genoma dei mammiferi, dell'inizio sia di eventi di ricombinazione omologa (non patologici) che di ricombinazione illegittima. In particolare nel genoma umano, i DSB sono riparati attraverso un pathway denominato NHEJ (nonhomologous end joining) ovvero attraverso la giunzione di estremità non omologhe. I dati da noi ottenuti in seguito al sequenziamento dei punti di rottura delle delezioni nel gene della distrofina umano (DMD) e in alcune traslocazioni bilanciate hanno indicato che il NHEJ è il pathway cellulare implicato nella formazione dei riarrangiamenti. Da quanto detto consegue che, con alta probabilità, l'evento iniziale nell'instaurarsi delle rotture cromosomiche sia, in un alto numero di casi, la formazione di DSB.

Nel nostro laboratorio abbiamo messo a punto un sistema sperimentale basato sull'uso di cellule di lievito per lo studio delle sequenze coinvolte nella formazione di rotture a doppio filamento nel genoma di mammifero. Questo approccio sarà impiegato per analizzare la capacità di sequenze presenti a livello dei breakpoint identificati di indurre DSB e, quindi, di definire gli eventi molecolari implica-

ti nella formazione dei riarrangiamenti. Lo stesso sistema sarà ottimizzato per studiare il contributo di specifici elementi di sequenza nel promuovere la formazione di DSBs e quindi la ricombinazione negli hotspot di ricombinazione umani.

Ad oggi non è ancora chiaro ciò che rende una determinata regione genomica un hotspot di ricombinazione, sicuramente esiste un controllo complesso che prevede diversi livelli di regolazione: elementi di sequenza, conformazione della cromatina, modificazioni epigenetiche.

Il sistema che intendiamo utilizzare consentirà di valutare sperimentalmente il contributo che la sequenza nucleotidica in quanto tale può dare alla formazione di DSBs e quindi definire se una determinata regione genomica è competente alla ricombinazione.

### Attività previste

AIM1: caratterizzazione molecolare del riarrangiamento cromosomico in studio mediante array-CGH. Quest'analisi consentirà di stabilire la taglia del segmento genomico riarrangiato, rilevare e/o escludere la presenza di altri sbilanci genomici criptici, definire l'intervallo del punto di rottura. L'analisi mediante FISH consentirà di stabilire la natura di specifici riarrangiamenti cromosomici (es. duplicazioni dirette e/o invertite) e/o di confermare specifici sbilanci genomici.

L'origine parentale dei riarrangiamenti sarà definita mediante l'analisi con marcatori polimorfici.

In seguito, i punti di rottura verranno definiti mediante long-range PCR o generando cloni ibridi uomo-hamster, e sequenziati. Sequenze ripetute potenzialmente instabili coinvolte nei riarrangiamenti verranno studiate per verificarne la capacità di causare rotture cromosomiche meiotiche e in cellule di mammifero.

I geni coinvolti nei riarrangiamenti verranno analizzati mediante RT-PCR e analisi quantitativa di espressione (qRT-PCR). I geni la cui espressione risulterà significativamente diversa nel soggetto affetto rispetto ai campioni di controllo potrebbero essere coinvolti nella patologia.

AIM2: Analisi bioinformatica delle regioni interessate da riarrangiamenti. Attraverso metodi informatici verranno annotati e mappati a livello genomico i breakpoint identificati mediante tecniche citogenetiche/molecolari, in questo modo sarà possibile identificare le regioni soggette a riarrangiamenti. Si provvederà alla loro caratterizzazione in termini di presenza di elementi di sequenza già noti per avere un ruolo causale, provvedendo ad una loro clas-

sificazione in base alla tipologia di riarrangiamento e alla loro frequenza nel nostro dataset. La disponibilità di un buon numero di sequenze interessate da breakpoints consentirà anche l'identificazione di motivi di sequenza significativamente più ricorrenti e, in quanto tali, possibilmente coinvolti nella genesi dei riarrangiamenti stessi.

AIM3: Ottimizzazione di un sistema modello in lievito per lo studio di elementi di sequenza specifici coinvolti nella formazione di rotture a doppio filamento del DNA (Double Strand Break: DSB). Lo sviluppo di tale sistema innovativo, che prevede l'utilizzo di un ceppo di *Saccharomyces cerevisiae* ingegnerizzato, consentirà di stabilire il ruolo di specifici motivi di sequenza nella formazione di DSB negli hotspot di ricombinazione umani; i DSBs, infatti, rappresentano l'evento primario che dà origine alla ricombinazione. Lo stesso sistema verrà utilizzato per verificare la capacità di sequenze presenti a livello di breakpoint di delezione o traslocazione di originare DSB, il vantaggio di tale approccio sarà quello di poter definire l'evento molecolare implicato nella formazione di un determinato riarrangiamento non mediato né da regioni paraloghe né da Low Copy Repeats (LCR).

## NEUROPATIE PERIFERICHE SENSITIVO MOTORIE: FUNZIONALITÀ MITOCONDRIALE IN MODELLI CELLULARI

**PROF. NEREO BRESOLIN**

e-mail: NEREO.BRESOLIN@BP.LNF.IT

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

Centri di riabilitazione dell'Associazione La Nostra Famiglia

Ospedale Maggiore Policlinico, Clinica Neurologica - Università di Milano,

Ospedale Sacco - Università di Milano

## DESCRIZIONE

Le neuropatie periferiche sensitivo-motorie (HMSN o CMT) sono un gruppo di malattie ereditarie a carico del sistema nervoso periferico. Nel complesso le CMT si presentano con una frequenza di circa 30-36 casi ogni 100.000 nascite. La complessità e l'eterogeneità clinica delle neuropatie periferiche (CMT) in particolare quelle di tipo sensitivo e motorio supera ampiamente la semplice suddivisione fatta in base a dati elettrofisiologici (NCV) e istologici in forme demielinizzanti (CMT1, CMT4, Dejerine-Sottas sindrome: DSS) e forme assonali (CMT2) con segregazione sia dominante che recessiva. E' stato stabilito un valore di cutoff circa la velocità di conduzione dei nervi motori (Nerve Conduction Velocity: NCV) di 38 m/s che distingue le forme demielinizzanti da quelle assonali. Anche in questo caso, però, si osservano sempre più dei valori intermedi e quindi di difficile classificazione (forme a NCV intermedio). Tali forme cosiddette intermedie (CMTD) mostrano un pattern di segregazione prevalentemente dominante ma sono note anche forme recessive.

A parte i valori dei parametri elettrofisiologici, sono

in generale caratterizzate da debolezza muscolare distale ed atrofia che coinvolge prevalentemente gli arti inferiori e diminuzione o assenza dei riflessi tendinei profondi. Negli ultimi 20 anni la genetica ha ulteriormente suddiviso i gruppi sia delle CMT1 che delle CMT2 in diversi altri sottotipi in base ai geni mutati in ciascuna di queste forme. L'entità dell'eterogeneità genetica è evidenziata da alcuni dati molto significativi: mentre per le forme demielinizzanti dominanti sono noti almeno 6 geni diversi, PMP22, LITAF o SIMPLE, MPZ, EGR2, NEFLC (escludendo le forme termosensibili) e almeno 9 per le forme recessive, attualmente solo tra le forme assonali sono noti almeno 20 geni diversi codificanti per prodotti proteici differenti sia per funzione sia per localizzazione cellulare (proteine del citoscheletro, proteine dei neurofilamenti, proteine con attività sui processi di fusione e fissione mitocondriali, proteine coinvolte nel traffico e nel trasporto vescicolare e assonale ecc). Ad ulteriore complicazione si è evidenziato che alcuni geni responsabili di forme demielinizzanti possono dare origine, in presenza di particolari mutazioni, a forme assonali; ad esempio MPZ e Cx32, quest'ultimo in particolare in caso di mutazioni in pazienti di sesso femminile (Parman 2007).

Queste osservazioni nel complesso minano quella distinzione clinica apparentemente chiara e senza dubbi di forme assonali e demielinizzanti come entità ben distinte e non sovrapponibili.

L'accurata caratterizzazione da un punto di vista clinico non può quindi prescindere da una altrettanto accurata caratterizzazione genetica, come passaggio obbligato nel tentativo di definizione di una più efficace terapia farmacologica.

Lo scopo di questo progetto è quindi duplice:

- a) la caratterizzazione genetica di una casistica di pazienti con diagnosi clinica accertata di neuropatia periferica demielinizzante oppure sensitivo motoria. La casistica di partenza è costituita da 20 pazienti già disponibili con forme prevalentemente sensitive motorie ad eccezione di tre pazienti con forme demielinizzanti;
- b) studio del ruolo di Drp1 nella fusione-fissione mitocondriale e nelle neuropatie. La fissione mitocondriale è un processo alterato in diverse forme di neuropatie sia demielinizzanti sia assonali. Esempi di geni codificanti per proteine attive in questo processo e mutati in forme di CMT sono MFN2 (CMT2A2) e GDAP1 (CMT4A e CMT2K). L'attività di queste due proteine è strettamente connessa all'attività di altre proteine Drp1 e Mfn1. GDAP1 agisce come regolatore della network mitocondriale inducendo frammentazione dei

mitocondri, mentre Mfn1, Mfn2 e Drp1 hanno effetto rispettivamente sulla fusione e fissione mitocondriale. La funzione di GDAP1 viene persa in presenza di mutazioni associate a CMT ed è bloccata da Mfn1 e 2 e da un mutante negativo di Drp1 chiamato K38A. Queste osservazioni indicano molto sinteticamente i) il ruolo cruciale dei processi di fusione-fissione dei mitocondri per il mantenimento dell'integrità del sistema nervoso periferico la cui funzionalità è appunto alterata nelle CMT, ii) come proteine che hanno effetto opposto sulla dinamica mitocondriale quali GDAP1 e Mfn2 determinino se mutate, forme diverse della stessa patologia, iii) che le funzioni di GDAP1 e Drp1 wt hanno una base comune. È noto inoltre che durante il differenziamento neuronale in cellule P19 c'è un aumento di espressione di GDAP1. E' invece da caratterizzare il pattern di espressione di Drp1 in questo processo.

### Attività previste

1) Verranno effettuati gli screening di mutazioni puntiformi tramite sequenziamento diretto di alcuni geni responsabili di forme di CMT rappresentate nella casistica attualmente disponibile come sotto riportato:

CMT2A2- MFN2 localizzato in 1p36, con segregazione dominante e le cui mutazioni sono associate a una forma di neuropatia assonale con età d'esordio variabile da 1 a 52 anni, e con moderati sintomi in età molto precoce, indebolimento muscolare simmetrico prevalentemente distale agli arti inferiori, deficit sensitivi simmetrici prevalentemente distali e più accentuati agli arti inferiori rispetto ai superiori, riflessi tendinei ridotti o assenti agli arti inferiori, NCV ridotte o vicine alla media (da 35 a 62m/sec), pes cavus nel 100%, atrofia ottica in alcuni casi e sordità nel 59% dei casi.

CMT2D-GARS localizzato in 7p15, con segregazione dominante e le cui mutazioni sono associate a una forma con età d'esordio dai 16 ai 30 anni, sintomi all'esordio prevalentemente agli arti superiori, indebolimento muscolare distale bilaterale prevalente alle mani, deficit sensitivi con un pattern variabile prevalentemente distale sia agli arti superiori che inferiori e NCV nella norma. Non sono note anomalie scheletriche associate.

CMT2E-NEFL localizzato in 8p21, con segregazione dominante e le cui mutazioni sono associate a una forma con età d'esordio compresa tra la prima e la quinta decade, con sintomi all'età d'esordio soprattutto di difficoltà del cammino e debolezza agli arti inferiori; indebolimento muscolare distale prevalente agli arti inferiori rispetto ai superiori e

con atassia sensitiva nel 20% dei casi; NCV normale o lievemente ridotta da 29 a 55 m/sec.; riflessi tendinei assenti, pes cavus (100% dei casi), iperkeratosi in alcuni pazienti.

CMT2F- HSPB1 localizzato in 7q11.2 con segregazione dominante, le cui mutazioni sono associate a una forma con esordio dai 15 ai 25 anni. L'indebolimento muscolare è prevalente agli arti inferiori rispetto ai superiori, è grave ed è simmetrico. NCV dai 42 a 58 m/sec. Deficit sensitivi lievi prevalentemente distali a entrambi gli arti, sono alterate in particolare la sensazione dolorifica e della temperatura; riflessi tendinei ridotti.

CMT2L- HSPB8 localizzato in 12q24-qter con segregazione dominante, le cui mutazioni sono associate a una forma con esordio dai 15 ai 33 anni. Esordisce con indebolimento alle gambe, prevalentemente distale (100%) con interessamento prossimale in alcuni pazienti, e alle mani nel 30% di essi. È sempre simmetrico. Deficit sensitivi distali agli arti inferiori, assenti o ridotti i riflessi tendinei, NCV normali e pes cavus nell'80% dei casi e scoliosi nel 15%.

CMT2K e CMT4A- GDAP1, localizzato in 8q21 con segregazione recessiva. Può dare forme demielinizzanti con esordio precoce (< 2 anni) e associato a segni piramidali; NCV ridotte, in media 30 m/sec. È rapidamente progressiva con interessamento prevalentemente distale sia arti inferiori che superiori. Già in età precoce sono visibili i cosiddetti onion bulbs e si osserva perdita di assoni mielinizzati (soprattutto grandi). Nelle forme assonali sempre recessive al quadro CMT sono associate alterazioni della voce.

CMTDIC- YARS localizzato in 1p34. Questa forma a segregazione dominante è associata a valori di NCV intermedi (da 30 a 50 M/sec). L'esordio è principalmente nella prima e seconda decade ma il range è ampio da 7 a 59 anni. L'indebolimento muscolare e i deficit sensitivi sono lievi prevalentemente distali, simmetrici e con un coinvolgimento prevalentemente degli arti inferiori rispetto ai superiori.

2) Reclutamento di ulteriore casistica presso i Centri de La Nostra Famiglia e l'Ospedale Maggiore Policlinico, in collaborazione con il dott. Conti. In base alla casistica reclutata verranno implementati se necessario ulteriori test genetici.

3) Caratterizzazione del ruolo di Drp1 i) nel differenziamento neuronale in cellule P19 come descritto in Bain et al 1994 e confronto con il pattern di espressione di GDAP1 che è noto aumentare; ii) nella fusione/fissione dei mitocondri nel diffe-

renziamento muscolare. Studieremo il processo di differenziamento di cellule muscolari attraverso l'analisi di parametri morfologici e biochimici (Pisconti et al., 2006). Verranno studiati gli effetti dell'over-espressione di Drp-1 e del suo mutante dominante negativo Drp-1K38A, al fine di stabilire l'effettiva inter-relazione tra eventi di dinamica mitocondriale e differenziamento muscolare. Saranno analizzati i livelli di espressione delle proteine implicate nel rimodellamento mitocondriale e la morfologia degli organelli durante il differenziamento, sia con tecniche di microscopia elettronica, che tramite PEG assay e videomicroscopia (Cipolat et al., 2004). Questa parte del lavoro sarà svolta in collaborazione con il laboratorio del Prof. Clementi all'Univ. di Milano.

## ANGLE: ANGLE NOTIFIER FOR GUESSING LIMB ELEVATION

**SIG. MATTEO CAVALLERI**

e-mail: MATTEO.CAVALLERI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.6

Bioingegneria

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

Unità Operativa Riabilitazione Funzionale IRCCS "E. Medea" - Bosisio Parini

## DESCRIZIONE

La misura dell'angolo formato dalle articolazioni è un importante strumento di valutazione utilizzato a fini diagnostici e terapeutici. Per esempio, nel caso di pazienti post chirurgici con paralisi cerebrale infantile, successivamente ad un'operazione di allungamento del muscolo è importante quantificare la massima estensione del ginocchio all'inizio della fase riabilitativa e monitorarne i miglioramenti. Altro parametro importante da considerare è il tempo durante il quale il paziente riesce a mantenere la massima estensione articolare prefissata dal medico; infatti le strutture visco-elastiche coinvolte necessitano di un esercizio mantenuto nel tempo per recuperare la propria funzionalità.

Sono disponibili molteplici strumenti per misurare accuratamente gli angoli tra le articolazioni in movimento, dai più semplici goniometri manuali a più sofisticati strumenti di Gait Analysis. Tuttavia, i primi sono molto rudimentali e presentano problemi di precisione e di velocità nel compiere le operazioni di misura, mentre i secondi sono particolarmente costosi, utilizzabili esclusivamente da personale qualificato in un laboratorio attrezzato ad hoc.

Nel seguente progetto, sfruttando il know-how acquisito in questi anni sui sensori inerziali, ci proponiamo di realizzare un nuovo dispositivo nel campo della riabilitazione. Esso sarà portatile, di facile uti-

lizzo e di basso costo in modo da essere impiegato facilmente anche al domicilio del paziente.

Nel caso di pazienti adulti, il dispositivo sarà utilizzato autonomamente dallo stesso paziente: nel caso di bambini, essi verranno aiutati dai propri genitori nel compimento dell'esercizio riabilitativo.

Il medico che ha in cura il paziente manterrà comunque una supervisione rispetto agli esercizi che il paziente svolgerà di volta in volta presso la sua abitazione.

Il dispositivo sarà in grado di:

- misurare l'angolo tra le diverse articolazioni utilizzando sensori inerziali. In particolare ci si propone di monitorare i movimenti di flessione-estensione del ginocchio, adduzione-abduzione dell'anca (eseguendo il movimento su un lettino), adduzione-abduzione della spalla (eseguendo il movimento su un lettino o con la schiena appoggiata ad un muro), flessione-estensione del gomito.
- Avvertire il paziente circa il raggiungimento dell'angolo impostato dal fisioterapista e del tempo di mantenimento richiesto.
- Memorizzare l'orario di esecuzione, la dinamica di tutti i movimenti effettuati e la loro durata in una memoria non volatile in modo tale che i dati possano essere successivamente consultati dal medico curante o dal fisioterapista.
- Eventualmente, il sistema potrà essere interfacciato con un sistema di feedback utile per incentivare i bambini a raggiungere l'obiettivo prefissato dall'esercizio.

Inoltre, da un punto di vista neurologico la misura dell'ipertono dinamico è oggetto di studio da diverso tempo. Essa è ottenuta mediante la movimentazione rapida di una articolazione fino al momento in cui si incontra una forte resistenza al movimento.

Ad oggi risulta particolarmente complicato ottenere una informazione precisa sull'angolo a cui si presenta detta resistenza. Ci proponiamo dunque di investigare un possibile utilizzo del dispositivo per questo scopo mediante l'utilizzo di sensori inerziali aggiuntivi.

### Attività previste

#### *Realizzazione di un prototipo funzionante*

Verrà inizialmente identificata la tecnologia ed il tipo di sensore che meglio si presta a rilevare l'angolo tra le articolazioni da esaminare. Attualmente viene posta molta attenzione ai sensori di tipo inerziale per il loro basso costo, per le dimensioni minime ed il peso ridotto. Si procederà alla costruzione di un primo prototipo in grado di rilevare i dati dai sensori in modo da poterli validare rispetto ai dati forniti da altre apparecchiature (es. Gait Analysis).

*Collegamento Wireless ed ingegnerizzazione del prototipo*

Successivamente il prototipo verrà dotato di una interfaccia wireless per non intralciare i movimenti del paziente e semplificarne l'utilizzo. Infine il prototipo verrà ingegnerizzato per garantire una maggiore stabilità e affidabilità durante le sessioni di esame.

*Visualizzazione su di un dispositivo portatile*

I dati trasmessi in modalità wireless saranno ricevuti da un dispositivo di visualizzazione portatile (per es. un computer palmare o un telefono cellulare che permette l'esecuzione di applicazioni). Verrà scelto un dispositivo di visualizzazione portatile in grado di fornire un segnale di feedback (visivo, uditivo o altro ancora) nei confronti dell'utente, che possa fornire le necessarie funzioni di elaborazione, di storage e di comunicazione.

*Software Applicativo*

Sarà realizzata una applicazione software funzionante all'interno del dispositivo scelto. L'applicazione sarà in grado di ricevere i dati via wireless provenienti dai sensori per il rilevamento della posizione angolare.

Ci si attende che l'applicazione debba elaborare i segnali ricevuti con algoritmi specifici, per esempio un filtraggio al fine di eliminare le inevitabili componenti di accelerazione indipendenti dall'accelerazione gravitazionale  $g$  causate dai movimenti del paziente.

Si cercherà di mettere a punto un algoritmo in grado di determinare automaticamente l'angolo tra le due articolazioni ed il tempo di permanenza in tali condizioni.

**Proprietà intellettuale**

Al termine del lavoro ci si propone di registrare un brevetto di invenzione industriale.

## **INDAGINE CONOSCITIVA SUI RISCHI CONNESSI ALL'ESPOSIZIONE A CAMPI MAGNETICI ULTRA ALTI. ANALISI DELLE PROBLEMATICHE CON L'AUSILIO DI SIMULAZIONI**

**ING. GIANLUIGI RENI**

e-mail: GIANLUIGI.RENI@BP.LNF.IT

**Linea di ricerca n.6**

Bioingegneria

**Tipo di ricerca**

Corrente

**Periodo di svolgimento**

2008

**Polo scientifico**

Bosisio Parini

**Collaborazioni**

IRCCS Stella Maris di Pisa

Università di Pisa

Politecnico di Milano

**DESCRIZIONE**

La Risonanza Magnetica per Imaging (MRI), basata sui principi della Risonanza Magnetica Nucleare (NRM), è una tecnica ampiamente utilizzata in campo medico poiché permette di produrre immagini ad alta definizione che possono fornire un quadro anatomico o funzionale degli organi esaminati. Al contrario dei sistemi tomografici (TAC), le apparecchiature MRI hanno il vantaggio di non emettere radiazioni ionizzanti; d'altro canto, per permettere una adeguata risoluzione nelle immagini prodotte, esse sottopongono il paziente a campi magnetici statici di grande intensità, a campi elettromagnetici a radiofrequenza ed a campi magnetici lentamente variabili nel tempo. Per questo motivo i tomografi a risonanza magnetica, pur fornendo benefici diagnostici, possono diventare potenziali sorgenti di rischio. E' possibile rilevare precisi rischi dipendenti dal tipo di sollecitazione, a seconda cioè che il campo magnetico sia statico, variabile nel tempo o a radiofrequenza. Nel caso di un campo magnetico statico, è possibile ad esempio rilevare una alterazione dell'onda T nel tracciato dell'elettrocardiogramma, dovuta all'esercitarsi della forza di Lorentz su cariche elet-

triche in moto (gli ioni trasportati dal flusso sanguigno) sospinte trasversalmente alla direzione di flusso verso le pareti dei vasi. In esperimenti di laboratorio è stata osservata inoltre la presenza di forze indotte di attrazione e torsione, che provocano traslazione di alcune sostanze cellulari quali i bastoncelli della retina ed altre sostanze diamagnetiche e paramagnetiche. Questi movimenti di traslazione e rotazione sono importanti nel caso di impianti metallici [Tenforde1985] nelle vicinanze di vasi sanguigni o tessuti delicati; essi possono anche alterare il funzionamento di pace-maker o neurostimolatori se provocati da campi superiori a 0,5 mTesla. Una ulteriore fonte di rischio è l'effetto missile, cioè la capacità del campo magnetico statico periferico di attrarre oggetti ferromagnetici in direzione delle linee di campo verso il centro del magnete. Per campi magnetici statici minori o uguali a 2 Tesla non esistono evidenze di effetti biologici irreversibili o dannosi, mentre nel caso di volontari sottoposti a campi elevati (3, 4-8 Tesla) sono stati rilevati effetti collaterali per i quali servono approfondimenti. Per quanto riguarda un campo magnetico variabile nel tempo, vista l'evoluzione tecnologica è possibile ottenere tempi di acquisizione sempre più brevi con l'utilizzo di derivate temporali del campo magnetico sempre più alte, con conseguente aumento dell'induzione di correnti elettriche nel corpo del paziente e della stimolazione dei tessuti elettricamente eccitabili. La stimolazione tissutale si manifesta a livello nervoso periferico e a livello cardiaco; la prima non pone a rischio la vita, mentre la seconda provoca pericolose aritmie. È anche possibile che si verifichino i magnetofosfeni, cioè sensazioni visive transitorie descritte come lampi di luce. Infine, i campi a radiofrequenza provocano il riscaldamento dei tessuti [Blank1998] in modo strettamente dipendente dalle dimensioni e dalla configurazione di questi ultimi rispetto alla lunghezza d'onda incidente. Data l'elevata quantità di rischi connessi con l'utilizzo di campi magnetici ultra alti e la parziale chiarificazione dei fenomeni di interazione tra i campi magnetici ed i sistemi biologici ottenuta da studi condotti su animali [Ferreira and Knakievicz 2006, Ferreira and Monatto 2006], si ravvede la necessità di procedere con ulteriori studi in merito. Questo progetto ha come intento, partendo da studi già in atto in merito all'interazione tra i campi magnetici e l'organismo, di approfondire l'analisi dei rischi profilati dall'impiego di apparecchiature ad emissione di campi magnetici ultra alti. Considerate difficoltà e rischi di una sperimentazione su soggetti umani, si reputa di procedere in tal senso

mediante l'uso di modelli e strumenti per la simulazione delle interazioni.

L'attività prevede l'analisi della letteratura per la valutazione delle ricerche effettuate in questo campo ed una modellizzazione fisico-matematica degli effetti conseguenti all'esposizione di soggetti umani a campi magnetici ultra alti. Successivamente, verranno effettuate simulazioni al computer mediante l'utilizzo di opportuni software per avere una quantificazione e previsione dei rischi e delle misure da mettere in atto per minimizzare gli effetti negativi connessi. Questa attività di ricerca sarà collegata al progetto di installazione di un apparecchio di risonanza magnetica a 3 Tesla presso l'IRCCS "E. Medea" e di un apparecchio di risonanza magnetica a 7 Tesla presso l'IRCCS Stella Maris. In questo contesto verrà effettuata una analisi delle normative nazionali ed internazionali in merito alla sicurezza durante l'utilizzo della risonanza magnetica e stilato un regolamento di sicurezza per l'apparecchio di risonanza magnetica a 3 Tesla. Infine verrà svolta una attività informativa sul funzionamento ed i rischi della risonanza magnetica, che riguarderà il personale dell'istituto IRCCS "E. Medea" coinvolto nell'installazione, nella manutenzione e nel futuro utilizzo della risonanza magnetica a 3 Tesla.

### Attività previste

A – Valutazione interazione campi magnetici ultra alti ( $\geq 3$ Tesla) e organismo.

1. Analisi letteratura (medico-fisica).

Tempistica: entro la fine del primo trimestre 2008.

Scopo: conoscere e valutare i rischi correlati con l'utilizzo di campi magnetici ultra alti, in modo da poter modellizzare e prevedere i loro effetti.

Attività nello specifico: ricerca di pubblicazioni e di studi sullo stato dell'arte in merito all'interazione dei campi magnetici ultra alti con l'organismo. Focalizzazione della ricerca sugli effetti nocivi dovuti a campi magnetici statici di grande intensità, a campi elettromagnetici a radiofrequenza ed a campi magnetici lentamente variabili nel tempo. Verifica e studio dei metodi di schermaggio e prevenzione di tali effetti.

2. Sviluppo di modelli fisico-matematici.

Tempistica: secondo e terzo trimestre 2008.

Scopo: modellizzazione degli effetti nocivi dati dai campi magnetici ultra alti sull'organismo per poter prevedere e prevenire i rischi.

Attività nello specifico: ricerca di modelli fisico-matematici (di natura classica e quantistica) già sviluppati, creazione di nuovi e conseguente im-

plementazione per la descrizione degli effetti sull'organismo connessi all'utilizzo della risonanza magnetica.

Altri Enti Coinvolti: IRCCS Stella Maris.

3. Utilizzo di strumenti per la simulazione (simulazioni al calcolatore).

Tempistica: secondo e terzo trimestre 2008.

Scopo: modellizzazione degli effetti nocivi dati dai campi magnetici ultra alti sull'organismo per poter prevedere e prevenire i rischi.

Attività nello specifico: utilizzo di software per la simulazione degli effetti sull'organismo connessi all'utilizzo della risonanza magnetica.

Altri Enti Coinvolti: IRCCS Stella Maris.

**B – Valutazione rischi in vista dell'installazione di un apparecchio di risonanza magnetica a 3 Tesla presso l'IRCCS E. Medea e di un apparecchio di risonanza magnetica a 7 Tesla presso l'IRCCS Stella Maris.**

1. Analisi delle normative nazionali ed internazionali in merito alla sicurezza durante l'utilizzo della risonanza magnetica.

Tempistica: entro la fine del secondo trimestre 2008.

Scopo: conoscenza delle normative vigenti allo scopo di creare gli standard di sicurezza adeguati all'installazione degli apparecchi di risonanza magnetica a 3 Tesla e a 7 Tesla.

Attività nello specifico: analisi delle normative di riferimento in merito alla sicurezza, in particolare il Decreto Ministeriale 2/8/1991 Allegato 1,3,6, la Circolare del Ministero della Sanità - Direzione Generale Ospedali - divisione II – Prot.900.2/4.1 – AG/581 del 28/4/92, il Decreto Ministeriale 3/8/1993, la norma CEI EN 60601-2-33 e la Direttiva 2004/40/CE (29-4-2004).

2. Informativa personale medico e tecnico tramite seminari sul funzionamento ed i rischi della risonanza magnetica.

Tempistica: entro la fine del terzo trimestre 2008.

Scopo: informare sul funzionamento e sui rischi il personale dell'istituto IRCCS "E. Medea" coinvolto nell'installazione, nella manutenzione e nel futuro utilizzo della risonanza magnetica a 3 Tesla.

Attività nello specifico: organizzazione di due seminari per informare il personale dell'istituto IRCCS "E. Medea" sul funzionamento e sui rischi della risonanza magnetica. I seminari saranno divisi e specifici per il personale tecnico (il primo) per quello medico (il secondo); il primo porrà l'attenzione sui fenomeni fisici e tecnici alla base dell'apparecchio, mentre il secondo, più genera-

le dal punto di vista tecnico, porrà l'attenzione ai risvolti applicativi sui pazienti e sui bioeffetti.

3. Stilare il regolamento di sicurezza per l'apparecchio di risonanza magnetica a 3 Tesla di futura installazione presso l'IRCCS "E. Medea"

Tempistica: entro la fine anno 2008.

Scopo: protezione e sorveglianza delle persone esposte a campi magnetici ultra alti dovuti all'apparecchio di risonanza magnetica a 3 Tesla, nel rispetto delle normative vigenti.

Attività nello specifico: verrà stilato un Regolamento di sicurezza da parte dell'Esperto Responsabile della Sicurezza in collaborazione con il Medico Responsabile dell'apparecchio di risonanza magnetica a 3 Tesla. Tale regolamento conterrà tutti i casi di possibile controindicazione all'analisi mediante l'apparecchio per la risonanza magnetica e/o all'esposizione al campo magnetico statico, ai campi elettromagnetici lentamente variabili e ai campi a radiofrequenza generati durante il funzionamento dell'apparecchiatura, nonché i potenziali rischi derivanti dall'uso.

4. Monitoraggio degli standard di sicurezza nazionali ed internazionali.

Tempistica: entro la fine anno 2008.

Scopo: acquisire conoscenze nel campo delle tecnologie per la produzione di campi magnetici ultra alti.

Attività nello specifico: si seguiranno tutte le fasi di progetto relative all'acquisizione e installazione di due risonanze magnetiche ad alto campo, incluse consultazione e valutazione delle aziende fornitrici e valutazione dei rischi e delle adeguate misure da adottare per il rispetto delle norme di sicurezza vigenti. Quest'ultimo punto comporta anche la messa a norma dell'edificio ospitante la risonanza magnetica, la predisposizione di adeguate schermature per il campo magnetico ultra alto e la formazione di personale preparato all'utilizzo ed alla manutenzione di tutta l'apparecchiatura.

Altri Enti Coinvolti: IRCCS Stella Maris, Università di Pisa, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana.

## IDENTIFICAZIONE, ANALISI E CARATTERIZZAZIONE FUNZIONALE DI SINGLE NUCLEOTIDE POLIMORPHISMS, MULTISPECIES CONSERVED SEQUENCES E ELEMENTI TRASPONIBILI NEL GENOMA UMANO: USO COMBINATO DI DIVERGENZA INTERSPECIFICA E VARIABILITÀ INTRASPECIFICA

**ING. UBERTO POZZOLI**

e-mail: UBERTO.POZZOLI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.7

Bionformatica

### Tipo di ricerca

Corrente

### Periodo di svolgimento

2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Collaborazioni

Laboratorio di Biologia molecolare, IRCCS "E. Mea" Bosisio Parini

Centro Dino Ferrari, Dipartimento di Scienze Neurologiche, Università di Milano

Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena, Milano

Laboratory of Developmental Genetics, Wadsworth Center, Center for Medical Sciences, Albany, USA

## DESCRIZIONE

In questo progetto di ricerca ci siamo riproposti di creare database umani su scala genomica (genome-wide) di SNPs (single nucleotide polymorphism), sequenze conservate multispecie (MCS, coding e non-coding) e elementi trasponibili (transposable elements, TE) e di studiarne la distribuzione e le caratteristiche funzionali. I dati preliminari riguardanti la distribuzione di MCS e TE hanno consentito la stesura di due lavori. Tuttavia, molti dati interessanti aspettano un ulteriore approfondimento e due ulteriori lavori sono in fase di stesura. Infatti, mentre abbiamo potuto sviluppare un

modello che spieghi l'evoluzione delle sequenze introniche dal punto di vista della loro dimensione (Pozzoli et al. Trends Genet), stiamo ora studiando gli eventi evolutivi che hanno influenzato altre caratteristiche delle regioni non codificanti del genoma umano quali la composizione in basi (GC%), la frequenza di ricombinazione e la variabilità intraspecifica (SNPs). In particolare abbiamo ottenuto le frequenze di ricombinazione, la localizzazione di isole CpG e la distribuzione di SNPs per circa 8000 geni umani e stiamo ora analizzando congiuntamente questi dati. Le nostre analisi preliminari indicano come la composizione in basi e la lunghezza delle sequenze non-codificanti siano intimamente connesse e rappresentino un livello di regolazione ulteriore e diverso da quello costituito da sequenze funzionali discrete. In particolare, stiamo studiando separatamente sequenze introniche ed intergeniche 5' e 3'; i dati preliminari raccolti indicano come esista un controllo stringente (probabilmente di natura selettiva) sul contenuto in GC e la lunghezza delle sequenze intergeniche 5' e sui primi introni, indicando una possibile funzione di tali parametri sulla regolazione dell'espressione genica. Stiamo ora analizzando i dati relativi alla distribuzione di isole CpG, in modo da rendere robusti i nostri dati rispetto alle variazioni del contenuto in GC dovuto alla presenza di tali elementi. Stiamo inoltre raccogliendo dati relativi a tutti gli pseudogeni non processati presenti nei genomi di uomo e di topo, in modo da costituire un set di sequenze che, non essendo funzionali, rappresentino un controllo negativo. Tali dati, oltre a rappresentare un'importante ampliamento delle conoscenze riguardo ai livelli di regolazione del genoma umano, rappresentano un compendio a quanto abbiamo descritto nei nostri precedenti lavori, creando così una continuità di contenuti.

Inoltre, stiamo iniziando ad analizzare i dati relativi alla frequenza di ricombinazione nel genoma umano. La ricombinazione ha per noi interesse sia per l'azione che questo processo svolge/ha svolto durante l'evoluzione del nostro genoma (dati recenti ottenuti da altri gruppi indicano che il contenuto in GC del nostro genoma varia in dipendenza delle frequenze di ricombinazione locali), sia in quanto la ricombinazione è alla base anche di eventi "illegittimi" che danno origine a riarrangiamenti cromosomici, delezioni e duplicazioni. Questi ultimi, a loro volta, sono responsabili di molte malattie genetiche umane. Attualmente non è noto quali siano gli elementi che determinano la frequenza di ricombinazione nel genoma umano. Si sa, però, che le frequenze di ricombinazione e la localizza-

zione degli hot-spot sono molto labili nel tempo. In particolare la maggior parte degli hot-spot umani non sono hot-spot nei nostri parenti più prossimi, gli scimpanzé. È quindi possibile, attraverso metodiche statistiche e di genomica comparativa, analizzare la distribuzione di “motivi” negli hot-spot umani e nelle rispettive sequenze di scimpanzé per valutare eventuali differenze di rappresentazione. È inoltre possibile allineare la sequenza di un hot-spot umano con quella corrispondente sul genoma di scimpanzé e analizzare le singole differenze nucleotidiche per la capacità di sopprimere o favorire gli eventi di ricombinazione. La verifica viene infatti condotta tramite esperimenti in lievito, utilizzando un protocollo simile a quello utilizzato in un nostro precedente lavoro (Sironi et al. FASEB J. 2005). Questa parte del progetto verrà svolta in collaborazione con il Prof. Dilip K. Nag (Wadsworth Center, Albany, NY). Evidentemente il grande vantaggio offerto dal lievito risiede nel fatto che è un organismo in cui si può indurre la meiosi e analizzarne i prodotti e che è facilmente manipolabile dal punto di vista genetico.

Infine, stiamo completando il database di SNP umani. Gli SNP rappresentano la variazione più comune nel nostro genoma e hanno una grande rilevanza in molti ambiti della ricerca biomedica. In particolare stiamo utilizzando le frequenze di SNP (ed in particolare le frequenze di variazioni AT>GC e GC>AT) per validare il nostro modello relativo alla variazione di composizione in basi delle sequenze codificanti. Inoltre, come previsto, stiamo valutando il ruolo di SNP esonici quali modificatori degli eventi di splicing.

### Attività previste

1) Identificazione e studio di regioni genomiche sottoposte a selezione non neutra.

Allo stato attuale sono stati individuati circa 10 milioni di SNP nel genoma umano. Non è semplice distinguere tra SNP funzionali e non e, tra i primi, evidenziare su quali abbia agito un processo adattativo. Infatti alcuni SNP possono influenzare la fitness di un individuo, ovvero la sua capacità di sopravvivere e riprodursi, e possono essere pertanto favorevoli o deleteri per l'organismo all'interno, per esempio, del suo contesto ambientale.

Analizzando i polimorfismi umani è possibile risalire alle forze evolutive che nel corso del tempo hanno modellato l'attuale genoma ed identificare in seguito quali varianti siano effettivamente funzionali per l'organismo. Il modello neutrale dell'evoluzione molecolare afferma che la maggior parte delle variazioni alleliche è una conseguenza del processo

di deriva genetica per la quale tutte le mutazioni sono non adattative ed insorgono e si fissano nel tempo in modo casuale.

Oltre ai processi casuali, durante l'evoluzione possono concorrere differenti forme di selezione naturale che modificano le variazioni nucleotidiche intra ed inter-specie. La selezione negativa tende a eliminare alleli deleteri (come, per esempio, molte mutazioni non sinonime) mentre la selezione positiva favorisce la fissazione di un allele con maggior fitness, ovvero la capacità di un organismo di sopravvivere e riprodursi. In quest'ultimo caso spesso la mutazione selezionata riduce in modo drastico e repentino la variabilità dei siti con la quale è collegata e si osserva il fenomeno di “selective sweep”.

La selezione bilanciante è un caso molto particolare ed interessante di selezione naturale. In questa situazione la variabilità genetica è mantenuta all'interno di una specie a causa di una pressione selettiva. Esistono tre principali cause per l'instaurarsi della selezione bilanciante: sovradominanza (gli individui eterozigoti possiedono un vantaggio selettivo sugli omozigoti), frequenza-dipendenza (un vantaggio è conferito ad un allele raro), variazione ambientale (alleli differenti sono vantaggiosi in diversi ambienti).

L'obiettivo del progetto per il prossimo anno consiste nell'elaborazione e applicazione di un approccio computazionale per identificare e caratterizzare le varianti genomiche funzionali del genoma umano attraverso la ricerca di regioni sottoposte, in particolare, a selezione bilanciante e selective sweep.

Tali varianti verranno successivamente analizzate tramite studi di associazione mirati (in collaborazione con enti esterni in grado di collezionare una buona casistica di pazienti) per evidenziare una potenziale correlazione tra mutazione e fenotipo patologico.

Si adotteranno due strategie principali: una ricerca lungo tutto il genoma (genome-wide) e l'analisi di singole regioni geniche.

Esistono diversi database che contengono dati riguardanti i polimorfismi umani (posizione genomica, alleli con relative frequenze per più popolazioni etniche, etc) tra i quali il più importante è il database dbSNP. Esso raccoglie gli SNP identificati e sottomessi da singoli e indipendenti studi e pertanto, seppur coprendo la maggior parte dell'estensione del genoma umano, non presenta dati omogenei fra loro (protocolli di acquisizione diversi, individui ed etnie differenti). Tali informazioni devono essere utilizzate con estrema cautela in considerazione

del fatto che esse tendono a sovrastimare le varianti comuni nel genoma. Sono disponibili in egual modo i dati relativi ai polimorfismi del genoma di scimpanzé.

Nasce quindi l'esigenza di utilizzare dati sui polimorfismi provenienti da studi mirati in un pool di individui di etnie diverse ben caratterizzato. Tali dati sono resi disponibili grazie al lavoro di risequenziamento, ovvero l'acquisizione della sequenza di una regione genica relativamente limitata in un numero sufficientemente elevato di individui suddivisi per etnia. Esistono specifici database, come Seattle SNPs PGA, che collezionano i polimorfismi di alcuni geni risequenziati appartenenti a particolari percorsi funzionali (per esempio coinvolti nella risposta immunitaria, nella coagulazione...) in più popolazioni umane (africani, europei, cinesi-giapponesi). Questi dati sono molto affidabili e ben confrontabili tra loro ma sono relativi ad un numero, seppur elevato (circa 300), limitato di geni.

Per quanto riguarda l'analisi genome-wide verranno utilizzati inizialmente i dati sui polimorfismi provenienti dal database di dbSNP. Tra questi verranno cercati gli SNP con caratteristiche tali da renderli possibili candidati come marcatori di selezione.

In particolare, un indicatore di selezione bilanciante è la presenza di SNP trans-specifici (ts-SNP), ovvero posizioni genomiche che risultano polimorfiche in più di una specie. Nel progetto proposto verranno individuati i ts-SNP tra uomo e scimpanzé (primate evolutivamente a noi più vicino) attraverso una ricerca nel database dbSNP. I polimorfismi trans-specifici possono essere dovuti alla casualità, a mutazioni coincidenti successive alla speciazione o all'azione della selezione. Verranno confrontati alcuni parametri (tra i quali densità polimorfica, diversità nucleotidica, frequenze alleliche) delle regioni intorno ai ts-SNP identificati con gruppi di SNP di controllo al fine di evidenziare solo la frazione di polimorfismi trans-specifici potenzialmente mantenuta sotto selezione. Allo stesso modo verranno cercati gruppi di SNP vicini il cui allele derivato sia ad alta frequenza per individuare potenziali regioni sottoposte a selective sweep.

In una fase successiva le regioni candidate ad essere sotto selezione saranno risequenziate in almeno 60 individui con origine etnica diversa (africana, europea, orientale). A questo punto sarà possibile applicare opportune statistiche, per verificare lo scostamento dal modello neutro di evoluzione e ottenere ulteriori prove dell'azione della selezione naturale. Inoltre sarà effettuata

un'analisi di "gene ontology" (associazione tra gene e percorsi funzionali) per ricavare indicazioni su quali processi biologici siano più suscettibili a essere soggetti a selezione (per esempio è atteso trovare una presenza superiore all'atteso di geni coinvolti nella difesa immunitaria tra quelli sottoposti a selezione bilanciante).

Studi preliminari hanno indicato come il numero di SNP trans-specifici sia superiore all'atteso sulla base di sopravvivenza casuale del polimorfismo e di mutazioni coincidenti dopo la separazione tra uomo e scimpanzé. Inoltre alcune caratteristiche delle regioni genomiche intorno ai ts-SNP suggeriscono che una frazione di essi possa essere stata mantenuta polimorfica per selezione bilanciante. Per quanto riguarda la ricerca di sweep selettivo lungo tutto il genoma, in letteratura sono presenti alcuni lavori che trattano in modo diverso tale problema e ottengono risultati spesso non confrontabili ed appare pertanto utile sviluppare un nuovo approccio per verificare precedenti risultati.

Per quanto concerne l'analisi di singole regioni, saranno selezionati geni che rivestono un'importanza diretta dal punto di vista medico e i cui dati sui polimorfismi siano disponibili a seguito di risequenziamento. Tali dati saranno reperiti in specifici database (Seattle SNPs PGA, NIEHS SNPs...) i quali raccolgono i polimorfismi, per diverse popolazioni umane, provenienti da lavori di risequenziamento su specifici geni. A tali regioni geniche selezionate saranno applicate alcune appropriate analisi statistiche in grado di stabilire se i polimorfismi che si osservano sono dovuti o meno alla sola azione della deriva genetica.

2) Identificazione di nuovi elementi di sequenza coinvolti nella ricombinazione meiotica umana.

Alla luce dei dati sperimentali ottenuti, in questo anno ci proponiamo di ricercare, con l'apporto di approcci computazionali, nuovi motivi implicati nella formazione dei DSBs e, quindi, che possano indurre ricombinazione meiotica.

Gli eventuali nuovi motivi di sequenza identificati verranno poi testati sperimentalmente applicando lo stesso approccio sperimentale utilizzato in precedenza.

3) Identificazione di SNP funzionali e aventi un ruolo nella regolazione dello splicing.

Utilizzando un algoritmo basato su Support Vector Machines (SVM) che stiamo sviluppando, analizzeremo gli SNP in regioni geniche in modo da identificare SNP che possano alterare il processo di splicing. Infatti è immaginabile che alcuni eventi di splicing (alternativo o costitutivo) possano essere

regolati in modo allele-specifico, analogamente a quanto avviene nel caso della trascrizione. È inoltre ipotizzabile che tali SNP, in quanto funzionali, abbiano un ruolo nel predisporre a malattie complesse o nel modulare il fenotipo clinico in caso di malattie mendeliane. Utilizzeremo quindi l'algoritmo SVM per associare a ciascun SNP una probabilità di alterare il processo di splicing. I migliori candidati verranno poi analizzati in vitro attraverso l'uso di linee linfoblastoidi e di sistemi minigene.

## **IDENTIFICAZIONE SISTEMATICA DI REGOLATORI GENICI "CIS-ACTING" SPECIFICI PER IL TESSUTO MUSCOLARE ATTRAVERSO GENOMICA COMPARATIVA E SCREENING FUNZIONALE IN VITRO**

**DOTT.SSA MANUELA SIRONI**

e-mail: MANUELA.SIRONI@BPLNF.IT

### **Linea di ricerca n.7**

Bionformatica

### **Tipo di ricerca**

Corrente

### **Periodo di svolgimento**

2008

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

### **Collaborazioni**

Centro Dino Ferrari, Dipartimento di Scienze Neurologiche, Università di Milano, Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena, Milano.

## **DESCRIZIONE**

I recenti sviluppi nei progetti di sequenziamento del genoma e l'analisi comparativa hanno indicato che la maggioranza delle informazioni sui meccanismi regolatori che controllano l'espressione genica e l'editing risiede nelle regioni genomiche non codificanti. In particolare, le sequenze multispecie conservate (MCSs) rappresentano i migliori candidati come regolatori genici in cis. Inoltre, è stato stimato che nei topi il tasso di mutazioni deleterie nelle sequenze non codificanti uguaglia il tasso in regioni codificanti; le MCSs quindi rappresentano anche possibili target di mutazione. Coerentemente, è stato dimostrato che le mutazioni in MCSs non codificanti umane sono responsabili di alcune malattie genetiche. Data questa premessa, l'identificazione di motivi funzionali all'interno di MCSs che potrebbero essere coinvolte nei processi di trascrizione o nel controllo di splicing ha una grande rilevanza nella ricerca biomedica. In questo progetto ci proponiamo di combinare approcci in silico e in vitro per identificare sistematicamente motivi di sequenza coinvolti nella regolazione dell'espres-

sione genica del tessuto muscolare e, contemporaneamente, di verificare se queste sequenze potrebbero rappresentare target mutazionali nelle malattie genetiche neuromuscolari. In particolare, sceglieremo tutti i geni noti che mostrano espressione nel muscolo scheletrico, liscio e cardiaco; dai geni scelti verranno estratte le MCS, sia intro-niche che intergeniche. Vari algoritmi saranno poi applicati in modo tale da raggruppare gli elementi di sequenza trovati e identificare i motivi significativamente over-rappresentati (saranno messi in atto confronti sulla frequenza dei motivi mediante l'utilizzo di un set di controllo di MCS derivato da geni che non sono espressi in muscolo). I motivi candidati saranno poi testati in vitro in modo tale da verificare la loro capacità funzionale come regolatori trascrizionali o di splicing. Saranno utilizzate linee di cellule miogeniche, cellule staminali adulte derivate da tessuto muscolare e cellule ES di topo; di nuovo sarà effettuato un controllo per la muscolo specificità differenziando le cellule in tipi non-miogenici. Inoltre, le mutazioni nei motivi identificati saranno ricercate in un'ampia popolazione di pazienti affetti da malattie genetiche recessive e che mostrano una diagnosi molecolare incompleta (i.e. pazienti che presentano una malattia recessiva e aventi un solo allele caratterizzato). Lo scopo finale è la costruzione di un database di motivi regolatori muscolo-specifici, validati sperimentalmente, integrati in un web-tool dove le informazioni che riguardano funzione, posizione, variazione di sequenza e omologia possano essere interrogate gene per gene. Per quanto riguarda l'importanza della patologia e della terapia umana, crediamo che l'identificazione e la caratterizzazione funzionale di almeno una parte dei motivi di sequenza che regolano l'espressione genica e l'editing trascrizionale potrebbero:

- estendere la nostra conoscenza sui meccanismi molecolari che governano lo sviluppo, il differenziamento e il mantenimento del tessuto muscolare.
- Identificare nuovi target mutazionali per malattie genetiche neuromuscolari, con evidente impatto sia sulla diagnosi che sulla consulenza genetica.
- Aiutare nella progettazione e selezione di nuovi agenti terapeutici che, agendo come regolatori trascrizionali muscolo-specifici, possano stimolare l'espressione di geni endogeni "booster" come, ad esempio, utrofina (per distrofinopatie), glicotransferasi (per distrofinopatie e distrofie muscolari congenite), agrina (per distrofia muscolare congenita laminina-deficiente).

### Attività previste

Costruzione di sistemi reporter e analisi in vitro: costruzione di vettori contenenti un gene reporter (GFP) e atti a verificare l'attività di uno specifico motivo inserito nel vettore stesso (es. Regolatore trascrizionale o di splicing). Trasfezione di cellule di mammifero con i vettori stessi (linee cellulari miogeniche, cellule staminali adulte derivate da tessuto muscolare e cellule ES di topo) Analisi mutazionali: analisi mutazionali di eventuali nuovi target in pazienti affetti da malattie genetiche recessive e che mostrano una diagnosi molecolare incompleta. Costruzione di un database di motivi regolatori muscolo-specifici interrogabile liberamente attraverso internet.

**RICERCHE  
MINISTERIALI  
FINALIZZATE 2007**

---

**RAZIONALI**

## LA SALUTE MENTALE NEL BAMBINO E NELL'ADOLESCENTE: DAI FATTORI DI RISCHIO BIOLOGICO E PSICOSOCIALE, AGLI INDICATORI PRECOCI E DI CARICO FAMILIARE, PER LO SVILUPPO DI MODELLI DI PREVENZIONE ED INTERVENTO EVIDENCE-BASED DEI DISTURBI MENTALI GRAVI

**DOTT. 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

Finalizzata

### Periodo di svolgimento

24 mesi

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Enti partecipanti al progetto

IRCCS "E. Medea"

Istituto Superiore Sanità – Roma

Regione Lombardia

Regione Emilia Romagna – Agenzia Sanitaria

Regionale

IRCCS Fondazione Stella Maris

## DESCRIZIONE

### Sintesi degli obiettivi della proposta di programma integrato

The aim of the S.P. is to identify and clarify the role of risk and protective factors involved in the onset and persistence of emotional and behavioural problems from childhood through adolescence with particular attention focussed on ASDs and externalising behaviours. The 5 projects will mutually pursue the Programme aims by sharing scientific instruments, clinical methods, and targeted training in questionnaire- and specific interview administration, and by developing a technological innovation-clinical intervention link through the establishment of a closely knit Research centre and Child Psychiatry

Unit network. Risk and protective factors in adolescence will be analysed through continuation of a previously launched longitudinal study, and the issue of gene-environment interplay will be carefully examined by combining an extended twin design method with the molecular genetic approach. S.P. will examine the impact of self-efficacy beliefs on subjective well-being in adolescence in a large sample of clinical and non clinical Italian adolescents and will conduct an observational study to compare pharmacologically treated- and untreated children and adolescents suffering from major mental . the assessment methods will be the same for all the SP's participating CPUs. ASD will be studied by 1)a population-based screening programme to detect children at risk of autism at their first- or second-year Pediatric check-up 2)verifying whether serum aryl esterase, might serve as the first genetic/biochemical lab diagnostic tool for supporting ASD 3)producing novel technological platforms for the unobtrusive and ecological assessment of behavioural development in infants 4) testing new technologies for exploring emotions and imitation 5)carrying a treatment efficacy study. The SP will provide authoritative treatment guidelines for ASD and detailed information on affected families burden by identifying associated sociodemographic, socioeconomic, and healthcare factors.

### Sintetica descrizione della struttura organizzativa del programma strategico

A 'Steering Committee', made up of the single projects' Scientific Coordinators, will coordinate the S.P.: The Committee will meet periodically to supervise single project conduction and inter-project coordination, in an effort to develop project training synergy—i.e., a work group will be set up to develop the targeted training pathway for the various P.U.s involved. The 'Steering Committee' will also evaluate what operative decisions are most appropriate for achieving the S.P.'s overall aims; it will organise meetings with the P.U.s. biannually to exchange information on each project's state of progress and will promote the dissemination of yielded results. An advisory board made up of international experts will be activated to define scientific priorities, should any study conduction difficulties arise (e.g., technological problems, low participation, P.U. sampling delays).

### Progetti associati al programma strategico

IRCCS "E. Medea" - Polo di Bosisio P. (Lc)

Mental Health in Childhood and Adolescence: an

investigation of biological and psychosocial risk factors, early indicators, and family burden indicators, in the development of evidence-based prevention and intervention models for severe mental illness.

*Italian National Institute of Health*

An epidemiological approach to autism spectrum disorders.

*Regione Lombardia*

Emotional and prosocial competence for the intervention on adolescents' externalizing disorders (cepidea).

*IRCCS Fondazione "Stella Maris"*

Inquiry into Disruption of Intersubjective equipment in Autism spectrum disorders in childhood (IDIA).

*Regione Emilia Romagna - Agenzia Sanitaria Regionale*

Prescription, safety, pharmacogenetics and outcome of psychotropic drugs in childhood and adolescence: a cohort study.

## **MOLECULAR BASES OF THE EARLY AND JUVENILE ONSET FORMS OF AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS UNDERLYING THE CLINICAL HETEROGENEITY AND SLOW PROGRESSION IN THESE FORMS OF MOTOR NEURON DISEASE**

**PROF. NEREO BRESOLIN**

e-mail: NEREO.BRESOLIN@BPLNF.IT

### **Linea di ricerca n.5**

Neurobiologia

### **Tipo di ricerca**

Finalizzata

### **Periodo di svolgimento**

24 mesi

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

### **Unità Operative e collaborazioni**

U.O. 1 Laboratory of Molecular Biology-IRCCS "E. Medea" Polo di Bosisio Parini (Lc)

U.O. 2 Laboratory of Pharmacology-IRCCS "E. Medea" Polo di Bosisio Parini (Lc)

U.O. 3 Department of Neurological Sciences, IRCCS Policlinico Mangiagalli e Regina Elena

U.O. 4 Istituto di Farmacologia e Farmacognosia Università degli Studi di Urbino "Carlo BO"

U.O. 5 Dipartimento di Scienze precliniche LITA, Università degli Studi di Milano

U.O. 6 "E. Medea" Scientific Institute, Conegliano Research Centre

U.O. 7 University of Bologna Department of Neurology Sciences.

## **DESCRIZIONE**

### **Obiettivo principale ed eventuali obiettivi secondari del progetto**

This project is a cooperating action among 7 legal entities. The scientific co-ordinator is Prof Bresolin operating at both the E. Medea Inst. (U1) as Scientific Director and at the Dept of Neurol. Sci. of the Univ. of Milan (U3). U1, 3 and 6 will participate both as Clinical Centres and laboratories.

The clinical centres are the Neuromuscular and Neurorehabilitation Unit of E. Medea Inst. of Bosisio Parini (U1) and Conegliano (U6), the Dept. of Neurol. Sci. of the Univ. of Milan (U3) and Bologna (U7). A Clinical Psychology Unit (U5) will perform the neuropsychological evaluation of MND patients. Other participants are the laboratories of Pharmacology (U2) of the E. Medea Inst. and the Inst. of Pharmacology of the Univ. of Urbino (U4). The project will be run on two different levels: 1) clinical-psychological-genetic and 2) biochemical and cellular biology levels. Main objectives will be: 1) Definition of protocols for accurate clinical, neurophysiological and neuropsychological classification of patients presenting with juvenile forms of motor neuron disease (MND) by U 1,3,5,6,7; 2) identification of mutations in the known genes in the patients sample enrolled in this study (U1,3); 3) characterization of the role of alsin in muscular degeneration (U2,1); 4) characterization of the role of senataxin in neuronal differentiation and its pathogenic role in SETX mutant patients cell lines (U1,4,2); 5) identification of novel genes for MND forms for which the genetic defect is unknown (U1,3); 6) pathogenetic role of SOD1 aggregates and therapeutic targets in late onset ALS (U3); 7) creation of a Drosophila model of ALS2(U6).

These main objectives will be reached through intermediate steps as follows:

- a) Sharing and discussion among the clinical centres of diagnostic protocols already in use both for children and for young adults patients.
- b) Mutation screening of the patients sample of the genes clearly involved in these forms of ALS, ALS2, SETX, and dynactin, SOD1, ANG and VAPB, CHMP2 based on the clinical phenotype.
- c) Analysis of functional parameters in in vitro reconstructed functional motor unit transfected with wt and mutant alsin.
- d) Expression analysis of neuronal differentiation markers in stably-transfected P19 cells with wt and mutant SETX induced to differentiation and identification of senataxin interactors.
- e) Definition of a set of agents able to induce oxidative DNA damage in SETX mutant patients cell lines.

The activities related to each research theme will be developed in 7 WPs (1 to 7) as detailed in Methods section. In brief the patients selection and enrollment will be performed by U1,3,6,7 and the procedures followed are summarized in WP1. Neuropsychological evaluation of all patients will

be performed by U5 (described in WP2). These activities will allow the definition of functional and shared diagnostic protocols for early and juvenile MND patients. Genetic analysis of the selected patients will be performed by U1,3 (described in WP3). In parallel, functional characterization of alsin and senataxin proteins both in cell model and patient cell lines by U1,2,4 (WP4,5), will provide clues to the pathogenetic mechanisms involved in these rare forms of MND. The fly model of alsin (U6 in WP7) will provide a valuable animal system to test the experimental evidence obtained from the alsin cell models generated. Generation and analysis of a SOD1 related fALS model (U3 in WP6) will allow the comparison between mechanisms involved in late onset ALS disease and those involved in earlier and juvenile forms so far very poorly characterized. The analysis and comparison of these data altogether will provide valuable clues about juvenile ALS pathogenesis and will allow the definition of eventual common pathways of these different types of neurodegenerative diseases.

#### Precedenti conoscenze disponibili

Amyotrophic Lateral Sclerosis is a neurological disorder characterized by degeneration of the upper and lower motor neurons (UMN and LMN) and represents the commonest adult onset disorder of motor neurons (MND). The incidence of the disease is 1-2/100.000(1). The disease is predominantly a condition of middle age and elderly life, with an average age of onset between 50-60 years, though rare juvenile onset forms of the condition also exist. Approximately 5-10% of ALS are familial and 8 loci have been so far identified (ALS1-8) and among these only 4 genes for adult onset forms of the disease (SOD1-ANG-VAPB-CHMP2B), and two responsible for early and juvenile forms (ALS2-SETX) have been cloned. An additional locus for a recessive juvenile onset form is known on chromosome 15 named ALS5. Additional loci have been mapped for more complex forms associated with either dementia or parkinsonism, all with adult onset. The salient pathological feature of this group of diseases is progressive injury and cell death of the LMN groups in the spinal cord and brain stem and of the UMN in the motor cortex. Typical cytopathological features in motor neurons are the presence of ubiquitinated proteinaceous inclusions within motor neurons cell bodies, and neurofilament accumulation within motor neuron axons. People affected by motor neuron di-

sease typically develop a combination of UMN LMN signs, with progressive muscle weakness and wasting, usually accompanied by pathologically brisk reflexes, eventually involving the limb and the bulbar muscles. Clinical variant of the disease may initially affect only the spinal LMN (progressive muscular atrophy) or only the UMN (PLS) or only the bulbar musculature (progressive bulbar palsy). With disease progression, the majority of patient develops features of ALS. One of the remarkable aspect differentiating these early onset forms of ALS with respect to the adult ones linked to SOD1, ANG or CHMPB2 mutations is the slow progression leading these patients to chronic and life long disability with variable degree of severity. Most of the current level of understanding of the disease mechanisms in ALS comes from the study of SOD1 gene responsible of approximately 20% of the families with autosomal dominant and late onset form of the disease.(2) SOD1 gene encodes the free radical scavenging enzyme Superoxide Dismutase I. Consistent with that, substantial evidence indicates that the toxic gain of function of mutant SOD1, not yet fully defined, involves several pathophysiological processes, including oxidative stress, mitochondrial dysfunction, excitotoxicity, protein aggregation, and inflammation. By contrast, the mechanisms implicated in the early and juvenile forms are still uncharacterized partly due to the rarity of these conditions and the low number of mutations so far reported, 12 for ALS2 in ALS2 gene(3) and 3 for ALS4(4) in SETX gene. Concerning the function of the proteins encoded by the only two genes so far identified for these forms, i.e. alsin encoded by ALS2 and senataxin encoded by SETX, little information is available. The ALS2 protein, alsin, contains a number of cell signalling and protein trafficking domains and functions as a guanine nucleotide exchange factor(3). These motifs are implicated in the binding of the plasma membrane. Consistent with that, alsin is involved in endosomal dynamics showing strong association with endosomes and promoting endosome fusion in the cells3; it's also implicated in cytoskeletal organization, anti-cytotoxicity and neuronal development/maintenance processes3. Senataxin is a putative DNA-RNA helicase whose function is still unknown(4).

References:1-Shaw PJ. J. Neurol Neurosurg Psychiatry 2005, 76:1046-57;2-Rosen DR, et al. Nature 1993, 362:59-62;3-Hadano S, et al. Neurochem Int 2007,51:74-84;4-Chen YZ, et al. Am J Hum.Genet 2004,74:1128-1135.

### **Nuove informazioni che il progetto renderà disponibili**

This project aims at the characterization of the molecular bases underlying the early and juvenile forms of ALS for which the genes are known, namely ALS2 and ALS4. Due to the rarity of these conditions, in order to reach this aim a large sample of patients will be collected through the involvement of four clinical centers as detailed below. Accurate characterization of the clinical and neurophysiological presentation and progression of the disease will be performed in such a way that a definite diagnostic protocol for these ALS forms can be generated. At the same time the psychological and behavioural characteristics of patients affected by these diseases, exacerbated by the chronic disability induced by the slow progression, will be analyzed through the use of specific tests aimed at identifying individual and contextual resources that can support well-being and social integration of these people. In parallel, functional and biochemical characterization of patients-derived mutant forms of alsin and senataxin proteins will be performed in muscular and neuronal cell models, respectively, to identify the functional role of these proteins in muscular and neuronal degeneration. The project combines the experience of neurologists and child neurologists, pharmacologists, clinical psychologists, geneticists, molecular and cell biologists that will achieve the project objectives and will translate the results to the clinical practice. The clinicians have an extensive experience in diagnosis and care of these types of rare forms of juvenile ALS which will permit a good phenotyping and classification of the patients. Geneticists will perform genetic analyses and genotype-phenotype correlation analyses. The results of the study will be competitive at both the international and national levels providing with new clues to the understanding of pathophysiology of juvenile ALS and to the care and cure of these patients.

### **Obiettivi intermedi previsti**

Milestone 1 - Analysis and sharing of common clinical protocols for patients recruitment (WP1-12 months) will lead to the definition of common diagnostic protocols for early and juvenile ALS patients. Milestone 2 - Psychological assessment of early and Juvenile MND patients (WP2-21 months) leading to intervention programs development for the promotion of psychological well-being in ALS patients. Milestone 3 - Screening for mutations in

ALS2- SETX genes (WP3-22 months) will lead to the definition of the frequency of ALS2 ALS4 forms with respect to the total population of early and juvenile onset MNDs. Milestone 4 - Screening for mutations in the VAPB, Dynactin, ANG, CHMP2B genes (WP3-22 months) will lead to the definition of the frequency of each form among the juvenile ALS patients. Milestone 5 - Myoblast differentiation in presence of wt and mutant alsin (WP4-23 months) will lead to the definition of the role of alsin in myoblast differentiation. Milestone 6 - Neuronal differentiation of senataxin mutant cell lines (WP5-12 months) will lead to the identification of the role of senataxin in neuronal differentiation. Milestone 7 - Total gene expression analysis in myoblast differentiation (WP4-23 months) will generate an expression profile of coding and non coding RNA in myoblast differentiation.

Milestone 8 - Two hybrid screening of senataxin proteins (WP5-12 months) will allow the identification of senataxin interactors. Identification of cellular pathways senataxin is involved in. Selection of candidate genes suitable for mutation screening in the forms of early onset MND with unknown defect. Milestone 9 - Analysis of sensitivity to different Oxidative DNA damage inducing agents in mutant SETX lymphoblastoid cell lines (WP5-21 months) will lead to the definition of the effects in lymphoblastoid cell lines of different damage inducing agents in presence of a mutated senataxin protein. Milestone 10 - Characterization of a Drosophila alsin homolog for the generation of a null mutant Drosophila for alsin (WP7-14 months) will allow the generation of an ALS2 disease fly model.

### Metodologia

The activities of all objectives are detailed in the related Work packages, i.e. the selection criteria used for MND patients in WP1, the method of characterization of the patients population in WPs1,3, Analytical procedures used for patients in WP1,2,3, while procedures for biochemical cellular and fly models in WPs 4 to7.

WP1 Patients selection and definition of diagnostic protocols for the children and young adults patients with MND (U1,3,6,7). Patients selection will be carried throughout the entire time-span of the project. 4 clinical centers are involved: U1 and 6, focused on early and juvenile forms and U3 and 7 for the young adult forms. Unlike the late onset form of MND diagnosed based on the criteria established in El Escorial in 1998, the rarity of the early onset forms of MND disease has prevented definition of

standardized diagnostic and follow up protocols as detailed by U1. Therefore the centers more directly involved in the early onset forms will share and integrate their diagnostic protocols for both the clinical and neurophysiological evaluation, trying to define a common one that will be made available to the entire clinical community. Protocol for selection of patients with early and juvenile onset ALS is detailed by U1,6. For the young adults patients (aged 16 to 40y) selection, inclusion and exclusion criteria will be those established in El Escorial in 1998 and detailed by U3,7. WP2 Evaluation of psychological and behavioural features related to early onset MND forms (U5). Investigation of subjective perspective of children and adolescents with MNDs, and their individual perception of daily opportunities and constraints, will be investigated to obtain information on the role of optimal experiences "rewarding states characterized by engagement and emotional well-being. In addition, analysis of influence of family and social relations on the quality of life will provide an empirically-grounded basis for designing intervention programs tailored on individual needs and resources. This is particularly important in the case of these MNDs, since the onset and progression of physical impairments can force individuals to modify their daily life organization and goal priority, as well as to redefine, according to the residual functioning, the practice of enjoyable activities, the development of competencies and the cultivation of personal interests. WP3 Genetic analyses (U1,3) 20 subjects with early and juvenile forms of motor neuron diseases (onset before 20y) are already available at the clinical centers of U1,6. U3 and U7 examine at least 80 young adults patients with MND/year with onset between 20 and 40 y of age, and 300 both familiar and sporadic patients are already available. Patients selection will nevertheless continue during the two years of the project. Among the 20 patients already available 5 are already characterized from the clinical and genetic points of view: 3 carry mutations in ALS2 [c.1619 G>A (Panzeri 2006), c.1825\_1826insCAGTG and c.3529G>T] and 2 carry a mutation in SETX c. 2096A>G. All patients will be screened for mutation in ALS2 or SETX, Dynactin, (early and juvenile onset) VAPB, SOD1, ANG and CHMP2B genes (young adult forms with onset later than 20 y) based also on the phenotype presented. Furthermore, potential candidates for mutation screening will be selected among the senataxin interactors (WP5) based on the homology and functional data obtained. Mutation analysis will be performed by direct sequencing of the coding regions of each

gene. WP4 Role of alsin in muscular degeneration (U2) ALS2 role in muscle degeneration will be studied in muscle-nerve cocultures, a system allowing in vitro reconstruction of functional motor units. The cocultures, obtained by combining murine myoblasts with rat embryonic spinal cord explants, will be infected with the various adenoviral constructs carrying the wt and mutant ALS2 sequence. Relevant functional parameters of skeletal muscle and neuronal function as well as of neuromuscular junction formation, and pathological degeneration of synapses will be evaluated, using specific muscular and neuronal markers, including markers of differentiation and neuromuscular junction formation. Functional parameters of muscle contractile activity and innervation will be studied in the muscle-nerve cocultures and organotypic cultures, respectively. Gene profile analysis of myoblasts cells overexpressing the wt and mutated forms of alsin will be carried out to study how ALS2 influence the expression pattern of coding (mRNA) and non coding RNA (miRNA). Detailed methods for the experiments in WP2 are provided in 2Bis form of U1. WP5 Role of senataxin in neuronal differentiation, senataxin interactors and analysis of lymphoblastoid cell lines carrying SETX mutations for sensitivity to oxidative DNA damage (U1,4) We will use mouse P19 cell line that differentiate in neurons with retinoic acid stably transfected with the wt and the mutant SETX (already available). The differentiation process will be monitored by checking the expression of the markers specific for each step as detailed in 2Bis form of U1. Senataxin interactors will be searched by two hybrid screening of brain cDNA library. Among them candidates genes will be selected for mutation screening in MND patients without mutations in known genes (U1). We will also analyze the involvement of mutated senataxin in the sensitivity to DNA-damaging agents in cell lines from SETX mutant patients. The mode of cell death as well as the role of mitochondrial permeability transition in the death response will be determined using sensitive methods assessing formation/repair of DNA single and double strand breaks (U4). WP6 Pathogenetic mechanism of late onset-SOD1 linked ALS and search for possible therapeutic targets (U3) The pathogenicity of SOD1 aggregates will be studied in motoneurons obtained by differentiation of transfected murine ES cells with wt and G93A mutated SOD1 constructs. The rate of SOD1 aggregation will be evaluated by immunocytochemistry and Western blot analysis and its toxic effects determined analysing cytochrome c release expression and mitochondrial

respiratory chain activity. We will develop a novel high throughput screens for compounds that block or reverse protein aggregation, protect cells against the cytotoxicity produced by aberrant protein aggregation, induce chaperone synthesis or acts on the downstream ubiquitin-proteasome system. In parallel RNA transcription and protein expression dysfunctions will be studied in a cell model of LMN degeneration (SMA) in order to identify what molecular and pharmacological treatments can rescue dysregulation promoting axonal growth. Information gained in this model may be useful in ALS and in other MND disorders as well.

WP7 Generation of *Drosophila* alsin mutants, generation of antibodies to D-alsin (U6). The establishment of these mutants will be performed by genetic procedures as detailed in 2Bis form of U6.

Indicators: For the clinical part of the study: Number of patients recruited by the different centers; Number of patients diagnosed with a specific form of juvenile ALS. For the molecular and cellular part of the study: Number and types of functions in nerve muscle cocultures affected by the wt and mutant alsin protein; Number of genes with altered expression in myoblasts; Number of senataxin interactors identified; Steps of neuronal differentiation altered by mutant SETX expression; Types of agents for which senataxin mutant cell lines show sensitivity.

Statistical analysis: It will be performed using the Student's t test and the log-rank statistic. All data are considered statistically significant for  $P < 0.05$ . Psychological data will be analyzed through parametric and non-parametric statistical procedures, and with a specific model (Experience Fluctuation Model, EFM) designed to investigate daily experience fluctuation on the basis of repeated measurements.

### Trasferibilità dei risultati e dei prodotti

The data generated by the project at the clinical, neuropsychological, genetic, molecular and cellular levels, will provide clues to the understanding of juvenile ALS pathogenesis, an issue so far largely unknown partly due to the recent identification of the genes involved and to the rarity of the conditions. These data will also improve the diagnosis, cure and care of these patients that differently from the adult onset ALS ones experience a chronic and variably severe disability. The understanding of the pathogenesis of these forms of ALS will also be instrumental to the identification of potential pharmacological targets for the therapy of these diseases.

We expect that our findings will be able to increase the knowledge on the cellular pathways in which alsin and senataxin proteins are involved in, thus providing the bases for more extensive functional studies in animal models.

The presence of clinicians working in this project will facilitate the translation of the research data in practice, in particular in identifying potential pharmacological targets for the therapy of these diseases. The data generated in this project will also be presented at national and international meetings before publication.

### Output del progetto

Report on defined diagnostic protocols for early and juvenile ALS patients: 12nd month

Report on the characteristics of neuronal differentiation induced by wt vs. mutant senataxin: 12th month Analysis and evaluation of the two hybrid screening for wt and mutant senataxin proteins: 12th month Report on generation of Drosophila alsin model: 14th month Report on the psychological assessment results and correlation between findings, severity of symptoms and biochemical indicators: 2th month. Report on myoblast differentiation in presence of wt and mutant alsin: 23rd month Report on altered interactions of muscle and nerve cells at the neuromuscular junction induced by mutant alsin: 21st month

Report on sensitivity to oxidative DNA damage in cell lines from SETX mutant patients: 21st month

Report on characterization of Drosophila alsin model: 23rd month

Statistical analyses of changes in gene expression induced by alsin in myoblast differentiation: 23rd month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

Final collection and evaluation of the information and generation of a final report: 24th month

## JUVENILE AND PERINATAL STROKE: POPULATION GENETIC ANALYSIS FOR THE IDENTIFICATION OF PATHOGENIC ALLELES AND PREDISPOSING FACTORS

**DOTT.SSA MANUELA SIRONI**

e-mail: MANUELA.SIRONI@BP.LNF.IT

### Linea di ricerca n.7

Bioinformatica

### Tipo di ricerca

Finalizzata

### Periodo di svolgimento

24 mesi

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Unità Operative e collaborazioni.

U.O. 1 (EMB) Bioinformatics Lab-IRCCS "E. Medea"

U.O. 2 (EMMB) Molecular Biology Lab, IRCCS "E. Medea"

U.O. 3 (OM) Dip. Di Scienze Neurologiche IRCCS Fondazione Ospedale Maggiore Policlinico

U.O. 4 (BG) Pediatric Rehabilitation Department-IRCCS Bambino Gesù Children's Hospital

## DESCRIZIONE

### Obiettivo principale ed eventuali obiettivi secondari del progetto

The main objective of this project is the implementation of a research framework that integrates population genetics, computational, molecular and informatics methods with patient genetic and clinical data to study the genetic factors that predispose to stroke and perinatal ischaemic injury. The starting point of the study is the identification of functional variants in genes involved in pathways related to the pathogenesis of stroke and perinatal ischaemic injury. The approach we propose here, being based on the evolutionary considerations and inferences of non-neutrality, allows the identification of functional polymorphisms, in contrast to most association studies that generally retrieve associated variants without inference on functiona-

lity. The identification of possibly functional variants is an important point since functional characterization (both computational and experimental) allows further understanding of underlying physiological and pathogenetic events. The immediate effect is the possibility to analyse the relative frequency of functional variants in patients and controls so as to determine a relative risk. This is of fundamental importance in patient care and counselling especially when families with segregating variants are involved. With respect to secondary aims, they can be summarized as follows: 1. Identification of molecular targets. The identification of specific functional variants can be regarded as a fundamental step in identifying molecular targets for future development of novel therapeutic interventions. 2. Creation of a biobank. A bank of DNA samples and whole blood will be created so that further analyses will be possible depending, for example, on the identification of novel genes involved in stroke. 3. Creation of a database. The information produced during the project will be organized in a relational database that will serve as the main instrument of integration and information exchange during the project and that will be made available to the research community. 4. This study could represent a first attempt to address polygenic diseases by means of a complex system approach in a clinical environment. This could be extended in the future to investigate different conditions.

### **Precedenti conoscenze disponibili**

Association studies are widely used to identify risk factors in polygenic diseases. These approaches are powerful provided that phenotypes are well characterized and that large patient/control samples are studied assuring statistical power. This is often not feasible and therefore, the development of alternative approaches would be of great relevance. Specific pathways including coagulation, fibrinolysis and blood pressure regulation are thought to have been subjected to selective pressures during human evolutionary history since they strongly contribute to survival through, for example, wound healing and salt/water retention. As a consequence, selective forces are expected to have left a signature which can in turn be used to identify functional gene variants (since the presence of a functional polymorphism is a requisite for selection to act). Recent theories have therefore proposed to apply population genetics models, based on evolutionary principles, to identify disease-predisposing alleles. In particular, the same pathways reported above have been shown to be involved in

the pathogenesis of stroke. This latter condition is known to also be caused by environmental factors but genetic predisposition is thought to represent a major contribution in young cases. Indeed, monogenic disorders, albeit underestimated because of non-recognition, explain only a minority of stroke cases. Conversely, most cases are assumed to be polygenic, arising from a wide number of gene-gene and gene-environment interaction. Despite considerable evidences suggesting that genetic factors have a role, candidate genes and gene variants have been difficult to identify as responsible for perinatal ischaemic injury, as well as stroke in newborns, children and young adults. This premise makes the application of a population genetics-based new approach particularly promising.

### **Nuove informazioni che il progetto renderà disponibili**

The aim of this study is the identification of functional variants in genes involved in pathways related to the pathogenesis of stroke and perinatal ischaemic injury; the relative frequency of these variants in patients (and mothers in the case of newborns) compared to controls will also be evaluated. The approach allows the identification of functional polymorphisms (as opposed to association studies that generally retrieve associated variants without inference on functionality), therefore, allowing functional testing of genetic variants in vitro (using classic functional assays for transcriptional or splicing efficiency). The relevance of identifying functional rather than linked variants has evident implications including the possibility of designing new therapeutic interventions and drugs. Moreover, the project represents one of the first attempts to extensively apply a computational/evolutionary framework to study complex diseases. In this view, the project might establish a new scenario for complex trait genetics.

### **Obiettivi intermedi previsti**

Given the organization of the project, the results of each operating unit for each work package will be made available to the entire staff whenever they arise and the database will reflect any new information regarding selected genes, enrolled patients, annotation of identified and/or characterized functional variants, enrolled patient/control database and genotyping. In this view, all tasks will be performed concurrently and any of them will last for most of the project duration. The first phases of the project (WP02 and WP03, see the Gantt for time

scheduling) will produce inclusion/exclusion criteria, Patient evaluation protocol and Database/ web interface implementation.

### Metodologia

The study can be briefly described as follows: i) putative functional variants will be identified and functionally characterized (both in silico and in vitro); ii) clinical data, as well as DNA samples from a population of patients selected according to inclusion criteria and with negative genetic analysis for known monogenic diseases will be collected. A control age matched population will also be selected and DNA samples collected; iii) a Bio-bank will be created to store DNA samples; iv) the frequency of identified variants will be evaluated in patient/control population together with the impact of other risk factors.

Most of the tasks will take place concurrently and particular attention will be posed in coordinating and making available inherent information among the participating units. To this aim, a relational database will be implemented and made available to the participating units by means of a web interface. The same database will represent the main output of the project and will be made available to the scientific community at the completion of the project.

The project can be conveniently subdivided in 10 work packages. These work packages are described below as well as general details about pertaining methods (further and specific details can be found in each participating unit's sections).

Coordination / Indicators monitoring (WP01): The coordination and management of the project have the purpose of integrating the different approaches and coordinating the research activities of the participants. The database will be the major instrument to monitor the project progression.

Protocol definition (WP02): Aim of this WP is to define criteria for patient inclusion/exclusion and to carefully select the variables to be collected during the study and that will be stored in the database. Part of the inclusion/exclusion criteria will comprise positive family history or diagnostic suspects for Monogenic diseases (see WP07). Secondary causes for cerebral injuries such as metabolic, toxic and infective conditions will be carefully evaluated among the inclusion/exclusion criteria. The selection of patients who had suffered from a stroke during prenatal period will be performed among all the hospitalized patients with cerebral palsy. For each single patient, detailed

clinical and instrumental protocols will be administered to recognize those who experienced an ischaemic event during the foetal period. A data collection protocol will be also defined so as to address all relevant risk, environmental, familial, pharmacological and clinical information about the enrolled population. Also, relevant variables will be specified and included for the control population such as age, ethnic origin, dietary, smoking and drinking habits.

Database / Web interface (WP03): The database represents the most important instrument by which Participating Units will exchange pivotal information during the project. It will be implemented based upon protocol definition (WP02) and extended to the whole information required and managed during the project. Technically it will be a SQL relational database running on a server dedicated machine (backup systems are available). Particular care will be posed in developing a suitable web interface that could face both the needs of data collection, information exchange and dissemination, as well as monitoring needs.

Genes selection / Putative functional variant identification (WP04): The objective of this work package is to identify functional variants in a set of genes selected on the basis of their participating in specific pathways or systems. Genes lacking extensive resequencing data will be resequenced in individuals with different ethnic descent. Population genetics techniques will then be applied to identify gene or gene regions subjected to non-neutral evolution. As soon as a variant will be identified, its description will be inserted in the database. Further details are available in the method section of participating unit EMB.

Variant Functional Characterization / in silico (WP05): Identified regions will be evaluated by means of computational/bioinformatics approaches in order to identify and characterize single functional variants.

Variant Functional Characterization / in vitro (WP06): Also, whenever possible, in vitro analyses will be performed to test the effect of putative functional variants on protein function, transcription levels and splicing efficiency.

Population selection / Monogenic disease screening (WP07): The study population will be constituted of patient with first ever stroke or perinatal ischaemic injury. The patients, aged between 0-45 years, will be admitted in the participant cen-

tres, during the study period. While for perinatal events only ischaemic injuries will be considered, both ischaemic or haemorrhagic strokes will be accepted for non perinatal events. The activity of the WP will consist in the application of Inclusion/Exclusion criteria defined along with the protocol (see WP02), to select the patient population. In particular patients with positive family history or diagnostic suspects will be screened for a number of rare monogenic diseases typical of infancy or young adult patients. Three participant hospitals will be involved. IRCCS E.MEDEA (p.u. EMMB) has an extensive experience in children disorders care and rare neurological genetic diseases diagnosis and will therefore collect patients ranging in age between 0 and 15 years; the expected contribution is of approximately 20 patients and 20 controls. IRCCS Ospedale Maggiore, which has a wide experience in stroke care and admits a large number of stroke cases every year, will contribute with about 100 cases and 100 controls. Bambino Gesù Children Hospital will contribute with about 50 patients and 50 controls in developmental age (0-18).

Data and Biological sample collection (WP08): Biological samples for DNA study will be collected on the day of admission. For perinatal events, mother's blood sample will be collected, as well. An informed consent will be obtained from parents or their legal tutor. The blood samples for genetic studies will be collected for every patients enrolled in the study and for the mothers of prenatal stroke patients. The DNA samples of all participant units will be stored in our Department to constitute a DNA biobank (WP9) The DNA samples will be stored in locked freezers. Storage and ownership of the samples will be in accordance with the European biobank laws.

DNA bank construction and management (WP09): After obtaining informed consent, biological samples will be collected from patients (and mothers for perinatal events). Genomic DNA will be extracted and stored. These samples from all participants units, will constitute the DNA Biobank.

Patient genotyping (WP10): Information about functional variants identified and on availability of DNA samples will be retrieved from the database. Whenever a new variant will be available, it will be screened in all the patients and controls available at the moment. The same will happen whenever a new DNA sample will be available. Genotyping results will be immediately annotated

in the database. A suitable statistical framework will be implemented to evaluate case/control differences in each variant distribution and applied repeatedly whenever new data will be available. Detailed methods for genotyping and statistical analyses are reported in the methods section of the unit EMB.

Integration and Dissemination (WP11): The database will at the same time represent the most important way the results of the project will be integrated and disseminated. Since, during the project, it will be accessible by means of a dedicated web interface it will be straightforward, after the project completion, to make it available to the scientific community.

### Trasferibilità dei risultati e dei prodotti

The data generated by the project will provide information concerning the genetic predisposition to juvenile stroke and perinatal ischaemic injury. The project will collect a cohort of well characterised patients and both phenotype and genotype data will be organized in a database to facilitate information sharing among participants.

Therefore we expect that our findings to increase the possibility:

1. to discover new gene variants that may underlie disease processes
2. to increase our understanding of key biological processes for stroke/ischaemic injury pathogenesis
3. to provide the foundation for more extensive functional studies concerning genetic variation in other diseases
4. to be a prototype for the application of an evolutionary framework to other multifactorial diseases

Identification of disease-associated variants and, therefore, of genetic risk factors is usually regarded as fundamental in addressing complex diseases. This is the reason why a considerable effort has been placed in recent years on association studies for different complex diseases. Indeed, identification of genetic risk factors allows: i) counselling in families with segregating variants; ii) development of preventive treatments for at-risk subjects; iii) clarification of disease aetiology.

The direct transferability to clinical practice of these three points is immediately evident. Yet, given the approach we plan to develop, we aim at the identification of functional disease alleles, which, as reported above, designate directly involved

polymorphisms rather than associated variants. This is expected to increase the potential transferability of our results. First, functional variants provide better information concerning aetiology: the mechanisms responsible for disease presentation can be addressed in more detail and the specific contribution of the polymorphism can be tested. Second, subjects carrying rare recombination events are not misclassified. Third, results are less affected by ethnicity (linkage disequilibrium and allele frequencies vary in ethnic groups). Fourth, the identification of functional variants can be regarded as a first step in the development of therapeutic interventions (for example, drug designing requires the molecular target to be exactly known).

All these points add to the potential transferability of our results in clinical practice.

It is clear that clinicians associated with the project will facilitate the translation of the research into practice.

Since this project is thought of as a prototype for the application of an evolutionary framework to other multifactorial diseases, we consider that another important impact of our results might involve research groups dealing with other complex diseases who may benefit from the application of similar integrated approaches. Finally we consider that the creation of an integrated database might represent a relevant result since it will facilitate information sharing among participants and dissemination of results to the scientific community.

### Output del progetto

The database will represent the principal output of the project. It will contain information about functional variants with a putative role in juvenile stroke or perinatal brain ischaemic injury, their functional characterization, their relative representation in patients and controls as well as patient information about well defined variables possibly representing non genetic risk factors for stroke.

A report will be released bi-monthly about the general progression of the project highlighting specific results obtained which can be of particular interest for the participating units. Concerning inclusion/exclusion criteria and patient evaluation protocol a specific document will be produced and made available on the web interface of the project. A manual as well as a description of the web interface and database usage will also be produced and distributed.

At the end of the project the database will be made accessible to the whole scientific community. Since the project is meant to be a prototype for similar studies applied to different diseases, a detailed description of the methods and organization and the whole documentation produced will be also made accessible.

**RICERCHE EUROPEE,  
REGIONALI, TELETHON,  
FINANZIATE  
DA ALTRI ENTI**

---

**RAZIONALI**

## EUROPEAN NETWORK OF REFERENCE FOR RARE PEDIATRIC NEUROLOGICAL DISEASE “NEUROPED”

**DOTT. CLAUDIO ZUCCA**

e-mail: CLAUDIO.ZUCCA@BP.LNF.IT

### Linea di ricerca n.4

Neurofisiopatologia

### Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

### Periodo di svolgimento

Aprile 2008 - aprile 2010

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Ente proponente

Research medical and public health program

### Ente coordinatore

Hospices Civils de Lyon

## ABSTRACT

The proposed here European Reference Network for Rare Pediatric Neurological Diseases addresses the Priority Area 2.1 on Health Information and, particularly the Action on developing Strategies for information exchange for responding to non-communicable health threats. It specifically addresses the needs of patients and health professionals of validated information on these diseases; of early and correct diagnosis; of gaining new knowledge into these diseases as well as for developing and timely access to new therapeutic interventions. NEUROPED will focus on a number of such conditions, among which Alternating Hemiplegia of Childhood(AHC), Narcolepsy and Rare Surgically Treatable Epileptic Syndromes( RSTES) to include Tuberous Sclerosis; Sturge-Weber; Hypothalamic hamartoma, Landau- Kleffner syndrome and Rasmussen's encephalitis. An international team of 13 partners from 9 European countries, experienced in working together, will attempt to systematically network, collaborate and involve a large number of partners to achieve the project objectives:

- Establish a European Reference Network on Rare Nervous System Disorders in Children;

- Integrate Patients in the European Network; Identify main research, health care and social needs per each of selected diseases;
- develop audited guidelines on diseases of rare nervous system in children with paroxysmal attacks;
- Build European-wide patient Registries for prospective studies on AHC, Narcolepsy and RSTES;
- Identify specific ethical issues and Best Practice related to field, the Network and the use of Patient registries;
- Spread the Network expertise throughout Europe.

NEUROPED will run for three years and will aim to contribute to reshaping this field by gathering and involving all stakeholders and expect to have a positive impact for lives of people affected by these conditions.

## COURAGE IN EUROPE-COLLABORATIVE RESEARCH ON AGEING IN EUROPE “COURAGE”

**DOTT. ANDREA MARTINUZZI**

e-mail: ANDREA.MARTINUZZI@CV.LNF.IT

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

### Periodo di svolgimento

In attesa di definizione

### Polo scientifico

Conegliano

### Ente proponente

FPVII° Healt-2007-3.2.6 Collaborative Project-Small or medium-scale focused research project

### Ente coordinatore

Fondazione IRCCS Istituto Neurologico “Carlo Besta” Milano

## ABSTRACT

Researches into the projected demographic impacts on health systems have historically focused on the impact of increased younger populations, and determinants that affect the health of individuals as they age. With an ageing population, living longer and encountering more disabilities, there will be a need in Europe for valid and comparable longitudinal data on the health of both young and older adults in order to create a richer empirical basis for analysis. The European Commission identified the challenges of population ageing to be among the most pressing policy issues in the 21st century. In response to the March 2000 Special European Council in Lisbon, it called for the establishment of a European Longitudinal Ageing Survey. What is needed are valid and reliable outcome measures for good statistics, and innovative measurement instruments for cross-population comparative analyses. The objective of these measures and analyses methodologies would be to increase our scientific capacity to produce comparable longitudinal information on non-fatal health outcomes – both

mental and physical – as well as reliable data on the linkages between health status, quality of life and well-being. These measures would reflect the fact that ageing is a process, and the measurement of determinants of ageing can be done at various stages of life. These needs are the background against which this project called COURAGE in Europe - Collaborative Research on Ageing in Europe, is being developed.

So there is a need to measure these elements independently and against the background of the clear conceptual framework of health provided by WHO's International Classification of Functioning, Disability and Health – ICF (WHO, 2001; Leonardi et al., 2006).

Specifically, the aim of the COURAGE in Europe project is to produce instruments that will aid researchers in answering the following scientific questions: 1) Is ageing of the population the major driver of future European epidemiological trends and burden of illness? 2) Is the compression of morbidity phenomenon evident in Europe's ageing population? 3) Is it possible to measure determinants of ageing and compare them across populations? 4) What are the major determinants of ageing related outcomes, and specifically what is the role of the built environment and social networks in influencing these outcomes? 5) Is ageing connected with a decrease in quality of life? 6) Is ageing connected with a decrease of well being?

The ICF makes it possible to define individual levels of health in terms of objective states of capacities to function in a given set of domains, whereas a person's quality of life is entirely a matter of their subjective appraisal of those states irrespective of the actual level of health. COURAGE in Europe will develop the instruments and will also collect information on two key environmental factors that are potential determinants of disability, namely the built environment and social networks that results in social cohesion.

COURAGE in Europe will try to respond to this need in producing innovative instruments for data gathering in an ageing Europe.

COURAGE in Europe the general scientific and technical objective of the COURAGE in Europe project is to develop and validate ICF-based tools to measure health outcomes (both physical and mental), quality of life, and well-being in an ageing populations and, thereby, to find and empirically substantiate determinants of ageing across population. The project will develop measures that will be sensitive to change over time,

across populations and capture epidemiological transitions. This research will create a valid and reliable scientific evidence base on ageing, that is comparable across countries in Europe and internationally.

The methodology will produce, by means of these instruments, comparable data on non-fatal physical and mental health outcomes, quality of life and well-being in an ageing population.

## OPTIMIZATION OF STEM CELL THERAPY FOR DEGENERATIVE EPITHELIAL AND MUSCLE DISEASES - OPTISTEM

**PROF. EMILIO CLEMENTI**

e-mail: EMILIO.CLEMENTI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

### Periodo di svolgimento

In attesa di definizione

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Ente proponente

FPVII° Healt-2007-1.4-6. Large collaborative project

### Ente coordinatore

Fondazione San Raffaele del Monte Tabor- Milano

## DESCRIZIONE

This proposal aims to develop new strategies which will lead to increased efficacy of clinical trials with adult, tissue stem cells for degenerative diseases of epithelia and skeletal muscle.

Extraordinary progress in the understanding of several key features of stem cells has been made in the last ten years, including definition of the niche, identification of signals regulating mobilization and homing as well as partial understanding of the mechanisms controlling self-renewal, commitment and differentiation (Smith, 2006). This progress has produced invaluable tools for the development of rational cell therapy protocols that have yielded positive results in pre-clinical models of genetic (Sampaoli et al. 2006) and acquired diseases (Allan et al. 2007) and, in several cases, have entered clinical experimentation with positive outcome (Mavilio et al. 2007, Erbs et al. 2007). In addition, novel pharmacological treatments that synergize with stem cell therapy have been implemented successfully in animal models of disease. It is obvious that much work remains to be done to increase our knowledge of the mechanisms regulating development, homeo-

stasis and tissue repair, and thus provide new tools to implement the efficacy of cell therapy trials. Additionally, there is an urgent requirement to address transplantation related issues, such as engraftment, angiogenesis, tissue remodeling and modulation of the immune response. In general, successful cell and gene therapy necessitates continuous interaction among biologists, clinicians and patient working groups in the context of different tissues and diseases.

Despite many structural and functional differences, epithelia and skeletal muscle share some key features such as spatially ordered cell architecture, almost devoid of extra-cellular matrix and centered on a supporting basal lamina to which stem cells are anchored (Cossu and Tajbakhsh, 2007). Indeed mutations in structural proteins linking the cell membrane to the basal lamina are responsible for similarly devastating diseases such as muscular dystrophies and different forms of epidermolysis bullosa (Uitto et al. 1996).

This multi-tissue approach also leads to the additional benefit of jointly addressing and solving regulatory issues and ethical problems related to these novel procedures. Finally, sharing expensive platforms such as large animal facilities and GMP cell culture facilities increases performance and reduces costs. Based on these considerations, a network of internationally recognized experts who are leaders in their specific field, has been assembled, with the assumption that work carried out in one system may also benefit the other, creating a synergistic approach that will in the end increase the chance of success for ongoing and future clinical trials with stem cells, an integral part of this proposal. Importantly, participants of this network have achieved the first successful cell therapy with genetically corrected epidermal stem cells in a human genetic disease (Mavilio et al. 2007) as well as the first successful cell therapy in a large animal model of muscular dystrophy (Sampaolesi et al. 2006).

The network includes internationally recognized muscle and epithelial cell biologists, immunologists, experts in angiogenesis, tissue remodeling and pharmacology as well as two Companies whose role will be focused on the characterization and in vitro amplification of human stem cells for therapeutic purposes. Furthermore, many of the participants are continuously engaged in public discussion (radio, tv, newspapers) in their own country thus directly disseminating scientific knowledge to the general public as well as to a more specialized audience, through scientific meetings, workshops and summer schools.

## **ATAXIC DISORDERS AND PHARMACOLOGICAL TREATMENTS: USE OF AN ANIMAL MODEL TO UNDERSTAND THE MOLECULAR BASES OF NEURODEGENERATION AND TO IDENTIFY POSSIBLE THERAPEUTIC TARGETS**

**PROF. NEREO BRESOLIN**

e-mail: NEREO.BRESOLIN@BPLNF.IT

### **Linea di ricerca n.5**

Neurobiologia

### **Tipo di ricerca**

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

### **Periodo di riferimento**

25/05/2007 – 24/05/2009

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

### **Ente proponente**

Istituto Superiore di Sanità

### **Ente coordinatore**

IRCCS "E. Medea"

## **DESCRIZIONE**

Inherited ataxias are a heterogeneous group of neurodegenerative disorders characterized by the progressive degeneration of cerebellum, brainstem and spinocerebellar tracts with a variable combination of signs of central and peripheral nervous system involvement.

In the last few years, much progress has been made in the identification of the responsible genes increasing our knowledge about the pathological mechanisms of these disorders.

On the basis of the mode of inheritance, hereditary ataxias are classified as autosomal dominant, autosomal recessive, X-linked and of mitochondrial origin.

The onset of recessive ataxias is generally in early childhood or infancy and presents both neurological and multisystem involvement, including cardiac alterations, endocrine and immunological disfunctions.

More recently an important aspect has been asso-

ciated to some forms of ataxia, the Coenzyme Q 10 deficiency. No data about the possible causal relation between the coenzyme deficiency observed and the ataxic phenotype is now known.

The pathogenesis of recessive forms is basically associated with a “loss of function” of specific cellular proteins involved in metabolic homeostasis like in Friedreich, or DNA repair mechanism (ataxia-Teleangectasia).

Among the disorders with autosomal dominant inheritance, spinocerebellar ataxias (SCAs) are the largest family. Indeed, a prevalence of about six cases per 100.000 is assumed, but this may be an underestimation.

The clinical diagnosis of specific subtypes is complicated by the huge overlap of the different forms and by the phenotype variability within a distinct genetic subtype. Since the identification, in 1993, of the first gene involved in dominant ataxia (spinocerebellar ataxia type 1) 27 additional gene loci and 11 genes have been described.

SCA 1, 2, 3, 6, 7 and 17 share the same mutational mechanism: expanded repeat of coding CAG sequences, translated into polyglutamine (polyQ) stretch in the corresponding proteins, which are named “ataxins” but which are otherwise unrelated.

Although the disease-causing proteins are expressed widely in the CNS, the polyQ stretch confers a new toxic function for specific populations of neurons in each disease, resulting in characteristic patterns of neurodegeneration and clinical features.

The average age of onset is in the third decade, with large variations among subtypes. Patients exhibit a cerebellar syndrome, which includes ataxia of gait and stance, dysmetria, dysarthria, as well as oculomotor disturbances of cerebellar and supranuclear genesis. As a result of a degenerative process which is not limited to the cerebellum, retinopathy, optic atrophy, spasticity, extrapyramidal movement disorders, peripheral neuropathy, sphincter disturbances, cognitive impairment, and epilepsy are often associated.

Despite the fact that cellular and animal models have allowed a remarkable progress in our understanding of the pathogenesis of polyQ diseases, several aspects still need to be clarified for the development of rational and efficacious therapies.

One of the best studied mouse model of dominant ataxia is the SCA1 mouse model which overexpresses a full-length human SCA1 cDNA with a large repeat expansion (82Q) specifically in Purkinje cells (a cell type highly specialized for cerebellar function). The homozygous SCA1 B05/

B05 82 Q mouse shows earlier onset of ataxia and more severe neuropathological changes than heterozygous B05/+ 82Q line.

In SCA1 mice a long interval is present between the onset of neurological dysfunction and Purkinje cell death, raising the question of whether the dysfunctional neurons are able to recover if mutant ataxin-1 expression was to be halted by specific treatment.

The importance of Purkinje cells in the onset of clinical manifestations of SCA is outlined by the fact that they are the main target of other neurological diseases in which ataxia represents a component of clinical phenotype. Similarly, the acid sphingomyelinase (A-SMase) deficient mice (Niemann Pick mouse model) show an ataxic phenotype and a Purkinje cells dysfunction during the early stage of disease like in SCA1. Acid sphingomyelinase (A-SMase) catalyzes the degradation of sphingomyelin to phosphorylcholine and ceramide, a second messenger in the sphingolipid metabolic pathways. Recent data show that ceramide plays a relevant role in PuC cells survival and apoptosis.

The correlation between A-SMase activity and onset of ataxic signs in mouse remains largely unknown.

This proposal is focused on the clinical and genetic characterization of a large sample of ataxic patients in order to create well defined subgroups of them in which further clinical, functional, biochemical and pharmacological studies can be carried out.

We propose to investigate the level of CoQ10 in different forms of ataxia starting from the selected groups, namely: a) recessive forms associated to oculomotor apraxia; b) episodic forms (EA2); c) sporadic early onset forms negative for mutations in known genes associated to dominant or negative forms of ataxia; d) ataxic patients with alteration in muscle biopsy suggesting mitochondrial functional anomalies after exclusion of the presence of mutations in known genes associated to mitochondrial encephalopathies.

In parallel, we propose also to perform a biochemical and functional characterization of a specific mouse model of SCA1 B05/+ 82Q. Analysis of the involvement of the A-SMase and sphingolipids transduction pathway and elucidation of the mitochondrial role in SCA1 B05 82Q mice will be carried out. In addition we will investigate the correlation of this early metabolic change, specific for Purkinje cells, with the time course of the disease. Identification of potential pharmacological targets

during early disease stages when the PuC pathology is completely reversible will be performed. Overall this project should allow to obtain relevant information about ataxic disorders and in particular about the molecular mechanisms underlying the specific type of cellular degeneration associated to ataxia. These data provide information about the possibility of any pharmacological intervention during the early stages of Purkinje cells degeneration before starting of cell loss shedding light also on the reversibility of the SCA1 phenotype by pharmacological treatment.

## **CALLOSAL AGENESIS: A BRAIN MALFORMATION WITH POLIGENIC ORIGIN. IDENTIFICATION OF CANDIDATE GENES AND LOCI THROUGH A MULTIDISCIPLINARY APPROACH OF CLINICAL, CYTOGENETIC AND MOLECULAR STUDIES OF A LARGE SET OF PATIENT WITH CORPUS CALLOSUM ANOMALIES**

**DOTT. RENATO BORGATTI**

e-mail RENATO.BORGATTI@BPLNF.IT

### **Linea di ricerca n. 1**

Neuropatologia

### **Tipo di ricerca**

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

### **Periodo di riferimento**

25/05/2007 – 24/05/2009

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

### **Ente proponente**

Istituto Superiore di Sanità

### **Ente coordinatore**

IRCCS "E. Medea"

## **DESCRIZIONE**

The Corpus Callosum is the largest fibre in the brain and connects neurons in the two cerebral hemispheres. Its principle cognitive function is to coordinate and transfer information between the left and right brain. Agenesis of corpus callosum (ACC) can manifest as partial or complete agenesis or hypoplasia across the entire structure. The clinical profile of patients with agenesis or dysgenesis of the corpus callosum varies from mildly affected to profound neurodevelopmental impairment. Indeed, absence of corpus callosum is often associated with cognitive deficits, autism and epilepsy.

Some individuals with ACC have intelligence quotients within the normal range. However recent evidence suggests that some of these individuals

are more susceptible to behavioural and neuropsychiatric problems (in children) and thus learning difficulties, sleep disorders, language and social communication disorders and visuospatial attention deficits. Moreover ACC may occur as an isolated malformation or as a component of more complex malformation syndrome. Nowadays, over 50 different human congenital syndromes are characterized by partial or complete ACC. Its incidence varies as a function of both diagnostic techniques and sample populations.

In most cases, the cause of ACC is not known. There is not substantial evidence for recurrence within families, and there are reports of ACC patients with cytogenetic abnormalities. This combination of data lead to hypothesize that ACC may be caused by de novo genetic changes. Genetic defects responsible or associated to pure form ACC are not known. In order to find the gene/s involved in this brain malformation different approaches can be used. Since several studies have been conducted in mouse models concerning the molecules regulating the corpus callosal development and several genes have been identified. These encode molecules belonging to different categories such as guidance molecules/receptors, transcription factors, extracellular matrix molecules, signalling/cytoplasmic molecules, growth factors. Mutations in these genes have been shown to cause malformation in corpus callosum development in mouse. Although data available suggest the possibility that different mechanisms may regulate the development of the corpus callosum across its rostrocaudal and dorsoventral axes, in human and mice, it's reasonable to hypothesize that also in human, a large number of genes with evolutionary conserved functions might be involved in callosal development. Therefore one group of candidate genes for being involved in ACC in human includes human homologues of the mouse proteins regulating corpus callosum formation in mice.

In addition to that, in human several cytogenetic abnormalities were found in patients with ACC or callosal dysgenesis. Consequently, the regions involved in these rearrangements are candidate loci for corpus callosum anomalies.

We recently reported a cohort of 63 ACC patients, referred to our Institute for a neuropsychiatric disorder, well characterized from the clinical, neuro-radiological and cytogenetical points of view.

Genetic analysis of this cohort of patients allowed us to identify 7 cytogenetically detectable chromosomal abnormalities involving chromoso-

mes 8p23, 4p15, 10q11, 10p and chromosome 21 trisomy. By fluorescence in situ hybridization analysis using subtelomeric probes we identified 3 subtelomeric rearrangements, involving chromosome 13 and chromosome 1 (1p36 and 1q44). In all the cases presenting callosal agenesis associated with chromosome and subtelomeric rearrangements mental retardation, major congenital malformations and facial dysmorphisms were present.

In this proposal we focus on three different tasks: search for altered genomic copy number by genomic microarray analysis in all patients with normal karyotype; selection and mutation analysis of candidate genes for ACC in patients negative to the cytogenetic screening therefore without chromosomal rearrangements. The genes will be analyzed belong to the categories above mentioned either homologue of mouse genes involved in callosal formation or mapping to the candidate regions revealed by cytogenetic abnormalities detected in ACC patients. In parallel we want to expand our patient collection by recruiting and characterizing both from the clinical and cytogenetic point of view new cases referring to our Institute.

The results stemming from this project will generate information concerning novel genes involved in ACC and therefore novel diagnostic tools for this disease. Genetic markers associated to this brain malformation will also provide important clues to the complex developmental processes required for formation of the corpus callosum which in turn may provide some insight into why such a large number of human congenital syndromes are associated with agenesis of this structure.

## CLINICAL FUNCTIONAL, BEHAVIOURAL AND GENETIC CHARACTERIZATION OF A LARGE GROUP OF ITALIAN CDLS PATIENTS AND SEARCH FOR MUTATIONS IN NEW CANDIDATE GENES OF THE COHESION-CONDESIN COMPLEX

**DOTT. RENATO BORGATTI**

e-mail: RENATO.BORGATTI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.1

Neuropatologia

### Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

### Periodo di riferimento

15/05/2007 - 14/05/2009

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Ente proponente

Istituto Superiore della Sanità

### Ente coordinatore

IRCCS Fondazione Policlinico Regina Elena Mangiagalli-Milano

## DESCRIZIONE

### Rationale and Objectives of the WP Medea

Cornelia de Lange syndrome (CDLS) (MIM 122470) is a developmental disorder mainly characterized by pre- and post-natal growth deficiency, microcephaly, typical facial dysmorphisms and delay in achieving intellectual and language skills; hirsutism, smallness of hands and feet or more severe limb reduction defects are very frequent. Several possible major malformations are described but none of them is essential for the clinical diagnosis. The syndrome is accompanied by many different and complex medical complications, mainly involving the gastrointestinal, ocular, hearing and skeletal apparatus (Ptacek et al., 1963; Hawley et al., 1985; Jackson et al., 1993; Ireland et al., 1993). The great variability of the clinical and functional phenotype of CDLS was pointed out in 1993, when Van Allen et al. hypothesized the existence of classical and

mild forms of the disease according to a simple list of clinical features (Van Allen et al. 1993).

Most of CDLS patients show a moderate-severe cognitive impairment despite reports of normal cognitive development (Kline et al., 1993; Gadoth et al., 1982; Cameron et al., 1988; Howard et al., 1993; Lacassie et al., 1999). Several studies documented the presence in CDLS of verbal and nonverbal communication difficulties (Barr et al. '71; Moore M. V. '70; Joubin et al.). First reports of the behavioral phenotype of CDLS mentioned self-injurious behavior, aggressiveness, stereotyped behaviors and autistic features (Bryson et al., 1971; Shear et al., 1971; Johnson et al., 1976). Among these studies, the larger patient samples can be found in Gualtieri (1991 – 1993), Sarimski (1997), Berney et al. (1999), Hyman et al. (2001). These studies show that the above behavioral aspects are not representative of the whole CDLS population but only of a proportion that is more significantly affected by mental retardation. In the others cases, in addition to the above behaviors disturbances, mood disorders, hyperactivity, attention disorder, oppositional behavior and obsessive-compulsive disorder were described.

During 2004 two different research groups (Tonkin et al, 2004; Krantz et al, 2004) identified the NIPBL gene as the candidate involved in CdLS. Following studies showed the occurrence of frameshift, nonsense, missense and intron splicing mutations at a frequency ranging from 35% (Bork et al 2004) to 56% (Bhuyian et al, 2005). Some preliminary phenotypic differences between mutation-positive and mutation-negative individuals were been identified. The results so far obtained also suggest a trend towards a more severe clinical phenotype in NIPBL mutated patients and, within this group a milder phenotype in individuals with missense mutations as compared to other types of mutation. No conclusive behavioural correlation was found with presence /absence and type of NIPBL mutation, even if the only detailed analysis has been only recently published (Bhuyian et al, 2005) on 39 CdLS Dutch patients. Very recently mutations in a new gene, SMC1L1, localized on the short arm of chromosome X has been demonstrated in 4 CdLS patients. With reference to this new gene no genotype-phenotype correlations at both clinical, functional and behavioural level have never been performed.

During these years in collaboration with CdLS Italian Association of Parents, more than 60

CdLS patients have been referred at the Scientific Institute “Eugenio Medea” for neurological and psychiatric evaluations. The patients, mainly in developmental age, underwent to several cognitive and behavior assessment with the aim to delineate a special rehabilitation program for schooling or for the management of psychiatric or behavior disturbances.

To improve our knowledge about neurological and psychiatric profile in CdLS the aims of the present WP are:

1. to define the neurological and behavioral profile (with particular attention with self-injury and the autistic-like behavioral pattern) in a large sample of Italian CdLS subjects;
2. to verify the variability of the behavioral pattern according to age, cognitive level, adaptive skills and clinical phenotype (mild or classical);
3. to investigate the feasible correlations between different genetic defects and neurological phenotype.

### **Protocols and methods available for the WP MEDEA**

All the participants will refer to the Psychopathology Unit of the Scientific Institute “Eugenio Medea” (Bosisio Parini) for a detailed cognitive and psychiatric evaluations. The assessment protocol includes: a detailed medical history, a standardized neurological examination, the evaluation of cognitive functions and a behavioral assessment by the following instruments:

#### **Cognitive Functioning.**

Wechsler Scales (WPPSI –R , WISC – R, WAIS), Leiter International Performance Scales Revised (Leiter–R), Stanford-Binet and Griffiths Scale according to chronological age, Full IQ and verbal ability.

**Adaptive Skills.** Adaptive skills will be tested by Sparrow’s Vineland Adaptive Behavior Scales (VABS) in its recent Italian adaptation and validation (Organizzazioni Speciali – Firenze 2003). The VABS assesses the adaptive skills of normal subjects aged 0-18 years and of impaired subjects of any age in four domains: Communication, Daily Living, Socialization and Motor Skills. Mothers were asked to score each item according to a 0-2 scale (0 = ability not acquired; 2 = acquired ability). In this study the Vineland Scales - Expanded Form is used to detect, with greater precision, the strengths and weaknesses of the patients. For the purposes of this study,

the total score of the composite scale and the communication skills (age-equivalent scores) will be used.

#### **Behavioral assessment**

The behavioral phenotype will be assessed by a number of scales frequently administered to patients with intellectual disability .

The **Developmental Behavior Checklist - Primary Carer (DBC - P)** (Einfeld and Tonge) taps the presence and severity of behavioral and emotional disorders in MR subjects. The DBC-P which has been used in several studies of intellectual disability, shows satisfactory internal consistency and psychometric properties (Einfeld and Tonge 1992; Einfeld and Tonge 1995). Mothers were asked to state if their child had shown the behaviors investigated by the Scale in the last 6 months.

The scale comprises 96 items investigating 6 behavioral areas: disruptive, self-absorbed, communication-disturbance, anxiety, autistic relating, antisocial behavior. It is scored as follows: 0 (not true as far as you know), 1 (sometimes true), 2 (very true or often true).

The total score is the sum of all items, and indicates the presence and the severity of the behavioral problems.

The **Autism Behavior Checklist (ABC)** comprises 57 behavioral items investigating 5 areas: sensory, relating, body and object use, language, social and self-help. Each item is scored on a 1-4 scale according to the frequency and the significance of the investigated behavior. The ABC is often used as screening measure for subjects with a suspected autistic disorder. The total score is the sum of positive items. The ABC has 3 different cutoffs: below 53 – the patient is not autistic; 53-68 – the patient shows undetermined autism; above 68 – the subject shows severe autistic behaviors.

The **Childhood Autism Rating Scale (CARS)** is a behavioral scale differentiating subjects with an autistic behavior from non-autistic subjects. The CARS has been frequently used as screening measure in clinical and research studies. The CARS comprises 15 items investigating autistic behavioral aspects. Each item is scored on a 1-4 scale (1 = normal behavior; 4 = highly abnormal behavior). The CARS has 3 cutoffs: 15-30 (absence of autism); 30-36 (mild autism); 36-60 (severe autism).

The CARS will be completed by two independent

clinicians following observation of the subjects, whereas the DBC, the ABC and Vineland scales will be completed by mothers.

**Expected results of the WP MEDEA**

- Improvement of the knowledge about neurological and psychiatric profile in Italian CdLS for a better management of cognitive and behaviour problems frequently associated with this syndrome.
- Description of one or more developmental profiles typical for CdLS to direct more specific and time related neuro- rehabilitation.
- Genotype/phenotype correlations in CdLS for a more correct genetic counselling.

**IL DISTURBO MENTALE IN ADOLESCENZA: LA COMPARSA DEL BISOGNO, I PERCORSI DEL DISTURBO**

**DOTT. 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

**Periodo di riferimento**

05/03/2007- 05/03/2009

**Polo scientifico**

Bosisio Parini

**Ente proponente**

CCM Ministero della salute – Regione Emilia Romagna

**Ente coordinatore**

ASL di Rimini

**DESCRIZIONE**

**Il contesto**

La rete sanitaria specialistica e di comunità (neuropsichiatria infantile, psichiatria adulti, pediatri e medici di base, servizi sociali) manifesta difficoltà nella rilevazione e presa in carico tempestiva delle situazioni in cui compaiono in adolescenza disturbi mentali di gravità tale che si richiedono trattamenti in regime di ricovero ospedaliero.

Non essendoci ancora una precisa ed adeguata valutazione del fenomeno del ricovero psichiatrico in adolescenza, esso è quindi sottostimato nella sua entità e non ben conosciuto nella sua specificità, sovente per una commistione con episodi di abuso di sostanze che slatentizzano i problemi psicopatologici e rendono difficile una stima attendibile della sua entità. Un ruolo importante giocano anche altri fattori quali la frammentazione dei servizi e la scarsa comunicazione tra rete dei servizi territoriali e ospedalieri, tra servizi di Neuropsichiatria dell'infanzia e dell'adolescenza e quelli di Psichiatria gli adulti; vi sono altresì carenze nei processi di

formazione di neuropsichiatri infantili e psicologi in merito alla presa in carico della sofferenza psichiatrica di particolare gravità. Questi fattori generali si ripercuotono in modo particolare nelle azioni di diagnosi e presa in carico dei disturbi depressivi sia per la varietà delle diverse manifestazioni sintomatologiche che per la loro difficile valutazione prognostica.

### I bisogni

In questo contesto problematico è necessario aumentare le capacità operative dei servizi di Neuropsichiatria infantile di riconoscere i segni di disagio psicopatologico, in una visione di stretto raccordo interservizi al fine di attivare interventi preventivi, di ridurre il rischio di ricoveri impropri e di contenere i processi di stigmatizzazione. Occorre altresì precisare i percorsi di presa in carico dei disturbi internalizzati ed esternalizzati in adolescenza migliorando le capacità di diagnosi precoce e di attivazione di interventi di presa in carico specifici e selettivi, finalizzati a ridurre il manifestarsi del problema in forma acuta in età adolescenziale.

### Gli obiettivi

Il presente Progetto si propone di acquisire informazioni più puntuali su tipologia ed entità dei fenomeni di ricovero psichiatrico in adolescenza e di acquisire, altresì, una prima valutazione di evoluzione, su un campione selezionato, della psicopatologia minore dalla preadolescenza alla adolescenza, finalizzato a sviluppare un miglioramento degli interventi integrati di neuropsichiatria infantile per l'emergenza in psicopatologia adolescenziale e per la presa in carico precoce dei disturbi internalizzati in età preadolescenziale.

### I soggetti protagonisti

Il Progetto sarà coordinato dalla Regione Emilia Romagna, Assessorato Politiche per la Salute - Servizio Salute Mentale in collaborazione con le Unità Operative ASL di Rimini, IRCCS "E. Medea" di Bosisio Parini (Lecco), Struttura Operativa Complessa di NPI di Alessandria, Unità Operativa Complessa "Salute Mentale e Riabilitazione dell'Età Evolutiva" della ASL Roma B.

### I risultati attesi del progetto

Il risultato atteso da questo Progetto è intervenire tempestivamente nella individuazione degli esordi e nella presa in carico delle situazioni in cui compaiono in adolescenza disturbi mentali di gravità tale che si richiedono trattamenti in regime di ricovero ospedaliero.

## MESSA A PUNTO DI PROTOCOLLI DI VALUTAZIONE DELLA DISABILITÀ BASATI SUL MODELLO BIOPSIICOSOCIALE E LA STRUTTURA DESCRITTIVA DELLA CLASSIFICAZIONE INTERNAZIONALE DEL FUNZIONAMENTO DISABILITÀ E SALUTE (ICF9)

**DOTT. ANDREA MARTINUZZI**

e-mail: ANDREA.MARTINUZZI@CV.LNF.IT

### Linea di ricerca n.8

Organizzazione dei servizi

### Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

### Periodo di riferimento

27/09/2007 – 21/05/2009

### Polo scientifico

Conegliano

### Ente proponente

CCM Ministero della salute - Agenzia Regionale della Sanità Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia

### Ente coordinatore

Agenzia Regionale della Sanità Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia

## DESCRIZIONE

### Obiettivo generale

Definire linee guida scientifiche ed operative, nonché una strumentazione preliminare da sottoporre a successiva validazione per l'utilizzo della Classificazione Internazionale del Funzionamento, Disabilità e Salute (ICF) nell'accertamento medico legale della disabilità e come fondamento nella valutazione della disabilità nei processi di presa in carico integrata socio-sanitaria e messa a punto di progetti individualizzati.

### Obiettivo specifico I

Definire le prospettive teoriche, le condizioni operative e le modalità tecniche ritenute essenziali per l'implementazione pratica dell'ICF nel quadro di una valutazione e accertamento unico del funzio-

namento e della disabilità, a supporto dei processi generali di presa in carico della persona con disabilità e nella messa a punto di progetti individualizzati, facendo sintesi della letteratura nazionale e internazionale e delle esperienze specifiche ritenute rilevanti.

### **Obiettivo specifico 2**

Definire modalità e strumenti di accertamento e valutazione della salute e disabilità nei processi di presa in carico socio-sanitaria integrata.

### **Obiettivo specifico 3**

Sviluppo del progetto di applicazione dell'ICF e di strumenti da esso derivati alle politiche attive di inserimento lavorativo delle persone con disabilità, mediante la definizione di un protocollo di valutazione della persona e delle caratteristiche del posto di lavoro.

### **Obiettivo specifico 4**

Orientare la diagnosi funzionale degli studenti con disabilità secondo i principi dell'ICF in stretto collegamento con l'attività di diagnosi, cura e riabilitazione della rete dei servizi che si occupano di disabilità in età evolutiva.

### **Obiettivo specifico 5**

Definire le linee guida per la predisposizione di un sistema informativo nazionale e/o locale in grado di rilevare in maniera omogenea i dati relativi ai processi di presa in carico socio-assistenziale integrata, sia dal punto di vista delle persone interessate (caratteristiche socio-demografiche, condizioni di salute e disabilità classificate secondo i criteri ICF) sia dal punto di vista dei piani individuali predisposti (tipologie di interventi e servizi).

### **Obiettivo specifico 6**

Consolidamento, affinamento e messa a punto di una adeguata strumentazione per la formazione di base e avanzata all'uso dell'ICF e degli strumenti ad essa collegati e in relazione agli strumenti di misura più comuni nell'ambito della valutazione della disabilità.

### **Obiettivo specifico 7**

Azioni di coordinamento generale del progetto e di confronto scientifico con consulenti nazionali e internazionali.

## **LO STUDIO DEL CAMMINO NEI DISORDINI DEL MOVIMENTO IN ETA' EVOLUTIVA**

### **DOTT. ANTONIO TRABACCA**

e-mail: ANTONIO.TRABACCA@OS.LNF.IT

### **Linea di ricerca n.2**

Riabilitazione neuromotoria e neuropsicologia funzionale

### **Tipo di ricerca**

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

### **Periodo di riferimento**

01/07/2007 – 30/06/2008

### **Polo scientifico**

Ostuni

### **Ente proponente**

Fondazione Cassa di Risparmio di Puglia

### **Ente coordinatore**

IRCCS "E. Medea"

## **DESCRIZIONE**

I disordini del movimento descrivono un gruppo di patologie neurologiche caratterizzate da alterazioni qualitative e quantitative dei movimenti spontanei. Nei bambini vi è un'ampia variabilità di quadri clinici, che sono generalmente rappresentati da:

- Atassie
- Paralisi Cerebrali (PC)
- Distonie
- Ipotonia
- Spasticità
- Sindrome di Tourette

L'evoluzione di tali disturbi è strettamente correlata al tipo di danno cerebrale ad essi sotteso, ma altresì alla tipologia del trattamento terapeutico-riabilitativo utilizzato. Lo studio del cammino riveste un ruolo fondamentale nella valutazione di un soggetto affetto da disordini del movimento. L'alterazione della deambulazione compromette la qualità di vita del paziente e ciò giustifica i numerosi studi finalizzati a definire le caratteristiche del cammino, per progettarne la rieducazione. Misurazioni biomeccaniche di cinematica, cinetica ed attività elettromiografica e di consumo di ossigeno sono essenziali per dare un quadro completo delle caratteristiche del passo, accanto alle analisi osservative che sono, a tutt'oggi, lo strumento maggiormente utilizzato per la scelta del trattamento

terapeutico più idoneo. La valutazione oggettiva e ripetuta nel tempo dei dati acquisiti permette di mettere in atto tutte le strategie pre- e post- trattamento indirizzate ad ottenere un esito positivo e ridurre al minimo il rischio di complicanze.

### Materiali e metodi

Reclutamento di un'ampia casistica di pazienti infan-togiovanili affetti da disordini del movimento, giunti alla nostra osservazione nell'Unità Operativa di Neuroriabilitazione 1 dell'IRCCS "E.Medeo" di Ostuni e nei Centri di Riabilitazione extraospedaliera dell'Associazione La Nostra Famiglia di Ostuni, Brindisi e Lecce. Verranno analizzate tutte le variabili clinico-anamnestiche e le caratteristiche neuropatologiche e neurofisiologiche che sottendono il controllo motorio statico e dinamico di ogni singola patologia. Saranno, dunque, valutati gli aspetti cinematici e cinetici dell'alterazione del movimento, ed in particolar modo il pattern del cammino, che sarà esaminato quantitativamente attraverso elettromiografia (EMG) di superficie e qualitativamente attraverso registrazione video digitale ad alta risoluzione da diverse angolazioni in maniera sincrona ai segnali cinematici dell'EMG. Normalmente il cammino è un processo estremamente efficiente e le sue alterazioni rispetto alla norma, comportano un aumento del costo energetico. Per tal motivo, le valutazioni cinetico-cinematiche suddette saranno integrate simultaneamente dalla valutazione del consumo energetico mediante ergospirometro portatile (K4). Al fine di valutare le ricadute sulle caratteristiche del cammino, dei diversi trattamenti terapeutico-riabilitativi, verranno effettuate valutazioni complete del cammino nelle seguenti condizioni cliniche: - pre e post-intervento di tossina botulinica per il trattamento della spasticità nelle PC, - pre e post-intervento di chirurgia ortopedica funzionale - pre e post-farmacologia orale per il controllo di disordini del movimento - pre e post-impianto di pompa per infusione intratecale di baclofen - pre e post-interventi riabilitativi intensivi con o senza l'ausilio di ortesi.

### Risultati attesi nei bambini con disordini del movimento

Tali valutazioni consentiranno di definire con maggior precisione le tipologie di pattern patologico che determina l'alterazione della performance motoria, una più precisa definizione della gravità del fenotipo clinico, sia per individuare criteri prognostici certi, orientativi di un progetto terapeutico-riabilitativo mirato e di verifica dei risultati, oltre che effettuare il follow up degli interventi terapeutici attuati, siano essi riabilitativi, farmacologici o chirurgici. Le informazioni quanti-

tative e qualitative ottenute da questo studio permetteranno l'individuazione di fattori che consentono una prognosi clinico-terapeutica affidabile consentendo, dunque, sin dalle prime fasi di ogni singola patologia, una appropriata conduzione del caso, programmi di intervento terapeutico-riabilitativi più mirati, sicuramente fondamentali per migliorare le abilità nel movimento e la qualità di vita dei bambini con disordini del movimento.

### Fasi della ricerca

La ricerca si svolgerà nel corso di 12 mesi. Nei primi 4 mesi verrà reclutata l'intera casistica che sarà sottoposta alle valutazioni cliniche neurologiche. Nei successivi 6 mesi si procederà allo specifico studio neurofisiologico del cammino mediante EMG di superficie, videoregistrazione e misurazione del consumo energetico mediante ergospirometro (K4). Negli ultimi 2 mesi si valuteranno i risultati con la successiva pubblicazione degli stessi.

### Bibliografia

- Coutts F. GAIT ANALYSIS IN THE THERAPEUTIC AND 'SPASTIC' GAIT IN CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY. *Neurosci Biobehav Rev.* 1998 Jul; 22(4):571-8. Review
- Crenna P, Frigo C. A MOTOR PROGRAMME FOR THE INITIATION OF FORWARD-ORIENTED MOVEMENTS IN HUMANS. *J Physiol.* 1991 Jun;437:635-53
- Patikas D, Wolf SI, Schuster W, Armbrust P, Dreher T, Doderlein. ELECTROMYOGRAPHIC PATTERNS IN CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY: DO THEY CHANGE AFTER SURGERY? *Gait Posture.* 2006 Nov 29
- Chang FM, Seidl AJ, Muthusamy K, Meininger AK, Crollo JJ. EFFECTIVENESS OF INSTRUMENTED GAIT ANALYSIS IN CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY-COMPARISON OF OUTCOMES. *J Pediatr Orthop.* 2006 Sep-Oct;26(5):612-6
- Cahan LD, Adams JM, Perry J, Beeler LM. INSTRUMENTED GAIT ANALYSIS AFTER SELECTIVE DORSAL RHIZOTOMY. *Dev Med Child Neurol.* 1990 Dec;32(12):1037-43
- Toyoshima E, Mano Y, Ando K, Ishihara T, Miyazaki S, Yamashita Y, Mayer RF. RECORDING AND ANALYSIS OF GAIT FOOT-FORCES USING TELEMETRIC FORCE-TRANSDUCERS IN PATIENTS WITH DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY. SERIAL ASSESSMENT OF THE PATHOLOGICAL GAIT. *Electromyogr Clin Neurophysiol.* 1987 Oct-Nov;27(6-7):355-61

## ETEROGENEITA' GENETICA NELLA SLA FAMILIARE: APPROCCIO DI GENOMICA E PROTEOMICA PER L'IDENTIFICAZIONE DI NUOVI GENI RESPONSABILI DELLE FORME DI SLA IDIOPATICA, VALIDAZIONE DEL LORO UTILIZZO PER LA DIAGNOSTICA PRECOCE E COME MARCATORI PROGNOSTICI DI UNA TERAPIA PREVENTIVA

**PROF. EMILIO CLEMENTI**

E-MAIL: EMILIO.CLEMENTI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

### Periodo di riferimento

Anni 2008 - 2010

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Ente proponente

Fondazione Cariplo

### Ente coordinatore

IRCCS "E. Medea"

## DESCRIZIONE

La Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) è una patologia ad esito fatale caratterizzata da degenerazione del I e II motoneurone. Noi ci proponiamo di evidenziare nuovi meccanismi patogenetici nella SLA che possano fornire una strategia per un intervento terapeutico preventivo e per una diagnosi migliore. Il problema verrà affrontato con un approccio di proteomica e genomica totalmente innovativo rispetto agli approcci sino ad oggi impiegati; utilizzeremo come chiave di lettura della patologia la SLA giovanile, osservando le alterazioni primarie presenti, spesso precocemente al danno neuronale, nel tessuto muscolare scheletrico, convalidandole poi con un'analisi morfo-funzionale sull'unità neuromuscolare. In particolare ci concentreremo sulla identificazione di interattori e di vie di trasduzione attivate da geni associati alla SLA giovanile ALS2 e ALS4, e ne convalideremo il signifi-

ficato patogenetico, diagnostico, e come bersaglio terapeutico in esperimenti in vitro ed in vivo.

### Obiettivi

L'obiettivo finale è identificare nuovi geni candidato per una migliore e precoce diagnosi della malattia e per generare nuovi bersagli terapeutici utili a nuovi approcci di prevenzione della malattia. L'obiettivo sarà raggiunto studiando la fisiopatologia della SLA giovanile, causata da geni diversi da SOD1 ma esitanti in un fenotipo simile, ed attraverso le tre azioni seguenti: 1. identificare interattori proteici e sistemi trasduttivi del segnale attivati e/o associati a proteine coinvolte nella SLA giovanile (ALS2 e 4); valutare se mutazioni patogenetiche in ALS2 e 4 possano influenzare il legame/attività degli interattori proteici neoidentificati; 2. valutare analizzando una casistica di pazienti SLA se questi stessi interattori siano responsabili di forme di SLA per la quale il gene è ancora sconosciuto, o agiscano come modificatori del fenotipo della patologia; 3. studiare i meccanismi fisiopatologici del danno primario muscolare e del motoneurone in corso di SLA giovanile.

### Strategia

L'espressione e il ruolo biologico dei geni in esame verrà valutato in modelli in vitro ed in vivo mediante la generazione di modelli murini. A questa analisi si accompagneranno la identificazione e caratterizzazione di partner molecolari delle forme native e mutate delle proteine espresse dai geni in esame. Il ruolo patogenetico per l'uomo dei geni in esame e dei loro partner molecolari verrà convalidato in pazienti con malattie del motoneurone con esordio in età giovanile. Le strutture e gli strumenti impiegati saranno quelli disponibili nei laboratori di genetica, farmacologia biologia molecolare e cellulare che partecipano al progetto. Useremo colture cellulari, tools di biologia molecolare, farmacologia, analisi biochimica ed immunoistochimica in vitro e in vivo dopo trapianto. L'IRCCS San Raffaele ha la facility per le culture di lievito che si utilizzeranno negli screening two hybrid volti ad identificare partners molecolari delle proteine patogenetiche in esame.

### Risultati attesi

1. Identificazione di interattori proteici e sistemi trasduttivi del segnale attivati e/o associati fisicamente a proteine coinvolte nella SLA giovanile di rilevanza fisiopatologica;
2. validazione del ruolo diagnostico dei geni identificati mediante analisi in un'ampia casistica di pazienti SLA giovanile;
3. caratterizzazione dei meccanismi molecolari della fisiopatologia del danno muscolare, o del motoneurone legati ai geni in esame.

## MOLECULAR BASES OF ALSIN-INDUCED NEURODEGENERATION

**DOTT.SSA MARIA TERESA BASSI**

e-mail: MARIATERESA.BASSI@BPLNF.IT

### Linea di ricerca n.5

Neurobiologia

### Tipo di ricerca

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

### Periodo di riferimento

06/08/2007 – 06/08/2008

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Ente proponente

AFM Association Française contre le Myopathie

### Ente coordinatore

IRCCS "E. Medea"

## DESCRIZIONE

Alsin is the protein encoded by ALS2, the gene responsible of the juvenile recessive form of amyotrophic lateral sclerosis (ALS2) and for partly overlapping conditions such as primary lateral sclerosis (PLS and JPLS) and a juvenile form of ascending spastic paraparesis (IAHSP). This protein contains a number of cell signalling and protein trafficking domains and is involved in vesicular trafficking and endosomal dynamic. The structure of alsin predicts that it functions as a guanine nucleotide exchange factor (GEF) which regulates the activity of members of the Ras superfamily of GTPases. Alsin contains three putative guanine nucleotide exchange factor domains (GEFs), including RCC1, Dbl and pleckstrin homology (DH/PH), and vacuolar protein sorting 9 (VPS9) domains. The specific function associated to these domains is only partly characterized. The majority of ALS2 mutations are nonsense or deletions leading to truncated proteins. The identification of only two missense mutations in RCC1 domains by us and by other authors represents a strong indication that the physiological role of this domain not yet defined is altered in the pathological mechanism/s leading to the disease.

Concerning this issue, most of the studies were performed both in alsin ko mice models and in vitro with mutant proteins carrying some of the truncating mutations identified in the patients. The latter all reveal loss of protein activity and increased protein turnover. On the other hand, the different ko mouse models generated so far do not show obvious developmental, motor or reproductive abnormalities resembling the human disease except for an age-dependent slowly progressive loss of cerebellar Purkinje cells and disturbance of spinal motor neurons associated with astrogliosis and microglial cells activation, indicating a subclinical dysfunction of motor system in ALS2-null mice. This suggests that mouse models are not entirely appropriate to investigate alsin pathophysiological role in humans in vivo. To tackle this issue and to gain insights about alsin function in cell physiology and in degenerative conditions we will generate null mutants for the alsin gene in Drosophila having previously demonstrated together with other groups that Drosophila can be used to successfully model hereditary spastic paraplegia, another upper motor neuron disease. In parallel, we will identify alsin interactors and specifically alsin-RCC1 domain interactors and will characterize them in cell models relevant to ALS pathogenesis (neurons, astroglia and microglia) as well as in alsin-/- flies. The definition of alsin physiological and pathological roles through the different approaches mentioned above should provide relevant clues to the understanding of the mechanism leading to primary lateral sclerosis and more in general for ALS. Because of the difference between alsin and superoxide dismutase (SOD1), the first and better characterized gene associated with ALS, studies of the biological function of wild-type and mutated alsin may complement those obtained from the mutations in SOD1, lead to a better understanding of the pathogenesis of ALS, a better clinical definition of it, and hopefully allow identification of novel targets suitable for therapeutic intervention.

## **STUDIO CLINICO SPERIMENTALE: ASSOCIAZIONE DI FARMACI DONATORI DI NO CON ANTINFIAMMATORI NON STEROIDEI NELLE DISTROFIE MUSCOLARI**

**DOTT.SSA MARIA GRAZIA  
D'ANGELO**

e-mail: GRAZIA.DANGELO@BPLNF.IT

### **Linea di ricerca n.5**

Neurobiologia

### **Tipo di ricerca**

Ricerche svolte con contributi non ministeriali

### **Periodo di riferimento**

Aprile 2008- aprile 2010

### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

### **Ente proponente**

IRCCS "E. Medea"

### **Ente collaboratore**

Parent Project Onlus

## **DESCRIZIONE**

Il trial si prefigge di reclutare 45-60 pazienti di età maggiore ai 18 anni affetti da distrofia muscolare di Duchenne/Becker e da distrofia muscolare dei cingoli (forme autosomico recessive).

Si tratta di uno studio controllato-aperto, in cui un gruppo di soggetti sottoposti a terapia farmacologica sperimentale viene confrontato con un gruppo parallelo di soggetti che invece non assume alcuna terapia.

Lo sperimentatore ed il paziente saranno a conoscenza del trattamento somministrato (o dell'assenza di somministrazione di trattamento).

I pazienti reclutati in base ai criteri di inclusione/esclusione descritti di seguito verranno divisi in 2 gruppi, costituiti da 20-30 soggetti ciascuno in cui siano omogeneamente rappresentati soggetti distrofinopatici e soggetti affetti da distrofia muscolare dei cingoli. Ogni gruppo sarà poi costituito da due sottogruppi:

1) pazienti che assumono ibuprofene (200 mg X 2 die) + isosorbide dinitrato (formulazione retard

20 mg die nel primo mese, e se ben tollerato incrementabile a 40 mg die);

2) pazienti che non assumono alcun farmaco sperimentale.

La fase di reclutamento dei pazienti avrà la durata di 6-8 mesi, durante i quali verranno eseguite le valutazioni necessarie all'inclusione nello studio.

La sperimentazione farmacologica avrà una durata prevista di 12 mesi durante i quali tutti i soggetti verranno monitorati dal punto di vista clinico a scadenze regolari.

Durata complessiva del progetto: 24 mesi.

## PRECURSORI DELLE ABILITÀ MATEMATICHE PREDITTORI DELLA DIDASCALIA EVOLUTIVA

**DOTT.SSA MARIA LUISA LORUSSO**

e-mail: MARIALUISA.LORUSSO@BPLNF.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 riferimento

Anni 2007 - 2009

### Polo scientifico

Bosisio Parini

### Ente proponente

IRCCS "E. Medea"

### Ente coordinatore

IRCCS "E. Medea"

## DESCRIZIONE

### Razionale

La discalculia evolutiva (o disturbo specifico del calcolo) è definita come un disturbo nell'apprendimento del calcolo nonostante istruzione adeguata, in assenza di deficit intellettivi, neurologici o sensoriali e con adeguate condizioni socioculturali (A. P. A., 1994). Questa patologia sembra avere un'incidenza compresa tra il 6.4 e il 10.9% (Lord-Tsur, 1996; Odstad, 1998). Alcuni autori (Kosc, 1974; Butterworth, 1999) suggeriscono un ruolo dei fattori ereditari e genetici nella discalculia evolutiva. Le evidenze empiriche provenienti da diverse aree delle neuroscienze cognitive, tra cui studi comportamentali condotti con soggetti aborigeni (Pica, Lemer, Izard, Dehaene, 2004) e animali (Brannon & Terrace, 2000; Church & Meck, 1983), studi su lesioni (Cipolotti & van Harskamp, 2001), studi di neuroimmagine funzionale nell'uomo (Piazza, Mechelli, Butterworth, & Price, 2002) e simulazioni di reti neurali (Zorzi, Stoianov & Umiltà, 2005) hanno portato i ricercatori a ipotizzare che l'elaborazione del numero nell'uomo rifletta l'operazione di un sistema neurale e cognitivo dedicato, biologicamente determinato, condiviso tra diverse specie

animali. Dehaene (1992) ha proposto un modello teorico (detto "del triplo codice") che spiega le normali abilità di calcolo. Tre codici distinti sono coinvolti in funzioni diverse e sono rappresentati in aree cerebrali distinte: il processamento del codice arabo è coinvolto nelle operazioni con numeri a più cifre ed è rappresentato nelle aree occipito-temporali ventrali bilaterali; il codice dei numeri verbali è coinvolto nei processi di conteggio e nelle tabelline ed è rappresentato nelle aree perisilviane sinistre; la rappresentazione analogica della quantità è rappresentata nelle aree intraparietali bilaterali. Lo stesso Dehaene (2004) suggerisce che la discalculia evolutiva possa essere il risultato di un deficit nel sistema cerebrale specializzato nell'elaborazione della quantità situato nelle aree intraparietali. Nel modello del triplo codice l'autore (Dehaene, 2004) sostiene che ci siano due sistemi che elaborano la rappresentazione della quantità: il primo elabora in modo approssimato grandi quantità (come per esempio nel confronto numerico) e il secondo elabora in modo esatto piccole quantità (come per esempio nel subitizing). Le abilità matematiche di base coinvolgono quindi queste capacità: il subitizing, la percezione di semplici relazioni aritmetiche, l'abilità di stimare grandi numerosità, l'abilità di usare simboli, semplici addizioni e sottrazioni entro il 10, e memorizzare fatti aritmetici. Negli ultimi 20 anni, esperimenti di abitudine hanno dimostrato che bambini molto piccoli, anche neonati, sanno discriminare la numerosità di piccoli raggruppamenti fino a 3 o 4 elementi, sia che essi vengono presentati simultaneamente (Antell & Keating, 1983; Starkey & Cooper, 1980; Strauss & Curtis, 1981), sequenzialmente (Wynn, 1996), muovendo stimoli visivi (van Loosbroek & Smitsman, 1990) o uditivamente (Bijeljac-Babic, Bertoni, & Mehler, 1993). Altri studi che hanno utilizzato il paradigma della violazione dell'aspettativa hanno dimostrato che i neonati sanno anticipare il risultato di addizioni e sottrazioni di piccole numerosità (Wynn, 1992a; Simon, Hespos, & Rochat, 1995; Koechlin, Dehaene, & Mehler, 1997). Oltretutto i neonati sembrano in grado di cogliere le corrispondenze numeriche tra gruppi di entità presentate in differenti modalità sensoriali (Starkey, Spelke, & Gelman, 1990). Sulla base di questi risultati molti ricercatori pensano che i neonati abbiano un meccanismo innato per rappresentare la numerosità. Altri autori tuttavia, sulla base di alcune evidenze sperimentali, pensano che i neonati utilizzino un più limitato e generico meccanismo per identificare entità individuali, o che essi utilizzino variabili percettive (Rousselle et al., 2004). È stato infatti

osservato come negli esperimenti sopra citati non fossero state controllate tutte le variabili percettive (ad es. la superficie, il volume, i contorni totali e la densità), e come controllando queste variabili le prestazioni dei bambini prescolari scendano ad un livello casuale (Mix, Huttenlocher, and Levine 2002; Xu and Spelke (2000). E' stato quindi suggerito che altri fattori legati allo sviluppo cognitivo generale e all'apprendimento formale, più di meccanismi innati, siano alla base dello sviluppo delle abilità numeriche e di patologie specifiche. Griffin & Case (Griffin & Case, 1997; Griffin, 2002), ad es., dimostrano che i bambini di 5 anni sanno che i numeri hanno una grandezza; che le parole "più grande" e "più piccolo" sono sensibili in questo contesto; che i numeri da 1 a 10 occupano una posizione fissa nella sequenza del conteggio (principio dell'ordine stabile); che i numeri che vengono dopo nella sequenza indicano quantità più grandi; altri autori dimostrano che le difficoltà dei bambini con Discalculia Evolutiva sono limitate a compiti che prevedono un utilizzo del codice numerico (simbolico) e non a sue rappresentazioni analogiche (Rousselle e Noel, 2006). Appare dunque di fondamentale importanza comprendere meglio i meccanismi alla base dello sviluppo delle abilità numeriche e matematiche, siano essi legati ad abilità innate o costruite nel corso dell'apprendimento, e quali segnali precoci possano essere predittivi dello sviluppo di specifiche disabilità in ambito matematico.

## Materiali e metodi

### *Ipotesi e scopi sperimentali*

Lo scopo della presente ricerca è studiare l'evoluzione delle competenze matematiche in un gruppo di bambini dall'età di 5 anni (T1) alla seconda elementare (T2), ai fini di studiare le correlazioni tra le prestazioni a T1 e T2 e individuare prove con un buon valore predittivo rispetto allo sviluppo di patologie nell'area del processamento matematico.

### *Partecipanti*

Un campione di bambini (45 - 50) selezionati all'età di 5 anni e seguiti fino all'età di 8 anni.

### *Disegno sperimentale*

Un ampio numero di bambini all'ultimo anno della scuola materna nel periodo settembre-novembre 2007 (screening, T1) verranno testati su abilità legate al confronto di quantità, con/senza la presenza di codici simbolici (numeri arabi/verbal). I paradigmi verranno controllati per le variabili percettive la cui influenza su compiti di confronto quantità è

stata dimostrata (Rousselle et al 2004, 2006). Inoltre verranno raccolti alcuni dati sulle abilità di conteggio (in particolare verrà studiata la presenza del concetto di cardinalità), e alcuni dati sulle abilità intellettive, verbali e visuospatiali.

Questo screening ad ampio raggio permetterà la selezione di tre fasce (ognuna di circa 15 bambini) indicativamente lungo queste distribuzioni: media (45-55° percentile), bassa (< 5°-10° percentile) e alta (>90°- 95° percentile). Contestualmente verranno raccolti dati sulla familiarità di disturbi matematici (o altri disturbi dell'apprendimento) attraverso la somministrazione di questionari mirati alle famiglie. I bambini selezionati verranno ritestati in un follow-up in seconda elementare (T2), che verterà sulle abilità di base e sullo sviluppo delle prime abilità matematiche di tipo scolare.

### *Analisi dei dati*

Analisi delle distribuzioni delle abilità di base.

Analisi delle correlazioni e del valore predittivo delle prove in T1 rispetto a T2.

## Obiettivi e ricadute

I risultati ottenuti in questa ricerca possono aiutare a comprendere le componenti alla base dei disturbi del processamento numerico, eventualmente permettendo l'individuazione di sottotipi di discalculia associati alla presenza/assenza di alcune abilità matematiche di base. Oltre alle evidenti implicazioni di tipo teorico e all'importanza di studi ben controllati al fine di chiarire le esistenti controversie, i risultati del presente studio offrirebbero spunti molto utili per la messa a punto di programmi di prevenzione e recupero delle abilità carenti, volti a ridurre l'incidenza e la gravità dei disturbi evolutivi del calcolo.

## EFFETTI DELLA RIABILITAZIONE SUI SISTEMI MOTORI NEI PAZIENTI AFFETTI DA AUTISMO

**PROF. FRANCO FABBRO**

e-mail: FABBRO@SV.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 riferimento

Anno 2007

### Polo scientifico

San Vito al Tagliamento

### Ente coordinatore

IRCCS "E. Medea"

## DESCRIZIONE

### I. Premesse teoriche e rationale della ricerca

La Sindrome autistica è stata per lungo tempo considerata come una patologia delle cosiddette funzioni superiori del cervello e addirittura inizialmente classificata fra le psicosi. Tuttavia gli sviluppi degli ultimi 15 anni di ricerca hanno evidenziato come il disturbo autistico comporti anche particolari deficit di organizzazione del movimento. In particolare è stata evidenziata la ridotta capacità dei sistemi motori dei soggetti affetti da autismo di compiere efficaci previsioni sia sulle perturbazioni che l'ambiente può indurre sul movimento, sia viceversa sugli effetti che il loro movimento avrà sull'ambiente. Inoltre particolari deficit della motilità spontanea del neonato sono stati addirittura proposti come possibile indicatore diagnostico precoce di autismo. Un altro filone di ricerca ha evidenziato deficit motori anche per quanto riguarda i movimenti oculari, con particolare riferimento ai movimenti lenti di inseguimento. Dal punto di vista neuroanatomico si è evidenziato come principale sede della disfunzione motoria il cervelletto. Tuttavia non è affatto escluso che possano esistere anomalie di funzionamento anche a livello corticale.

Una recente scoperta effettuata da Fogassi et al. ha evidenziato nella corteccia cerebrale del pri-

mate la presenza di "catene" di neuroni collegati fra loro che sarebbero dedicati a gestire i vari movimenti di cui è composta un'azione non in maniera modulare e indipendente per ogni segmento dell'azione, bensì in maniera dedicata a seconda dello scopo ultimo dell'azione. In altre parole, i neuroni corticali che codificano l'azione di afferrare per portare alla bocca non sono gli stessi che codificano lo stesso movimento di afferramento quando il fine ultimo dell'azione non sarà il portare alla bocca ma ad esempio il piazzare in un contenitore.

Il modello motorio delle "catene" neurali proposto da Fogassi et al. presenta inoltre proprietà di tipo "specchio" ("mirror"). Occorre premettere che vengono definiti sistemi neurali di tipo "mirror" quei sistemi che si attivano sia quando il soggetto esegue un'azione che quando osserva un attore esterno eseguire la stessa azione. Prove dell'esistenza di un sistema che si attiva sia nell'esecuzione che nell'osservazione di un gesto sono state raccolte anche nell'uomo, con metodiche neurofisiologiche e di neuroimmagini.

È evidente a questo punto come il modello di controllo motorio proposto da Fogassi contenga per definizione la capacità di prevedere lo scopo ultimo dell'azione effettuata e probabilmente fornisce un substrato anatomico anche per interpretare lo scopo delle azioni effettuate da altri. Tale modello pertanto si presta bene all'interpretazione dei deficit di movimento e comportamentali inclusi nella sindrome autistica. Più in generale, anche alcuni sintomi di ambito più cognitivo, i sintomi negativi in ambito sociale e pragmatico, l'incapacità a riconoscere i gesti e i deficit di linguaggio possono essere interpretati come fallimento del sistema "mirror" di risonanza fra gli atti compiuti dal soggetto e gli atti compiuti da altri.

Per indagare l'organizzazione dei sistemi motori nella Sindrome autistica, sarà utilizzata una batteria di test non invasivi, che includono le principali tecniche a nostra disposizione per lo studio dei sistemi motori. Le prove prevedranno l'esecuzione di semplici compiti motori, durante i quali verranno registrati isolatamente o in combinazione diversi parametri quali ad esempio: a) l'attività muscolare (elettromiografia - EMG) mediante elettrodi di superficie; b) la cinematica del movimento; c) i movimenti oculari; d) l'elettroencefalogramma (EEG) e i potenziali evocati; e) le risposte di attivazione del sistema autonomo (risposta psicogalvanica, ossia la variazione di impedenza della cute derivante dall'attivazione del sistema nervoso ortosimpatico, e variazioni della frequenza cardiaca,

entrambi indici di attività emozionale); f) lo studio comportamentale delle risposte motorie in diverse situazioni di esecuzione o osservazioni di azioni o gesti.

## 2. Obiettivi

Questo studio si propone di indagare globalmente i sistemi motori, con particolare attenzione all'organizzazione dei movimenti in base all'intenzione delle azioni nei soggetti affetti da autismo prima e dopo specifici trattamenti riabilitativi. I soggetti con autismo verranno confrontati con bambini che presentano disturbi specifici del linguaggio e bambini controllo.

## VALUTAZIONE DELLE COMPETENZE DISCORSIVE IN BAMBINI CON SVILUPPO ATIPICO DEL LINGUAGGIO

### DOTT. ANDREA MARINI

e-mail: ANDREA.MARINI@SV.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 riferimento

Anno 2007

#### Polo scientifico

San Vito al Tagliamento

#### Ente proponente

IRCCS "E. Medea"

#### Ente coordinatore

IRCCS "E. Medea"

## DESCRIZIONE

### Introduzione

Con il presente progetto di ricerca si intendono esplorare i meccanismi della compromissione delle abilità linguistiche e comunicative in tre popolazioni di pazienti con sviluppo atipico del linguaggio: bambini con Disturbo Specifico del Linguaggio (DSL), bambini con Sindrome di Down (SD) e pazienti con Sindrome di Williams (SW). Lo scopo del progetto è di contribuire al perfezionamento di strategie di riabilitazione linguistica e pragmatico-funzionale in popolazioni di bambini con disturbi dello sviluppo.

I disturbi specifici del linguaggio interessano soggetti con sviluppo linguistico ritardato o insufficiente (Cipriani e Chilosi, 1995) pur in presenza di normale sviluppo cognitivo ed intellettuale, in assenza di sordità, ipoacusia o danni neurologici di alcun tipo (Leonard, 1998). Sul versante della produzione linguistica, i bambini con disturbo specifico presentano problemi di tipo fonetico/fonologico (Stella, 2001) con lessico ridotto (Rescorla e Schwartz, 1990) e competenze morfosintattiche generalmente deficitarie con conseguente produzione di enunciati di lunghezza media ridotta (Redmond, 2004)

e frasi incomplete se non errate (Chilosi e Cipriani, 1991). Il fatto che il DSL si presenti in pazienti in cui non si evidenziano altri deficit cognitivi lo caratterizza come una prova a sostegno dell'ipotesi secondo la quale il linguaggio sarebbe una facoltà modularmente isolata rispetto al resto del sistema cognitivo e, in quanto tale, in grado di svilupparsi in modo autonomo (Chomsky, 1988). Un modo indiretto per potersi inserire in questo dibattito consiste nella possibilità di confrontare le prestazioni linguistiche dei pazienti con DSL con quelle di gruppi di pazienti che presentino più o meno marcati deficit di natura linguistica associati a o ritardo mentale ed alla presenza o meno di altri deficit cognitivi (ad esempio il caso dei pazienti con Sindrome di Down e Sindrome di Williams). La Sindrome di Down, dovuta a trisomia del cromosoma 21, è tra le più comuni cause genetiche di ritardo mentale con un'incidenza approssimativa di un caso ogni 800 nati. L'alterazione genetica e neurofisiologica determina un anomalo sviluppo somatico e cognitivo caratterizzato da deficit percettivi (Vicari et al., 2002), attentivi (Brown et al., 2003), mnemonici (memoria a BT e/o LT [Vicari et al., 2004]), deficit nelle funzioni esecutive (Shapiro et al., 1999). In questi pazienti anche lo sviluppo del linguaggio è gravemente compromesso (Miller, 1988). L'eloquio dei bambini con SD è spesso di difficile comprensione per la frequente concomitanza di problemi articolatori e prosodici. In relazione allo sviluppo lessicale, in uno studio longitudinale relativo ad un campione di 300 bambini con SD, Berglund e colleghi (2001) notano che tra il primo ed il secondo anno di vita solamente il 12% dei bambini inclusi nell'osservazione produceva qualche parola e tra questi ultimi appena il 3% ne produceva almeno 10. Tra i bambini di 2 anni l'80% produceva almeno una parola, il 53% ne produceva almeno 10 ed appena il 3% poteva produrne almeno 50. Nel complesso, appena la metà del campione di bambini di 4 anni aveva un vocabolario espressivo di almeno 50 parole. La soglia delle 50 parole è particolarmente importante dal momento che, in bambini con normale sviluppo, costituisce la soglia lessicale minima per poter produrre enunciati di complessità crescente. In condizioni di normale sviluppo, una volta acquisita questa soglia minima, la crescita lessicale e la crescita grammaticale correlano (Bates e Goodman, 1997; Marchman e Bates, 1994). Una misura utilizzata per quantificare le competenze grammaticali di un individuo consiste nel calcolo della Lunghezza Media degli Enunciati (LME) prodotti, ovvero il numero di parole che, in media,

compongono i singoli enunciati. I bambini con normale sviluppo presentano un aumento graduale della LME nei primi anni di vita che li porta a produrre circa 5 parole per enunciato intorno ai 6 anni. Nel caso degli individui con SD, invece, la LME aumenta molto lentamente, al punto che la soglia delle 5 parole per enunciato viene da loro in genere raggiunta non prima dei 12 anni e le frasi sono fortemente carenti dal punto di vista strutturale a causa delle frequenti omissioni di parole funzione con conseguente stile telegrafico (Fabbretti et al., 1997; Rondal, 1993). In uno studio volto a valutare le abilità lessicali e morfosintattiche in un gruppo di bambini con SD con un'età mentale di 30 mesi, Vicari e coll. (2000) riportano la presenza di competenze morfosintattiche deficitarie in compiti di produzione, comprensione e ripetizione di frasi. E' interessante notare che in questi soggetti la performance lessicale correleva con quella grammaticale, suggerendo in tal modo la possibile presenza di un ritardo nell'acquisizione lessicale e grammaticale che tuttavia non prende le sembianze di uno sviluppo atipico. Questi dati confermano altri lavori in cui lessico e grammatica risultavano essere correlati in pazienti con SD (Bates and Goodman, 1997; Marchman and Bates, 1994).

Una questione interessante riguarda l'eventualità che il quadro linguistico appena delineato sia esclusivo della SD oppure sia un correlato necessario del ritardo mentale. Studi sull'acquisizione del linguaggio in altre popolazioni di individui con ritardo mentale di origine genetica come ad esempio la sindrome di Williams potrebbero essere utili per rispondere in parte a questa domanda. La sindrome di Williams (SW), associata a microdelezione del cromosoma 7 q11.23 (Botta et al., 1999; Frangiskakis et al., 1996; Ewart et al., 1993), presenta un quadro cognitivo e linguistico estremamente diverso da quello fornito dalla Sindrome di Down. E' infatti caratterizzata da un marcato ritardo mentale e da un profilo cognitivo specifico (Atkinson et al., 2001; Bellugi et al., 2001; Vicari et al., 2001) consistente in problemi nell'elaborazione di informazioni visuo-spaziali ed eccessiva socialità ma con relativamente preservate capacità sul piano linguistico (Volterra e Bates, 1995). Nei bambini Williams lo sviluppo del linguaggio, seppur ritardato, può raggiungere in età adolescenziale un buon livello di maturazione almeno a livello lessicale e morfosintattico (Volterra et al., 2003). Persiste tuttavia una marcata difficoltà a livello pragmatico, sia nell'istaurare rapporti sociali (Laws and Bishop, 2004) che nel trarre

inferenze durante l'ascolto di una storia (Sullivan et al., 2003). Vicari e coll. (2002), confrontando le prestazioni linguistiche di un gruppo di bambini con Sindrome Down con quelle di un gruppo di bambini con Sindrome di Williams e di un gruppo di bambini con normale sviluppo confrontabili per età mentale (in media circa 32 mesi), riportano a carico dei bambini con Sindrome Down maggiori difficoltà rispetto al gruppo di controllo in compiti in produzione, comprensione e ripetizione di parole e frasi. Significativamente, la prestazione dei bambini con Sindrome Williams nei medesimi compiti non differiva da quella fornita dai bambini del gruppo di controllo.

Nel complesso, gli studi che hanno cercato di valutare la competenza linguistica e comunicativa di bambini con DSL, Sindrome di Down o Sindrome di Williams si sono limitati ad indagare unicamente gli aspetti microlinguistici, ovvero le modalità di elaborazione fonetico/fonologica, morfofonologica, morfologica, morfosintattica, sintattica e semantico-lessicale. L'analisi microlinguistica non è tuttavia sufficiente a descrivere in modo completo le abilità comunicative di un dato gruppo di pazienti (Marini e Carlomagno, 2004). Mancano invece studi di riferimento in cui siano state indagate nel contempo anche le abilità macrolinguistiche dei pazienti in questione, ovvero le loro competenze pragmatiche, testuali/discorsive ed informative. L'atto comunicativo è in effetti un complesso processo di trasmissione di informazioni che si articola non tanto attraverso la semplice formulazione di enunciati, quanto attraverso la capacità di instaurare vincoli di coesione strutturale e di coerenza concettuale tra gli enunciati prodotti (Marini, 2001; Marini e Nocentini, 2003). Di conseguenza, solo una analisi che tenga conto di tutti gli aspetti della elaborazione del linguaggio può consentire di valutare contemporaneamente il funzionamento di processi cognitivi diversi come le abilità linguistiche del soggetto, la sua capacità di attingere alla propria memoria (tanto episodica che semantica), alle proprie risorse attentive e di comprendere e descrivere eventuali sfumature emotive essenziali allo svolgimento di una conversazione. L'analisi di strutture linguistiche complesse come quelle discorsive potrebbe quindi rivelarsi molto più adeguata delle normali valutazioni linguistiche di base per ottenere dati sulle effettive capacità di comunicazione verbale dei pazienti presi in considerazione. Al fine di conseguire questo scopo verrà applicata una metodologia di analisi del discorso descritta per esteso in Marini e Carlomagno (2004) e precedente-

mente usata per testare le competenze narrative di varie popolazioni di soggetti normali e cerebrolesi (Marini et al., 2005a; 2005b; Carlomagno et al. 2005a, b; Marini et al., 2007a, b). L'ipotesi di partenza è che l'adattamento di misure sviluppate e già testate efficacemente su soggetti adulti può contribuire non poco alla comprensione di aspetti finora trascurati della produzione discorsiva di soggetti in età evolutiva, come ad esempio la loro efficacia comunicativa e le loro competenze macrolinguistiche.

## Materiali e Metodi

### *Soggetti*

Per la ricerca verranno reclutati 40 soggetti in età evolutiva che andranno a formare tre gruppi: il gruppo di controllo sarà costituito da 10 bambini con prestazioni linguistiche e cognitive nella norma; il gruppo dei bambini con Sindrome di Williams sarà costituito da 10 pazienti precedentemente reclutati presso l'IRCCS "E.Medea" per il progetto di ricerca "Studio degli Aspetti Linguistici e Neuropsicologici nella Sindrome di Williams" il cui responsabile è il dott. Renato Borgatti; 10 ulteriori pazienti andranno a costituire il gruppo dei pazienti con Sindrome di Down; 10 pazienti, infine, costituiranno il gruppo di bambini con Disturbo Specifico del Linguaggio. I pazienti con DSL e Sindrome Down verranno reclutati presso l'IRCCS "E.Medea", sede di San Vito al Tagliamento (PN).

### *Materiali e metodi*

I soggetti inclusi nello studio verranno sottoposti a tre esperimenti disegnati per valutarne le abilità discorsive e descrittive. Nella prima situazione sperimentale viene richiesto loro di descrivere una figura, il "Picnic" (Western Aphasia Battery: Kertesz 1982). Nella seconda condizione ai soggetti viene richiesto di descrivere due storie presentate sotto forma di vignette ("Flower Pot": Huber and Gleber, 1982; "Quarrell": Nicholas and Brookshire, 1993) costituite da sei scene ciascuna e preventivamente disposte in modo sequenziale dall'esaminatore. Nella terza prova, infine, i soggetti devono organizzare e poi descrivere due vignette (tratte da Marini et al. 2005b) composte da sei scene ciascuna raffiguranti rispettivamente un re impegnato in una battuta di pesca ed una bambina alle prese con un uccellino scappato dalla sua gabbia.

Le descrizioni fornite dai soggetti, registrate su nastro magnetico e quindi trascritte nella loro interezza, vengono segmentate in enunciati e sottoposte ad una analisi strutturale e funzionale (cfr. Marini et

al., 2005a; 2005b; Marini e Carlomagno, 2004) allo scopo di valutarne i livelli di organizzazione micro- e macrolinguistica, ed il livello di efficacia comunicativa (Marini, 2001; Nicholas e Brookshire, 1993).

#### Obiettivi

Lo scopo del presente progetto di ricerca è di inserirsi nel dibattito delineato nell'Introduzione riguardo la necessità di effettuare analisi delle competenze narrative di bambini con normale sviluppo delle competenze linguistiche e bambini affetti da DSL, SD e SW tanto a livello microlinguistico quanto a livello macrolinguistico e comunicativo-funzionale. Si intende in tal modo contribuire a comprendere le modalità di sviluppo ed elaborazione del linguaggio in bambini affetti da queste sindromi tramite una analisi delle prestazioni dei singoli gruppi rispetto al gruppo di controllo di riferimento ma anche attraverso un confronto diretto tra le tre popolazioni di pazienti nella consapevolezza che ciò permetterà di aumentare le nostre conoscenze sui rapporti tra sviluppo cognitivo in generale e sviluppo linguistico in particolare.

Il particolare interesse della presente ricerca risiede infine nella possibilità di chiarire i meccanismi della compromissione delle abilità linguistiche nelle tre popolazioni di pazienti in oggetto e nel poter quindi migliorare la formulazione di strategie di riabilitazione linguistica e pragmatico-funzionale.

## CORRELATI NEUROFISIOLOGICI DELL'ELABORAZIONE SINTATTICA IN BAMBINI CON DISTURBO SPECIFICO DEL LINGUAGGIO E DISLESSIA EVOLUTIVA

**DOT.SSA MARIA LUISA LORUSSO**

e-mail: MARIALUISA.LORUSSO@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 riferimento

Anni 2007 - 2009

#### Polo scientifico

Bosisio Parini

#### Ente proponente

IRCCS "E. Medea"

#### Ente coordinatore

IRCCS "E. Medea"

## DESCRIZIONE

### Introduzione

Lo scopo principale del lavoro è quello di studiare i correlati neurofisiologici della comprensione frasale, nello specifico dell'elaborazione sintattica, in due popolazioni cliniche: bambini con disturbo specifico del linguaggio e dislessia evolutiva. La relazione tra questi due disordini evolutivi è notoriamente molto controversa, e recentemente sono state riportate evidenze anche di tipo genetico a favore dell'ipotesi di una loro parziale sovrapposizione (Bishop, Snowling, 2004). Lo scopo del presente lavoro è proprio quello di verificare se sia possibile individuare, anche all'interno della popolazione dislessica, carenze nell'elaborazione sintattica del linguaggio, che possano avvalorare l'ipotesi di significative comunanze tra i due disturbi anche in quelle competenze che paiono distinguerli.

Il disturbo specifico del linguaggio (DSL) è infatti caratterizzato da un ritardo o disordine in uno o

più ambiti dello sviluppo linguistico. Tutte le componenti del linguaggio possono risultare compromesse, ma spesso l'aspetto morfosintattico appare particolarmente deficitario. Alcuni autori hanno individuato un sottotipo di disturbo linguistico caratterizzato, appunto, da una specifica compromissione a questo livello (Grammatical-SLI, Bishop, Bright, James, Bishop, van der Lely, 2000). La dislessia evolutiva è un disturbo dell'apprendimento della lettura, solitamente associato a deficit delle abilità fonologiche più fini e che talvolta, ma non necessariamente, è preceduto da lievi ritardi nello sviluppo linguistico, per lo più prontamente recuperati e apparentemente compensati. La maggior parte degli studi si sono focalizzati sui deficit fonologici evidenziati dai bambini dislessici (Ramus, Rosen, Dakin, Day, Castellote, White, Frith, 2003) o sulle difficoltà di accesso lessicale (Wolf e Bowers, 1999), ma sono state riportate anche difficoltà morfosintattiche (Scarborough, 1990). I due disordini, dunque, hanno alcuni sintomi in comune, tra cui le difficoltà a livello fonologico, a volte considerate una conseguenza della difficoltà di elaborazione acustica, e le scarse abilità di memoria a breve termine. Più controversa è invece la presenza di difficoltà morfosintattiche comuni ai due disturbi, riportate in alcuni studi (Rispen, Roeleven, Koster, 2004; Wilsenach, 2006). In particolare, non è ancora ben chiaro se tali difficoltà siano una caratteristica di un sottogruppo di individui dislessici le cui difficoltà di lettura sono espressione tardiva di un preesistente (ma non sempre diagnosticato) disturbo del linguaggio, oppure se siano da considerare caratteristiche generalizzate della popolazione dislessica. Appare pertanto di fondamentale importanza distinguere tra possibili sottogruppi di soggetti dislessici, che abbiano/non abbiano presentato segni, anche lievi, di disturbi dello sviluppo linguistico nel periodo prescolare. Inoltre, appare indispensabile utilizzare misure linguistiche molto fini, considerando che gli strumenti testali normalmente utilizzati sono adatti a bambini prescolari e possono essere poco sensibili a deficit lievi, che potrebbero quindi passare inosservati ad un esame logopedico tradizionale.

La metodologia ERP, ovvero la registrazione dei potenziali evento-correlati, può essere di grande utilità nello studio delle competenze linguistiche. Questa metodologia, infatti, permette di ottenere delle informazioni sul processamento linguistico con un'altissima risoluzione temporale. In questo modo si possono evidenziare anomalie anche molto lievi, che potrebbero non emergere a livello comportamentale. Molti studi sono stati effettuati

sul processamento sintattico attraverso la metodologia ERP. In particolare sono state studiate le violazioni sintattiche strutturali e relative all'accordo tra soggetto e verbo. Solitamente, però, lo scopo era principalmente quello di individuare le componenti ERP legate al compito, e quindi gli studi erano svolti con soggetti adulti e senza disturbi linguistici (Kutas e Hillyard, 1983; Osterhout e Mobley, 1995; Hagoon e Brown, 2000). Questi studi hanno permesso di individuare due componenti associate alle violazioni sintattiche: una componente anteriore negativa (LAN o eLAN), e una componente più tardiva positiva (P600), legata al processo di rianalisi in seguito alla violazione. Quest'ultima, infatti, è stata trovata anche associata a frasi con ambiguità linguistiche, e violazioni solo temporanee (garden-path sentences). Alcuni studi hanno effettuato lo stesso tipo di analisi in lingua italiana, confermando la presenza delle stesse componenti (De Vincenzi, Job, Di Matteo, Angrilli, Pelonazzi, Ciccarelli, Vespignani, 2003; Balconi e Pozzoli, 2005). Soltanto due studi ERPs si sono focalizzati su soggetti con dislessia evolutiva. In particolare uno studio condotto in lingua tedesca da Sabisch, Hahne, Glass, von Suchodoletz e Friederici (2006) ha evidenziato delle anomalie nella eLAN di bambini dislessici rispetto a bambini di controllo. Uno studio olandese (Rispen, Been, Zwarts, 2006), invece, ha individuato differenze nella P600 di adulti dislessici rispetto ad adulti di controllo.

## Metodologia

### Soggetti

Verranno testati quattro gruppi di soggetti (almeno 12 soggetti per gruppo): bambini con disturbo specifico del linguaggio, bambini con dislessia evolutiva con e senza pregresso disturbo del linguaggio accertato, e bambini di controllo appaiati per età. L'età dei bambini sarà compresa tra gli 8 e i 12 anni.

### Procedura

Verranno utilizzati test standardizzati per valutare le competenze linguistiche (in particolare morfosintattiche) e di lettura, e il livello cognitivo. Saranno indagate anche altre abilità cognitive legate al processo di lettura, quali la memoria verbale a breve termine e la consapevolezza fonologica.

Il compito sperimentale verrà creato facendo riferimento ai principali lavori presenti in letteratura. Ai soggetti verranno presentate uditive delle frasi contenenti delle violazioni sintattiche, e i potenziali evocati saranno registrati con un tracciato

in continuo. Verrà utilizzata una violazione di accordo soggetto-verbo di numero, dove i soggetti delle frasi saranno bilanciati per numero e tipologia (soggetti umani, animali, non animati). Per ogni tipologia di frasi non grammaticali verranno preparate e presentate anche frasi molto simili per struttura che però non contengono violazioni (filler).

Accanto al compito neurofisiologico sarà presentato anche un compito comportamentale, che utilizza gli stessi stimoli, per valutare se i soggetti riconoscono la violazione sintattica a livello consapevole. Altri compiti comportamentali saranno usati per indagare altri aspetti critici della competenza morfosintattica (pronomi e clitici, frasi relative, garden-path). Eventuali risultati interessanti nell'analisi preliminare di questi aspetti potrebbero fornire nuovi spunti per successive analisi ERP.

### Analisi dei dati

Verranno condotte analisi separate per il compito elettrofisiologico e i compiti comportamentali. Ci si aspetta di trovare differenze tra i gruppi clinici e il gruppo di controllo in entrambi i casi. I dati elettrofisiologici potrebbero però essere più sensibili, e individuare delle anomalie anche laddove non ci fossero delle differenze comportamentali. In particolare ci si aspetta di trovare difficoltà palesi anche a livello comportamentale nei bambini con DSL, e anomalie più lievi nell'elaborazione sintattica in entrambi i gruppi di soggetti dislessici (con e senza pregresso disturbo del linguaggio), confermando così una origine comune per DSL e dislessia evolutiva.

### Obiettivi e ricadute

Il presente lavoro rappresenterebbe un primo passo verso una migliore definizione delle competenze morfosintattiche e dei loro correlati elettrofisiologici in bambini con disturbo specifico del linguaggio e dislessia evolutiva. Oltre al valore teorico, queste informazioni permetterebbero sia di definire programmi riabilitativi più mirati, che di individuare predittori e precursori dei disturbi del linguaggio e dell'apprendimento più sensibili, possibilmente con valore differenziale.

Uno sviluppo interessante riguarderebbe altresì l'indagine più dettagliata della sovrapposizione tra DSL e dislessia evolutiva, attraverso lo studio, mediante lo stesso paradigma, dei fratelli sani dei bambini affetti da questi disordini evolutivi. Un lavoro di questo tipo potrebbe confermare la presenza di un fattore genetico alla base di una difficoltà evidenziabile anche quando la patologia non è palese.

## A RANDOMIZED, CONTROLLED, OPEN-LABEL STUDY OF THE LONG-TERM IMPACT ON FUNCTIONING USING ATOMOXETINE HYDROCHLORIDE COMPARED TO OTHER EARLY STANDARD CARE IN THE TREATMENT OF ATTENTION-DEFICIT/HYPERACTIVITY DISORDER (ADHD) IN TREATMENT-NAIVE CHILDREN AND ADOLESCENTS, (ADHD-LIFE STUDY) – B4- EW-LYDY

**DOTT. DOMENICO RESTUCCIA**

e-mail: RESTUCCIA@PPLNF.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 riferimento

1.2.2008 fino al termine dell'attività sperimentale dell'IRCCS

### Polo scientifico

San Vito al Tagliamento

### Ente proponente

Eli Lilly spa

### Ente coordinatore

Clinica di neuropsichiatria Infantile II° Policlinico di Napoli

## DESCRIZIONE

Attention Deficit/Hyperactivity Disorder(ADHD) is one of the most common chronic conditions of childhood, with adverse consequences that persist through adolescence into adulthood(Biederman et al. 2004). Children with ADHD can have academic impairment, social dysfunction, and poor self-esteem. These children are also at a higher risk of cigarette smoking and substance abuse (Daley 2004). A negative impact on quality of life is ob-

served from early on in the course of the disease and is already present at diagnosis (Escobaret al. 2005). Thus, the burden of illness associated with ADHD is high for affected individuals, their families, and society (Leisbonand Long 2003). Between 6% and 12% of school-aged children in the United States are affected by ADHD (American Academy of Pediatrics 2000, Biederman and Faraone 2005).

Studies in Europe and Australia found a prevalence of about 6-8% in school-aged children (Soutullo 2003, Graetz et al. 2001, Essau et al. 1999). Current treatments for ADHD include a range of social, psychological and behavioural interventions. However, the literature indicates the important role of psychopharmacological agents in the reduction of both core symptoms of ADHD and associated functional impairments in patients who are refractory to non pharmaceutical approaches. Stimulants not only improve abnormal behaviours associated with ADHD, but also improve self-esteem, cognition, and social and family function. However, response varies in different age groups and in the presence of certain co-morbidities. There is now also a large body of literature documenting the efficacy of atomoxetine, a non stimulant medication for the treatment of ADHD, which shows improvement in these same domains (Biederman et al. 2004, Perwien et al. 2004).

Recently the National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) in the United Kingdom, after careful consideration of the evidence available, published guidance for the management of ADHD in children and adolescents. The recommended drug treatment options are methylphenidate, atomoxetine and dexamphetamine (NICE, 2006). Further, a systematic review of published and unpublished data on the use of long-acting medications in ADHD and hyperkinetic disorder was recently published by a panel of experts from several European countries which concluded that both atomoxetine and an extended-release stimulant should be made available and stated that the choice will depend upon the circumstances of different patients (Banaschewski et al. 2006).

Recently, an open label, randomized clinical trial (B4Z-BP-LYBS) provided comparative results for atomoxetine vs. standard current therapy (mostly stimulants) for up to 10 weeks in both patients with prior and no previous exposure to stimulants, but longer term comparative data is still outstanding. Additionally, a currently ongoing European observational study (B4Z-EW-S006), describes the functional impairments and outcomes in patients treated

with stimulants and for psychotherapy over the longterm (2 years) in a naturalistic setting (Ralston et al. 2004). However, at the time this study started atomoxetine was not available in Europe and so was not included. The B4Z-BP-LYBS study showed not only efficacy in ADHD core symptoms but also an improvement of functional outcome and quality of life in treated patients (Prasad et al. 2006).

As long-term comparative data of atomoxetine in children with ADHD is not available and ADHD is a chronic disorder with impact over time, the present study has been designed to evaluate the efficacy of atomoxetine versus other early standard therapies over the longterm.

The present study is a multicentre, randomized, open-label controlled trial to be conducted in approximately 400 patients with ADHD, aged 6 to 17 years of age. As primary outcome measure, the Child Health and Illness Profile (CHIP-CE), a validated, generic health-status survey for children and adolescents, will be used. It has already been shown to be sensitive to changes in patients with ADHD (B4Z-BPLYBS).

The study will only include pharmacologically naive patients in order to investigate the impact of treatment on this population of patients and, as this is an open label study, to avoid the bias that might be caused by experience of prior pharmacotherapy. The randomization will assign approximately 200 patients to each of the atomoxetine arm (Group A) and the other early standard therapy arm (Group B). The open-label long term treatment period will last 6 months and will be followed by an optional extension period of a further 6 months.

## SVILUPPO DI UN SISTEMA DI NETWORK TRAMITE WEB TRA SERVIZI AL FINE DI RENDERE OMOGENEI I SISTEMI DI DIAGNOSI, IN PARTICOLARE PER L'ADHD

### **DOTT. MASSIMO MOLTENI**

e-mail: MASSIMO.MOLTENI@BPLNF.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 riferimento**

2007 - 2008

#### **Polo scientifico**

Bosisio Parini

#### **Ente proponente**

Eli Lilly spa

#### **Ente coordinatore**

IRCCS "E. Medea"

## ALTRE RICERCHE

Di seguito vengono elencati i progetti di ricerca realizzati o in corso di realizzazione negli anni 2007-2008 – direttamente finanziati dall'Istituto, con il concorso di Enti pubblici e privati – già descritti nel precedente Annuario Scientifico.

### **Valutazione dello stato di salute, del livello di funzionamento e grado di disabilità attraverso la classificazione ICF in una popolazione affetta da emiplegia alternante**

Responsabile: Dott. Renato Borgatti

Polo scientifico: Bosisio Parini

Tipo di ricerca: Ricerche svolte con contributi non ministeriali (AISEA)

Date di inizio – fine: 01/10/2006 – 30/09/2007

Linea di ricerca: Neuropatologia

### **Studio della qualità delle cure come fattori predittivi della qualità della vita nella prima e seconda infanzia – “Neo-acqua”**

Responsabile: Dott. Renato Borgatti

Polo scientifico: Bosisio Parini

Tipo di ricerca: Ricerche svolte con contributi non ministeriali (Chiesi farmaceutica)

Data inizio: 2006

Linea di ricerca: Neuropatologia

### **Continuità terapeutica e qualità percepita da utenti giovani adulti con esiti da cerebrolesione acquisita**

Responsabile: Dott. Alec Vestri

Polo scientifico: Conegliano

Tipo di ricerca: Finalizzata Regionale

Date di inizio – fine: 07/02/2005 – 06/02/2007

Linea di ricerca: Riabilitazione neuromotoria e funzionale

### **Pilot study on neurocognitive rehabilitation in long term survivors of childhood brain tumors**

Responsabile: Dott. Andrea Martinuzzi

Polo scientifico: Conegliano

Ente Capofila: Università di Padova

Tipo di ricerca: Ricerche svolte con contributi non ministeriali (“Città della Speranza” Onlus)

Date di inizio – fine: 01/10/2004 – 30/09/2007

Linea di ricerca: Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologica Funzionale

### **Language and reading disorders in Duchenne Muscular Dystrophy: neuropsychological evaluation**

Responsabile: Dott.ssa Anna Carla Turconi  
 Polo scientifico: Bosisio Parini  
 Ente coordinatore del progetto: IRCCS Medea  
 Tipo di ricerca: Bando Telethon  
 Date di inizio – fine: 21/04/2004 – 30/09/2007  
 Linea di ricerca: Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologica Funzionale

### **Therapeutic options in refractory epilepsy to monotherapy - THEOREM**

Responsabile: Dott. Andrea Martinuzzi  
 Polo scientifico: Conegliano  
 Tipo di ricerca: Studio promosso da Janssen- Cilag  
 Date di inizio – fine: 21/11/2005 – 12/05/2008  
 Linea di ricerca: Riabilitazione motoria e Neuropsicologica Funzionale

### **Thought in action –TACT**

Responsabile: Dott. Massimo Molteni  
 Polo scientifico: Bosisio Parini  
 Ente coordinatore del progetto: Campus Biomedico - Roma  
 Tipo di ricerca: VI° programma quadro ricerca Europea  
 Date di inizio – fine: 01/01/2006 – 30/04/2009  
 Linea di ricerca: Psicopatologia dello sviluppo del linguaggio e dell'apprendimento

### **The origins, representation and use of abstract concepts-ABSTRACT**

Responsabile: Dott.ssa Maria Luisa Lorusso  
 Polo scientifico: Bosisio Parini  
 Ente coordinatore del progetto: IRCCS Fondazione San Raffaele - Milano  
 Tipo di ricerca: VI° programma quadro ricerca Europea  
 Date di inizio – fine: 01/05/2006 – 30/04/2009  
 Linea di ricerca: Psicopatologia dello sviluppo del linguaggio e dell'apprendimento

### **Il libro parlato**

Responsabile: Dott.ssa Maria Luisa Lorusso  
 Polo scientifico: Bosisio Parini  
 Tipo di ricerca: Ricerche svolte con contributi non ministeriali  
 Date di inizio – fine: 03/07/2006 – 03/03/2009  
 Linea di ricerca: Psicopatologia dello sviluppo del linguaggio e dell'apprendimento

### **An open-label study on the efficacy of Atomoxetine Hydrochloride on quality of**

### **life of children and adolescents with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder with or without comorbid conditions**

Responsabile: Dott. Angelo Massagli - Dott. Massimo Molteni  
 Polo scientifico: Bosisio Parini, Ostuni  
 Tipo di ricerca: Studio promosso da Eli Lilly  
 Data inizio: 28/07/2006 - in corso  
 Linea di ricerca: Psicopatologia dello sviluppo del linguaggio e dell'apprendimento

### **European network for research on alternating hemiplegia of childhood for promoting smes integration-ENRAH for smes**

Responsabile: Dott. Claudio Zucca  
 Polo scientifico: Bosisio Parini  
 Ente coordinatore del progetto: Enrah Association - Vienna  
 Tipo di ricerca: VI° programma quadro ricerca Europea  
 Date di inizio – fine: 01/04/2005 - 30/06/2007  
 Linea di ricerca: Neurofisiopatologia

### **Sviluppo di un modello di JME in drosophila**

Responsabile: Dott. Andrea Daga  
 Polo scientifico: Conegliano  
 Tipo di ricerca: Finalizzata Regionale  
 Date di inizio – fine: 14/03/2006 – 13/03/2008  
 Linea di ricerca: Neurobiologia

### **Strategie di prevenzione e trattamento del danno ossidativo in modelli cellulari di malattia neurodegenerativa**

Responsabile: Prof. Nereo Bresolin  
 Polo scientifico: Conegliano  
 Tipo di ricerca: Finalizzata Regionale  
 Date di inizio – fine: 01/03/2006 – 29/02/2008  
 Linea di ricerca: Neurobiologia

### **Modulazione della neurogenesi nel cervello adulto: uno studio clinico e sperimentale**

Responsabile: Dott. Andrea Martinuzzi  
 Polo scientifico: Conegliano  
 Tipo di ricerca: Finalizzata Regionale  
 Date di inizio – fine: 07/02/2005 – 06/02/2008  
 Linea di ricerca: Neurobiologia

### **Pathogenic mechanism for degeneration of retinal ganglion cells in mitochondrial optic neuropathies**

Responsabile: Dott. Andrea Martinuzzi

Polo scientifico: Conegliano  
 Tipo di ricerca: Bando Telethon  
 Date di inizio – fine: 31/10/2006 – 30/10/2009  
 Linea di ricerca: Neurobiologia

### **Il ruolo di Shank3/prosap2 nei sintomi neurologici presenti nei pazienti con la sindrome da delezione del 22Q13**

Responsabile: Dott.ssa Maria Clara Bonaglia e Dott.Roberto Giorda  
 Polo scientifico: Bosisio Parini  
 Tipo di ricerca: Bando Telethon  
 Date di inizio – fine: 29/11/2006 – 28/11/2008  
 Linea di ricerca: Neurobiologia

### **Genomica e proteomica di forme sindromiche di ritardo mentale associato al cromosoma x con quadri pluriformativi ed epilessia**

Responsabile: Dott.ssa Maria Teresa Bassi  
 Polo scientifico: Bosisio Parini  
 Tipo di ricerca: Bando Chiuso - Cariplo  
 Date di inizio – fine: 20/02/2006 – 19/02/2008  
 Linea di ricerca: Neurobiologia

### **Approccio integrato clinico genetico e di neuroimaging funzionale per la terapia cellulare delle ceroidlipofuscinosi**

Responsabile: Dott.ssa Maria Teresa Bassi  
 Polo scientifico: Bosisio Parini  
 Tipo di ricerca: Bando ISS-Rare disease  
 Date di inizio – fine: 24/05/2005 - 23/05/2007  
 Linea di ricerca: Neurobiologia

### **Basi molecolari dell'emiplegia alternante**

Responsabile: Dott.ssa Maria Teresa Bassi  
 Polo scientifico: Bosisio Parini  
 Tipo di ricerca: Ricerche svolte con contributi non ministeriali (AISEA)  
 Date di inizio – fine: 15/06/2005 - 31/12/2006  
 Linea di ricerca: Neurobiologia

### **Hint@Lecco**

Responsabile: Dott.ssa Anna Carla Turconi  
 Polo scientifico: Bosisio Parini  
 Ente coordinatore del progetto: Univerlecco  
 Tipo di ricerca: Ricerche svolte con contributi non ministeriali (Fondazione Cariplo)  
 Date di inizio – fine: 21/05/2004 – 31/12/2007  
 Linee di ricerca: Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale e Bioingegneria