

# ANNUARIO SCIENTIFICO 2003-2004

ASSOCIAZIONE

*la Nostra Famiglia*



**"EUGENIO MEDEA"**

ISTITUTO DI RICOVERO E CURA  
A CARATTERE SCIENTIFICO

**"Eugenio Medea"**  
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico

ANNUARIO SCIENTIFICO  

---

2003-2004

Via don Luigi Monza, 20  
23842 Bosisio Parini (LC)  
tel. 031 877111  
fax. 031 877499  
www.emedeait  
e-mail: medea@bp.lnf.it





### **Alda Pellegri**

*Presidente Associazione "La Nostra Famiglia"*



### **Zaira Spreafico**

*Presidente Associazione "La Nostra Famiglia" dal 1948 al 2004*

L'IRCCS E. Medea e l'Associazione "La Nostra Famiglia" stanno vivendo insieme una stagione ricca di avvenimenti nuovi che, pur garantendo la continuità di una missione in una panoramica socio politica che cambia, aprono prospettive ad ampio respiro, sempre più stimolanti e responsabilizzanti per tutti gli operatori che al loro interno operano.

L'evento che più ci ha coinvolti a livello emotivo è stata la scomparsa di Zaira Spreafico avvenuta il 3 luglio 2004, dopo un breve declino che solo per poco tempo l'ha allontanata dall'attività condotta con tanta abilità, passione e determinazione per più di cinquant'anni.

La prima Presidente de La Nostra Famiglia ha intuito, con la preveggenza che ha contraddistinto tutte le sue scelte, che l'evoluzione dell'Opera non poteva essere affidata unicamente all'attività riabilitativa, sebbene condotta secondo parametri di efficacia ed efficienza, codificati dall'esperienza e dalla competenza degli operatori, essa richiedeva uno sforzo ulteriore per garantire la massima scientificità al nostro operare.

È nata così la sezione IRCCS dell'Associazione: un'intuizione che è diventata realtà, ricca di esperienze importanti e impegnative che danno dignità a tutta l'attività riabilitativa de La Nostra Famiglia. Una realtà che ha modificato radicalmente le caratteristiche del nostro servizio ed ha richiesto un ulteriore sforzo di adattamento a regole nuove, più precise, non sempre facili da applicare e da comprendere nella loro positività.

Il cammino è stato difficile, ma sempre stimolante e positivo.

Il secondo evento che ha cambiato davvero la nostra fisionomia è stata l'apertura del settimo padiglione di Bosisio che ci ha collocati a pieno titolo fra le strutture ospedaliere più qualificate.

Zaira aveva previsto per Bosisio l'acquisizione di un ruolo trainante che fosse visibile anche nella struttura, ha visto però crescere con timore questa realtà: il timore che si potesse snaturare il significato

de "La Nostra Famiglia" in cui tutti devono stare bene, perché si sentono accolti per il valore di cui ognuno è portatore, proprio come accade in una famiglia.

Grazie alle sue sollecitazioni questo "ospedale" non poteva pertanto essere che un "ospedale amico" in cui ci si sente guardati personalmente e chiamati per nome, dove il bambino e la sua famiglia trovano la collocazione riservata all'amico più caro, dove chi accoglie è un'équipe competente che vive la "passione" del curare bene.

La presa in carico di ogni paziente è la sfida di non lasciarsi travolgere dallo scoraggiamento di fronte al possibile insuccesso perché, come ci ha insegnato il prof. Giorgio Moretti, anche il bambino più grave ci rivela delle abilità nascoste da far evolvere che, non solo la tecnica fa evidenziare, ma la tecnica più l'amore fanno addirittura esprimere come il miracolo dell'attesa, della pazienza, della fiducia nell'uomo.

Zaira ci ha lasciato questo insegnamento con la testimonianza della sua vita, caratterizzata dalla fiducia nella Provvidenza, che guida attraverso l'intuito e la razionalità le persone responsabili della conduzione dell'Opera, perché facciano le scelte giuste, dalla fiducia negli operatori che "sono" la Nostra Famiglia a cui ha affidato il compito di garantire la continuità di un'Opera, nata dal cuore del Fondatore, il Venerabile Servo di Dio don Luigi Monza, cresciuta inizialmente con le Piccole Apostole che in Lui e in lei hanno creduto, sviluppata fino all'attuale assetto, così articolato e incredibilmente ricco di risorse.

A Zaira Spreafico va il nostro grazie per essere stata ad un tempo stimolo e modello. Il livello di operatività e scientificità raggiunto, lo stile che ci contraddistingue, il rispetto del valore e della dignità di ogni persona che ci ha proposto, garantito da ogni operatore, le rendono l'onore dovuto ad una personalità e ad un'opera incisiva e significativa come la sua.

A me tocca ora il compito di garantire il passaggio dal tempo storico della fondazione, dopo cinquant'anni dalla morte del Fondatore, al tempo della stabilizzazione della nostra fisionomia, perché l'Associazione sia conosciuta e apprezzata in tutta la molteplicità delle sue espressioni, sostenuta dalla forza della missione che le è stata affidata da Zaira, con l'attenzione e l'apertura al futuro, non facile, da affrontare con chiarezza, determinazione e, ancora una volta, fiducia.

Il programma di questo governo, alla luce dei cambiamenti socio politici in atto e della complessità delle richieste che ci vengono rivolte dagli utenti, dagli operatori, dalle istituzioni territoriali, si struttura su alcuni punti fondamentali:

1. la conduzione dell'Opera richiede un reale lavoro di coesione fra le varie componenti dell'Associazione, in quanto né una persona sola, né il solo Consiglio di Amministrazione possono più garantire l'opportunità delle scelte, tenuto conto anche delle progressive differenziazioni regionali. Elementi facilitanti sono l'evoluto livello della comunicazione acquisito, grazie ad una struttura organizzativa oramai sperimentata e funzionale.
2. La velocità con cui si succedono le varie problematiche sociali relative alla realtà della disabilità, richiede di avere una costante oculata attenzione ai segni dei tempi per fare interventi mirati, volti a garantire il rispetto delle persone disabili, sapendo che neppure l'ente pubblico garantisce più la totale copertura delle spese richieste da un serio intervento riabilitativo e di ricerca. In questo tempo di cambiamento sempre di più saranno coinvolti i soggetti veri attori del nostro intervento, ossia gli utenti.
3. Particolare attenzione verrà data alla ricerca perché proceda sul cammino così efficacemente avviato per migliorare sempre di più la clinica, guar-

dando all'Europa e cercando di elevare nel modo migliore possibile il livello culturale e la competenza di tutti gli operatori, mediante la diffusione sistematica dei risultati raggiunti, individuando i filoni di ricerca e operatività che ci contraddistinguono, grazie a ricercatori e clinici qualificati.

4. Un impegno fondamentale dell'Associazione è quello di garantire il benessere di tutti coloro che a vario titolo passano poco o tanto tempo in tutti gli ambienti dell'Associazione per rendere sempre ragione del nome che porta, in piena coerenza con la sua specifica missione. Perché si mantenga il clima di accoglienza e di benessere, particolare attenzione va rivolta al benessere degli operatori, sollecitando il rispetto dei reciproci ruoli e curando che ognuno sia al posto giusto.

La Nostra Famiglia è consapevole della grande ricchezza di cui è portatrice per la molteplicità dei settori in cui è articolata tutta l'attività, per la competenza e la motivazione dei suoi operatori, per gli innumerevoli stimoli alla riflessione e alla crescita umana che provengono dalla particolare tipologia di utenti che accedono alle sue strutture.

È altrettanto consapevole della grande responsabilità che giorno per giorno si assume nella cura di soggetti portatori di gravi disabilità e anche nella formazione degli operatori.

Un obiettivo sicuramente importante da perseguire è quello della codifica dei dati, della raccolta di follow-up seri per una verifica coraggiosa dei risultati, in modo da poter procedere con ulteriori sicurezze che saranno la base della nostra cultura futura.

Ringrazio il presidente dell'IRCCS Dottor Domenico Galbiati, il Direttore Scientifico Professor Nereo Bresolin per la condivisione della missione dell'Associazione, l'apporto personale alla crescita culturale dell'Ente, la partecipazione a tutte le iniziative che fanno de La

Nostra Famiglia una grande famiglia in cui operatori e ricercatori vivono l'entusiasmo del sapere e la soddisfazione dell'aver costruito insieme un servizio all'uomo.

**Alda Pellegrini**

*Presidente Associazione "La Nostra Famiglia"*



**Domenico Galbiati**  
Presidente IRCCS "E. Medea"

La riabilitazione, non meno di altre branche della medicina - a fronte degli incalzanti sviluppi scientifici e tecnologici che, almeno dagli anni settanta, vanno trasformando profondamente i paradigmi della diagnosi e della terapia sta attraversando una fase di significativa evoluzione, segnata da un costante progresso delle sue potenzialità e della sua efficacia terapeutica.

Anzitutto la biologia molecolare, con la genomica e l'ingegneria genetica, le attese alimentate dall'impiego delle cellule staminali, la sofisticazione delle nuove strumentazioni diagnostiche, l'impatto dell'area biomedica con l'elettronica e l'informatica, le nuove prospettive aperte dalla bioingegneria e dalla bionica impongono, anche in ambito riabilitativo, nuovi criteri di interpretazione della malattia e delle disabilità che ne conseguono.

Siamo, come e più che altrove, in un terreno fertile per quella dimensione interdisciplinare della ricerca che oggi si propone come la prospettiva più avanzata e promettente.

Ciò è soprattutto vero nel campo delle funzioni neurologiche e neuropsichiche e presenta una particolare delicatezza allorché si opera con bambini ed adolescenti, cioè con soggetti che affrontano quella stagione evolutiva che rappresenta l'età più problematica e complessa, per molti aspetti quella dirimente e decisiva, della loro intera esistenza.

Non a caso, del resto, in modo più immediato e coinvolgente di quanto non succeda nell'adulto, bambini ed adolescenti esigono, ad esempio, una chiara ed esplicita visione etica di ogni provvedimento diagnostico o terapeutico-riabilitativo che li riguardi.

Questi ultimi, infatti, nella misura in cui interferiscono con i processi di sviluppo somatico e di formazione personologica in corso, assumono una penetranza del tutto speciale ed un riverbero che non è solo di carattere tecnico-sanitario in senso stretto, bensì ricco di una proiezione

esistenziale che tocca il percorso intero della vita.

La riabilitazione, in sostanza - soprattutto quando concerne il recupero dell'autonomia della persona nell'esercizio delle funzioni superiori pretende un elevato standard di competenza scientifica e, nel contempo, esige che questa stia dentro la cornice di una concezione antropologica ben definita.

Meno di altri ambiti medici, può delegare ad una asettica dimensione tecnica, per quanto accurata, l'appropriatezza e l'efficacia del proprio intervento.

Si tratta, dunque - per parte nostra, lo verificiamo costantemente in ragione delle patologie che, giorno per giorno, siamo chiamati ad affrontare di una disciplina che diventa sempre più intrigante ed impegnativa.

Per un verso, dal punto di vista della sua validazione scientifica, sta sul crinale oggi più avanzato: quello che, ad un tempo, distingue ed integra biologia molecolare e genetica da una parte, il largo sviluppo delle neuroscienze dall'altra.

Per un altro verso ancora, sta sul confine tra un approccio rigorosamente scientifico e la sua declinazione nella specificità, anzi nella unicità irripetibile della singola persona e come tale evoca quel risvolto di empatia e di valore umano della relazione tra l'operatore sanitario ed il piccolo paziente che rappresenta una dimensione irrinunciabile ed essenziale, anche per il buon esito tecnico dell'intervento del "curare" e del "prendersi cura".

Né va dimenticato che anche nel caso della neuroriabilitazione, come in altri campi, al miglior affinamento diagnostico oggi possibile nei confronti di numerose patologie, a cominciare da quelle congenite e rare, non è così immediato né facile corrispondere in termini di altrettanta efficacia sul piano terapeutico.

D'altronde, quando si dice "disabilità" si fa riferimento ad un fenomeno ampio ed articolato, non statico nello spazio e nel tempo, ma, al contrario, attraversato da una dinamica, sia sul versante epi-

miologico che etiopatogenetico, che riflette anche il contesto sociale, economico e culturale in cui si manifesta.

Non a caso, pure in un ambiente caratterizzato da un tenore di vita mediamente buono, come può essere considerato il nostro e quello degli altri Paesi europei, le prime età della vita possono incontrare “fattori di rischio” che limitano o distorcono i fisiologici percorsi evolutivi e di maturazione delle autonomie del soggetto, legati a processi sociali che, nell’accezione comune, consideriamo non involutivi o regressivi, ma piuttosto di crescita.

L’istituto “E.Medea” vede crescere costantemente, da diversi anni, la propria produttività scientifica sia in virtù di una strategia di indirizzo scientifico che intende interpretare la disabilità secondo i canoni più aggiornati della ricerca genetica e della medicina molecolare, sia grazie agli importanti investimenti, operati a sostegno di tale nuovo percorso, in termini di risorse umane e di dotazioni strutturali.

Consideriamo, peraltro, tale impegno del tutto sinergico con la costante attenzione a tenere alta la guardia sul piano dell’eccellenza clinica e della capacità di accoglienza che, nei confronti del bambino disabile e del genitore che lo accompagna, non significa solo comfort o qualità alberghiera della vita in ospedale, ma soprattutto attitudine, secondo un concetto più ricco di salute, ad accompagnare l’evoluzione di un limite, spesso severo, verso nuovi percorsi di speranza e di senso pieno della dignità della vita.

**Domenico Galbiati**

*Presidente IRCCS “E.Medea”*

L'IRCCS E. Medea si è proposto di realizzare un piano di ricerca pluriennale destinato a portare un significativo contributo alle conoscenze nel campo della patologia dello sviluppo. L'attività di Ricerca risponde, oltre che alle regole della ricerca scientifica in campo biomedico, anche agli obiettivi specifici di seguito descritti:

- 1) ottemperare ai criteri di uno studio epidemiologico anche di tipo longitudinale
- 2) comparare i dati epidemiologici con quelli clinici
- 3) contemplare lo studio di aspetti biologici, genetici e di sperimentazione su modelli animali
- 4) approfondire gli aspetti psicologici e sociali
- 5) valutare e seguire i risultati degli interventi riabilitativi
- 6) elaborare protocolli riabilitativi.

Va tenuto presente che l'uomo, il bambino, il disabile deve essere considerato nella sua interezza e che la ricerca è uno strumento potente se utilizzato ad esclusivo vantaggio della persona.

Abbiamo pertanto articolato la Ricerca nelle seguenti aree:

- **Neuropatologia** che si occupa dei dimorfismi cerebrali, delle patologie congenite del SNC, delle epilessie, delle Sindromi rare, delle malattie neurodegenerative e neurosensoriali.
- **Riabilitazione neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale** che si occupa della riabilitazione nelle paralisi cerebrali infantili, nelle patologie neuromuscolari, nelle cerebrolesioni acquisite (traumatiche o neoplastiche), dei dimorfismi del rachide e osteomuscolari, delle lesioni midollari congenite ed acquisite, della vescica neurologica.
- **Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento** in cui si inseriscono i disturbi cognitivi, di apprendimento, la psicopatologia clinica, la neuropsicologia clinica, la psichiatria clinica e biologica.

- **Neurofisiopatologia** clinica e sperimentale.

- **Neurobiologia** che si occupa di cromosomopatie, della diagnostica biomolecolare, della terapia genica e che comprende la costituzione di una banca di materiale biologico oltre che il laboratorio di colture cellulari.

- **Bioingegneria** che si occupa dell'analisi dell'errore, dello studio della realtà virtuale, della realizzazione di software e hardware e ausili oltre che della predisposizione, sperimentazione e controllo di qualità di apparecchiature elettromedicali, di telemedicina e teleassistenza e di tecnologie e brevetti di supporto per l'assistenza dell'handicap.

- **Organizzazione di servizi sanitari** ove si valuta la sperimentazione anche economica di sistemi di organizzazione in rete dell'assistenza sanitaria. In quest'ambito si sono sperimentati modelli di integrazione e organizzazione in rete degli interventi sanitari e socio-sanitari, modelli di valutazione di organizzazione della continuità assistenziale e della sperimentazione costi-benefici di telemedicina e teleassistenza. In quest'ambito si collocano la sperimentazione gestionale dei dati clinici, diagnostici e di trattamento.

Particolare risalto va dato ai nuovi programmi di ricerca che prevedono l'utilizzo di metodiche assolutamente innovative applicate alla neuroriabilitazione: la prima in corso di sperimentazione in collaborazione con il Politecnico di Milano è il "Brain-computer interface (BCI): attività e comunicazione nella disabilità motoria grave". In questo progetto l'impiego di tecnologie BCI nella realizzazione di sistemi di facilitazione della comunicazione per soggetti disabili si prefigge di stabilire e valutare l'efficacia dei criteri che consentano l'introduzione di queste tecnologie nella pratica clinica di alcune disabilità. Tale obiettivo è perseguito mediante la progettazione, la costruzione e la sperimentazione.



**Nereo Bresolin**  
 Direttore Scientifico IRCCS "E. Medea"



tazione di un sistema di assistenza alla comunicazione tra persona ed ambiente esterno che affianca l'utilizzo di molteplici parametri fisiologici in modo da massimizzarne l'efficacia attraverso la comunicazione-segnale, le attività di apprendimento, il controllo ambientale, l'uso di strumenti, l'attività lavorativa. Risultante di questo progetto in attuazione sarà la valutazione costo-beneficio di tecnologie avanzate per l'interazione persona disabile-ambiente.

Nel campo della citogenetica e genetica molecolare e biologia cellulare per quanto riguarda sia le patologie di interesse psichiatrico sia le malattie rare in genere, si sono avuti negli ultimi anni notevoli progressi presso l'IRCCS "E. Medea" attraverso la messa a punto di metodiche e analisi sofisticate.

Di grande rilevanza scientifica è la partecipazione dell'IRCCS E. Medea ai progetti di ricerca attuati con il Policlinico di Milano e con l'IRCCS San Raffaele nel campo delle cellule staminali nelle patologie neuromuscolari.

Il nostro Istituto ha partecipato alla stesura di lavori sulle più importanti riviste scientifiche (*Sampaolesi Maurilio, Torrente Yvan, Innocenzi Anna, Tonlorenzi Rossana, D'Antona Giuseppe, Pellegrino M. Antonietta, Barresi Rita, Bresolin Nereo, Cusella De Angelis M. Gabriella, Campbell Kerry S., Bottinelli Roberto, Cossu Giulio* (2003); *CELL THERAPY OF ALPHA-SARCOGLYCAN NULL DYSTROPHIC MICE THROUGH INTRA-ARTERIAL DELIVERY OF MESOANGIOBLASTS*; *Science*, 301:487-492 **I.F. 2002: 26,682**; *Torrente Yvan, Belicchi Marzia, Sampaolesi Maurilio, Pisati Federica, Meregalli Mirella, D'Antona Giuseppe, Tonlorenzi Rossana, Porretti Laura, Gavina Manuela, Mamchaoui Kamel, Pellegrino M. Antonietta, Furling Denis, Mouly Vincent, Butler-Browne Gillian S., Bottinelli Roberto,*

*Cossu Giulio, Bresolin Nereo* (2004); *HUMAN CIRCULATING AC133+ STEM CELLS RESTORE DYSTROPHY EXPRESSION AND AMELIORATE FUNCTION IN DYSTROPHIC SKELETAL MUSCLE*; *Journal of Clinical Investigation*, 114,2:182-195 **I.F. 2003: 14,307**; *Torrente Yvan, Camirand Geoffrey, Pisati Federica, Belicchi Marzia, Rossi Barbara, Colombo Fabio, El Fabime Mosthapha, Caron Nicolas J., Issekutz Andrew C., Constantin Gabriela, Tremblay Jacques P., Bresolin Nereo* (2003); *IDENTIFICATION OF A PUTATIVE PATHWAY FOR THE MUSCLE HOMING OF STEM CELLS IN A MUSCULAR DYSTROPHY MODEL*; *The Journal of Cell Biology*, 162,3:511-520 **I.F. 2002: 12,522**; *Torrente Yvan, D'Angelo Maria Grazia, Li Z., Del Bo Roberto, Corti Stefania, Mericskay M., De Liso Alberto, Fassati Ariberto, Paulin Denise, Comi Giacomo Pietro, Scarlato Guglielmo, Bresolin Nereo* (2000); *TRANSPLACENTAL INJECTION OF SOMITE-DERIVED CELLS IN MDX MOUSE EMBRYOS FOR THE CORRECTION OF DYSTROPHIN DEFICIENCY*; *Human Molecular Genetics*, 9, 12:1843-1852 **I.F. 1999: 9,359**) e tuttora è parte integrante del "progetto uomo" che vede per la prima volta al mondo partecipi bambini affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne nell'utilizzo di cellule staminali autologhe per la verifica delle procedure di safety.

Nella citogenetica in particolare, a partire dal cariotipo standard, sono state successivamente introdotte tecniche quali il cariotipo ad alta risoluzione, la FISH e l'analisi delle sequenze subtelomeriche, per l'impiego sia nella normale attività diagnostica che in progetti di ricerca (finanziati dal Ministero della Salute) per lo studio delle basi molecolari dei riarrangiamenti cromosomici complessi (cromosomopatie).

Parallelamente la genetica formale e molecolare hanno subito un notevole sviluppo con l'introduzione ad esempio di studi di associazione e linkage genetico tramite l'utilizzo di tecniche di analisi dei microsatelliti e programmi dedicati per l'interpretazione dei risultati. Tali tecniche costituiscono attualmente strumenti indispensabili per lo studio di casi famigliari di diverse patologie, in particolare quelle psichiatriche e comportamentali (autismo, ADHD, dislessie) che rappresentano una porzione consistente della casistica del nostro Istituto. Analogamente l'introduzione di tecniche di sequenziamento automatico applicate su larga scala, l'analisi computerizzata delle sequenze genomiche e lo studio dei pattern di espressione genica hanno consentito da un lato un notevole ampliamento delle potenzialità di diagnostica molecolare e dall'altro un consistente rinnovamento di progetti di ricerca volti all'isolamento di nuovi geni responsabili di patologie rare. Le collaborazioni instaurate nell'ultimo anno consentiranno una ulteriore evoluzione in tal senso soprattutto per quanto riguarda gli studi di espressione genica, di analisi funzionale e strutturale di proteine coinvolte nelle patologie d'interesse. Metodiche di biologia computazionale hanno affiancato le tecniche classiche di genetica molecolare. In particolare l'applicazione di metodiche informatiche ha consentito di dare una definizione precisa ed una descrizione quantitativa dei parametri che regolano lo splicing alternativo nel gene della distrofina, per esempio, e di valutare l'impatto patologico delle mutazioni di splicing nel gene stesso. Inoltre, grazie allo sviluppo di metodiche e algoritmi dedicati, è stato avviato un programma di analisi comparativa di sequenza e di genomica funzionale che ha consentito lo studio dei meccanismi molecolari responsabili dell'espansione intronica del locus DMD. Infine, l'applicazione di algoritmi specifici ha permesso di analizzare alcune

proprietà termodinamiche e strutturali della regione genomica comprendente il gene stesso della distrofina e di sfruttare tali studi per migliorare la comprensione dei meccanismi responsabili delle delezioni intrageniche che causano patologia.

L'Istituto, dopo aver promosso, in vista del VI Programma Quadro dell'Unione Europea, con altri 4 IRCCS ed enti di ricerca di altri Paesi membri, la "Espressione di Interesse" NEUROGEN, finalizzata a creare una rete europea di eccellenza per la neuroriabilitazione con particolare considerazione agli aspetti diagnostico-genetici, ha concorso alla presentazione dei seguenti progetti in sede europea:

- 1) "European Network for Research on Alternating Hemiplegia in Childhood for Promoting SMEs integration" - "ENRAH for SMEs"; responsabile - Dr. Claudio Zucca; ruolo dell'Ente: Partner; tipo di azione - SSA "Specific Support Action"; durata - 24 mesi; accettato e in fase di definizione contrattuale;
- 2) "Thought in action" - "TACT"; responsabile - Dr. Massimo Molteni; ruolo dell'Ente - Partner; tipo di azione - STREP "Specific Targeted Research Project"; durata - 36 mesi; all'esame della Commissione Europea;
- 3) "A new diagnostic Fingerprint of genetic, Neural and behavioural markers of Dyslexia" - "FiND"; responsabile del progetto - Dr.ssa Maria Luisa Lorusso; ruolo dell'Ente - Partner; tipo di azione - STREP/STIP; durata - 36 mesi; all'esame della Commissione Europea.

**Nereo Bresolin**

*Direttore Scientifico IRCCS "E.Medeo"*

**RICORDO DEL  
PROF. GUGLIELMO SCARLATO,  
MEMBRO DEL CONSIGLIO DI  
GESTIONE DELL'ISTITUTO**



**Guglielmo Scarlato**

*Direttore Dipartimento Scienze Neurologiche  
Università di Milano - Dal 1980 al 2002*

Il prof. Guglielmo Scarlato è stato una delle più importanti figure nel campo della Neurologia italiana e internazionale degli ultimi quarant'anni.

Modello per ognuno di noi, colleghi, specializzandi e studenti dell'Università di Milano rappresentando un esempio di eccellente clinico, insegnante e ricercatore, resterà d'esempio negli anni per la sua passione per le scienze neurologiche e per le sue qualità umane.

Nato a Napoli nel 1931, dopo un'esemplare iter di studi si laurea con lode nel 1954 nella locale Università. Dal 1955 al 1957 presta attività all'Istituto Max Plank für Hirnforschung di Colonia e successivamente all'Hôpital de la Salpêtrière di Parigi. Si specializza in Neurologia, completa la sua formazione all'Istituto di Istochimica dell'Università di Pavia e nel 1961 ottiene la libera docenza in clinica delle malattie nervose e mentali. Eccellente neurologo clinico e produttivo ricercatore universitario, nel 1957 entra all'Istituto di Clinica Neurologica di Milano. Professore associato nel 1972 e ordinario nel 1979, dal 1980 dirige l'Istituto di Clinica Neurologica (più tardi divenuto Dipartimento di Scienze Neurologiche) dell'Università di Milano presso l'Ospedale Maggiore Policlinico. Dirige inoltre e coordina per molti anni la Scuola universitaria di specializzazione in Neurologia.

È membro attivo di numerose Società di Neurologia (incluse la Società Italiana di Neurologia, l'Associazione Italiana di Neuropatologia e la Società Italiana di Istochimica).

È uno dei fondatori ed è presidente onorario della Società Europea di Neurologia, membro onorario dell'American Academy of Neurology e della Société Neurologique francese e svizzera.

Ha dato il via in Italia al moderno studio delle patologie muscolari. I campi della distrofia muscolare e delle malattie metaboliche sono sempre stati, infatti, i suoi principali interessi clinici e di ricerca.

A sostegno di questo impegno ha fondato vent'anni fa il Centro "Dino Ferrari" per la diagnosi e la terapia delle malattie neuromuscolari e neurodegenerative.

Un'intera generazione di neurologi si è formata in Italia e all'estero secondo il più moderno approccio scientifico alle patologie neurologiche: molti di essi lavorano tuttora presso il Dipartimento di Scienze Neurologiche dell'Università di Milano.

Il prof. Scarlato è stato autore di oltre 400 lavori, capitoli di libri e reviews sulle malattie neurodegenerative e neuromuscolari.

Molti altri temi sono stati approfonditi da lui tra i quali, di particolare interesse, sono state le ricerche per la miologia di base e clinica, le neuropatie disimmuni, le malattie del motoneurone, la patogenesi dei disturbi neurodegenerativi e, non ultimi, i meccanismi dell'invecchiamento cerebrale e il trattamento delle malattie extrapiramidali.

A testimoniare il suo instancabile impegno e la sua costante curiosità scientifica c'è la ricerca recente sulle cellule staminali e sul loro impiego nella terapia delle malattie neurodegenerative. Le numerosissime collaborazioni con clinici e scienziati lo hanno portato alla direzione del nuovo Centro di Eccellenza per lo studio delle malattie neurodegenerative dell'Università di Milano dal 2001, anno della sua fondazione.

Dotato di brillante intelligenza e di qualità personali straordinarie, aveva eccellenti capacità intuitive sia cliniche che diagnostiche. Non trascurava mai, accanto all'approccio scientifico alle malattie, il rapporto umano coi pazienti. Mostrava un genuino interesse per ogni possibile innovazione nel campo delle scienze di base che potesse trovare applicazione nella pratica medica. Noto e apprezzato il suo "sense of humor" molto speciale.

Ha instancabilmente portato un incoraggiamento e un supporto concreto ai suoi collaboratori.

Dal 29 novembre 1996 fino alla sua scomparsa, ha fatto parte del Consiglio di Gestione dell'Istituto Scientifico "E. Medea".

Aveva accolto con grande disponibilità, anzi con entusiasmo, l'invito che gli era stato rivolto in tal senso dall'allora presidente del "Medea", prof. Paolo Mantegazza e dalla signorina Zaira Spreafico, Presidente dell'Associazione "La Nostra Famiglia" di cui l'IRCCS rappresenta la sezione scientifica.

La sua partecipazione ai lavori del Consiglio dell'Istituto "Medea", sempre assidua ed attiva, ha notevolmente concorso, in una fase di ridefinizione degli obiettivi della ricerca dell'Istituto, ad allargarne le prospettive secondo una visione strategica che traeva dalla sua straordinaria competenza clinica e scientifica.

Soprattutto ha ispirato e guidato con diretto e personale impegno alcuni indirizzi che hanno concorso a qualificare l'attività scientifica dell'istituto.

In particolare ha voluto che l'IRCCS "Medea" si convenzionasse con il Dipartimento Universitario di Neuroscienze della Facoltà di Medicina di Milano della cui conduzione, in quella fase, era direttamente responsabile.

Il prof. Scarlato ha anche promosso la creazione a Bosisio Parini di una sede distaccata del Centro "Dino Ferrari" per la diagnosi, la cura e la riabilitazione delle patologie neuromuscolari e neurodegenerative.

Ci ha lasciati il 17 luglio 2002 all'età di 71 anni. Sarà ricordato per sempre da tutti coloro ai quali ha offerto l'opportunità e l'onore di conoscerlo e di lavorare con lui.

**Nereo Bresolin**  
**Domenico Galbiati**

## I N D I C E

ANNUARIO SCIENTIFICO 2003-2004

|  |     |
|--|-----|
| <b>Presidenti, Direttori Scientifici</b> .....   | 13  |
| <b>IRCCS “E. Medea”, un ospedale amico</b> .....   | 14  |
| <b>Focus</b>   |     |
| - Il complesso di Bosisio Parini, una realtà d'avanguardia nel settore delle neuroscienze .....                  | 16  |
| - Biblioteca .....   | 19  |
| - Ricerca e rapporti con il territorio .....   | 21  |
| <b>Comitato etico</b> .....  | 25  |
| <b>Poli Scientifici Regionali</b> .....  | 27  |
| <b>Distribuzione dei casi e delle classi di patologia</b> .....  | 41  |
| <b>Certificazione di qualità dei servizi secondo procedure internazionalmente riconosciute</b> .....             | 45  |
| <b>Ricerche Ministeriali Correnti 2003 (risultati)</b> .....   | 47  |
| <b>Ricerche Ministeriali Finalizzate 2003 (razionali)</b> .....  | 99  |
| <b>Ricerche Ministeriali Malattie Neurodegenerative ex-articolo 56 Legge Finanziaria 2003 (razionali)</b>        |     |
| Unità Operative IRCCS E.Medea in ricerche Capofila altri Enti .....  | 107 |
| <b>Ricerche Ministeriali Correnti 2004 (razionali)</b> .....   | 111 |
| <b>Ricerche Ministeriali Finalizzate 2004 (razionali)</b> .....  | 174 |
| <b>Ricerche Finalizzate Regionali realizzate o in corso di realizzazione: anni 2003 - 2004 (razionali)</b> ..... | 180 |
| <b>Ricerche Telethon realizzate o in corso di realizzazione: anni 2003 2004 (razionali)</b> .....                | 188 |
| <b>Altre Ricerche</b> .....  | 193 |
| <b>Pubblicazioni 2003</b> .....  | 196 |
| <b>Pubblicazioni 2004</b> .....  | 207 |
| <b>Brevetti 2003</b> .....   | 215 |
| <b>Trials clinici</b> .....  | 216 |
| <b>Linee guida</b> .....   | 217 |
| <b>Collaborazioni Internazionali e Nazionali</b> .....   | 217 |
| <b>Partecipazione a Società Scientifiche Nazionali o Internazionali</b> .....                                    | 220 |
| <b>Settore Sviluppo e Formazione</b> .....   | 223 |

**PRESIDENTI****Prof. Dr. Giuseppe Schiavinato**

*Magnifico Rettore dell'Università degli Studi di Milano  
 Presidente dal 30 marzo 1984 al 13 settembre 1991*

**Prof. Dr. Paolo Mantegazza**

*Magnifico Rettore dell'Università degli Studi di Milano  
 Presidente dal 13 settembre 1991 al 9 maggio 2000*

**Dr. Domenico Galbiati**

*già Sovrintendente Sanitario dei Centri La Nostra Famiglia  
 Presidente dal 9 maggio 2000*

**DIRETTORI SCIENTIFICI****Prof. Giorgio Moretti**

*Direttore Scientifico dal 1985 al 1999*

**Prof. Nereo Bresolin**

*già Direttore Scientifico dei Poli  
 Direttore Scientifico dell'IRCCS dal 1999*

**CONSIGLIO DI GESTIONE**

|                          |                       |
|--------------------------|-----------------------|
| <b>Domenico Galbiati</b> | Presidente            |
| <b>Franco Arosio</b>     | Vice Presidente       |
| <b>Gabriella Borri</b>   | Componente            |
| <b>Carla Andreotti</b>   | Componente            |
| <b>Adelaide Meinero</b>  | Componente            |
| <b>Antonio Romano</b>    | Componente            |
| <b>Giancarla Ronco</b>   | Componente            |
| <b>Gabriella Zanella</b> | Componente            |
| <b>Nereo Bresolin</b>    | Direttore Scientifico |
| <b>Massimo Molteni</b>   | Direttore Sanitario   |
| <b>Gian Piero Sironi</b> | Segretario Generale   |

## IRCCS "EUGENIO MEDEA":

### UN OSPEDALE AMICO

La struttura sanitaria ad alta specializzazione IRCCS "E. Medea" Associazione "La Nostra Famiglia" ha una caratteristica inconfondibile: è un Ospedale amico del bambino e della sua famiglia.

È luogo di sollievo e di condivisione, dove la persona viene accolta e considerata per la sua unicità irripetibile, e non viene scomposta in una serie di sintomi da curare.

La sua missione è farci carico del bambino, del giovane o dell'adulto portatore di una disabilità non solo per la riabilitazione di tale disabilità, ma anche per dividerne e alleviarne la sofferenza che la accompagna, sia essa fisica, psicologica o esistenziale.

La tecnologia - tra le più avanzate in Europa - l'ambiente - improntato alla cura del bello - e i benefit - volti a far sentire i piccoli pazienti come a casa propria, rendono tangibile l'attenzione al bambino e ai suoi genitori.

L'organizzazione è a misura di bambino, facilita nel tempo del ricovero il mantenimento delle relazioni affettive fondamentali, offre tempo e spazi in attività ludiche ed espressive.

#### Linee di indirizzo generale

L'Istituto Scientifico "Eugenio Medea", sezione di ricerca dell'Associazione "La Nostra Famiglia", è stato ufficialmente riconosciuto come Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico nel 1985 con sede a Bosisio Parini (Lecco), mentre nel 1998 si è ingrandito con il riconoscimento dei Poli Scientifici Regionali di Conegliano (Treviso), Ostuni (Brindisi) e S. Vito al Tagliamento (Pordenone).

È oggi l'unico Istituto Scientifico italiano dedicato alla ricerca e alla riabilitazione nello specifico ambito dell'età evolutiva e si caratterizza per:

- la più ampia casistica in Italia nell'ambito dell'età evolutiva

- la rete dei Centri "La Nostra Famiglia", vero e proprio "Osservatorio nazionale" nel campo della disabilità infantile
- l'ampiezza del campo d'azione: il ventaglio è dalla genetica agli aspetti di carattere sociale inerenti la riabilitazione
- l'approccio multidisciplinare dei gruppi specialistici di operatori professionali

#### Campi di intervento

L'IRCCS "E. Medea" è un centro unificato di Servizi e Ricerca che si occupa di:

- Diagnosi clinica e funzionale di malattie che provocano disabilità temporanee o permanenti, specie in età evolutiva
- Interventi riabilitativi, attraverso programmi scientificamente accreditati, finalizzati al massimo superamento di tali disabilità e integrati dalla riabilitazione sportiva e da servizi di tipo pedagogico, psicologico e sociale
- Sviluppo della ricerca nel campo delle neuroscienze finalizzata alla diagnostica, alla terapia genetica, allo studio e sperimentazione di tecniche riabilitative, alla individuazione di nuove tecnologie in campo bioingegneristico, allo studio di modelli gestionali sempre più avanzati e adeguati e infine alla valutazione degli aspetti infortunistico-legali del danno subito in età precoce
- Formazione di operatori tecnici per la Riabilitazione, per il Servizio Sociale e per l'Educazione Professionale
- Formazione e riqualificazione professionale della persona disabile attraverso programmi specifici da realizzare in sede o presso altre strutture
- Divulgazione di conoscenze che facciano superare pregiudizi e comportamenti discriminanti nei confronti delle persone disabili

La politica dell'Istituto rispetta il suo compito istituzionale: promuovere una ricerca biomedica e sanitaria strettamente collegata alla clinica e primariamente finalizzata alla verifica e al miglioramento della riabilitazione. Inoltre la vasta rete dei Centri de "La Nostra Famiglia" costituisce un buon banco di prova e consente di effettuare ricerche affidabili sotto il profilo della significatività qualitativa e quantitativa.

Ciò è possibile in quanto:

- le dimensioni dell'utenza sono rilevanti, certamente le maggiori in Italia per quanto concerne l'età evolutiva. Questo consente di attivare un osservatorio epidemiologico di grandi proporzioni: annualmente l'Associazione "La Nostra Famiglia" segue oltre 16.000 nuovi casi, con un bacino demografico teorico di più di 25 milioni di abitanti
- le strutture IRCCS godono di una sufficiente uniformità operativa e si avvalgono di linguaggi tradotti in protocolli comuni
- i Poli dell'IRCCS operano in stretta connessione sia per quanto concerne gli assetti gestionali e organizzativi, sia per quanto riguarda le linee guida e i protocolli clinici concernenti le patologie di riferimento.

### Attività di ricerca

La ricerca scientifica in riabilitazione ha il compito di dirigere i suoi sforzi lungo due direttrici principali:

- 1) la conoscenza dei processi fisiologici che una volta alterati determinano disabilità, sia per quanto riguarda la loro caratterizzazione biologica e genetica, sia per quanto riguarda i loro correlati funzionali neuropsicologici e neuroradiologici

- 2) la sperimentazione e la validazione degli interventi riabilitativi con particolare riguardo all'utilizzo di nuove tecnologie e di nuovi materiali, sia per i processi riparativi che per lo sviluppo di ausili tecnologici

*L'Istituto ha posto come fondamento della ricerca un indirizzo etico di piena salvaguardia della dignità della persona e di integrale rispetto della vita. Questo significa che in nessun modo l'approccio clinico può essere strumentalizzato o forzato ai fini della ricerca, ma che è la ricerca che si lascia guidare dalla domanda e dal bisogno di chi soffre.*

In tal senso un appropriato raccordo tra clinica e ricerca consente di:

- studiare e proporre strategie di prevenzione delle disabilità fisiche, psichiche e sensoriali
- recupero delle autonomie funzionali del soggetto quanto più ampio possibile
- proposta di prassi e metodologie scientificamente validate di intervento riabilitativo, sanitario, educativo e sociale.



## FOCUS

IL COMPLESSO  
DI BOSISIO PARINI**Una realtà d'avanguardia nel settore delle neuroscienze**

Si è ultimato il 7° padiglione, un nuovo complesso di costruzioni e di ampliamenti che renderanno "La Nostra Famiglia" di Bosisio Parini centro unificato di Servizi e Ricerca.

La riorganizzazione e razionalizzazione totale del complesso sono state progettate in coerenza con la *mission* dell'Associazione, che consiste nel tutelare la dignità e migliorare la qualità della vita - attraverso interventi di riabilitazione sanitaria e sociale - delle persone con disabilità, specie in età evolutiva, e delle loro famiglie.

Molte sono le ragioni che hanno reso indispensabile la realizzazione di questo progetto, e più precisamente:

- l'orientamento della domanda sanitaria nel campo riabilitativo verso **prestazioni di alta qualità**, che possono essere conseguite solo attraverso *l'integrazione delle varie fasi che compongono il ciclo di servizi*
- la necessità di **razionalizzazione** nella gestione delle strutture sanitarie (per consentire di affrontare il progressivo diminuire delle risorse a fronte degli aumenti di costo richiesto dalla qualità dei servizi offerti)
- il delinearsi di nuovi campi di intervento nella **riabilitazione precoce** dei traumi encefalici da incidente o delle lesioni acquisite a seguito di interventi al sistema nervoso centrale di varia origine, specie in età evolutiva, oppure nella **diagnosi funzionale interdisciplinare ai fini riabilitativi**
- la necessità, determinata dallo sviluppo dell'**informatizzazione**, di **pre-disporre anche dati**, in collaborazione con altre organizzazioni pubbliche e private italiane e straniere, per la acquisizione delle informazioni utili alla diagnosi, alla riabilitazione e alla autonomia di vita della persona disabile, e di utilizzare sistemi aggiornati di gestione sanitaria

- la necessità, per il Complesso di Bosisio, di consolidare la vocazione di **elemento guida di 4 Poli regionali dell'Istituto Scientifico "E. Medea"**
- **l'assegnazione di ulteriori posti letto** autorizzata dalla Regione Lombardia.

**Il 7° Padiglione**

La volumetria del nuovo Centro di ricovero e cura è suddivisa in due edificazioni lineari, una parallela al padiglione 1 e l'altra al padiglione 3, venendo così a formare una "V" che ha come vertice la Hall di ingresso, fulcro dell'organizzazione planimetrica e geometrica del nuovo edificio.

La Hall è pensata come un grande spazio a tutt'altezza, completamente trasparente, crocevia obbligato di ogni percorso.

Nello spazio della hall si affacciano le principali funzioni pubbliche richieste, da quelle più legate alla vocazione ospedaliera del luogo (reception, accoglienza, ecc.) a quelle cosiddette di supporto (caffetteria, zone di sosta e attesa...).

La struttura presenta un piano interrato (livello-1), un piano terra parzialmente interrato su un lato (livello 0) e due piani fuori terra (livelli +1 e +2).

**LIVELLO-1 - PIANO INTERRATO**

Il piano interrato è molto più ampio del corpo a forma di V e contiene tutte le funzioni di servizio e di supporto di un complesso ospedaliero.

Già a questo livello è presente lo spazio della hall, concepito come facente parte del piano superiore; infatti ad esso è visivamente e funzionalmente collegato in modo diretto e autonomo, ed è realizzato per contenere quei servizi dedicati al pubblico, per i quali è opportuna una localizzazione più defilata (spaccio, parucchiere, lavanderia, bancomat, ecc.). Nel piano interrato è localizzato un parcheggio, diviso in due parti, una riservata agli addetti e una per i visitatori. Può contenere un totale di 280 autoveicoli.



Al livello -1 sono ubicate le centrali impiantistiche di nuova realizzazione al servizio di tutti i Padiglioni: quest'area ha un proprio accesso indipendente.

In questa zona è localizzata anche un'area merci con un proprio ingresso autonomo e dotata di un ufficio di controllo e ricevimento merci, dove si possono effettuare operazioni di carico, scarico, raccolta rifiuti, ecc., in una zona coperta e riservata.

In collegamento diretto con la zona di arrivo delle merci sono individuate le principali aree adibite a deposito di tipo ospedaliero, farmacia e guardaroba.

Sempre nelle vicinanze dell'area di carico e scarico merci, sono localizzati il magazzino e le celle frigorifere della nuova cucina centralizzata al servizio di tutti i Padiglioni.

Al livello -1 è inoltre collocato il blocco operatorio costituito da due sale operatorie coi relativi locali di servizio (preparazione, risveglio, sterilizzazione, ecc.) oltre alla zona degli archivi sanitari.

Anche la morgue è ubicata a livello interrato, per consentire collegamenti riservati e separati dai percorsi pubblici.

#### LIVELLO 0 - PIANO TERRA

Il piano terra (livello 0) contiene le funzioni più "pubbliche", oltre alla hall e l'area della zona ristoro con la cucina, contiene il reparto della diagnostica d'immagine (neuroradiologia, raggi X, risonanza magnetica, ecografia, TAC, ecc.), il reparto ambulatori, il reparto di cardiologia e una cappella.

La parte di edificio parallela al Padiglione 3 contiene, a partire dal livello 0, i tre reparti di degenza (raggruppamento NR1, raggruppamento riabilitazione funzionale, raggruppamento NR3).

#### LIVELLO + 1 - DEGENZA

Le camere sono 58, di cui 2 a degenza intensiva, e sono predisposte per uno o due posti letto, con bagno privato utilizzabile anche da disabili.

I reparti di degenza sul lato opposto alle camere ospitano la zona dedicata ai servizi, aree cioè riservate al personale medico e paramedico per lo svolgimento delle proprie funzioni.

L'ambiente realizzato risulta essere rassereneante e confortevole, con arredi, finiture, colori e qualità materiche che accentuano la familiarità dei luoghi; vi è un controllo totale di temperatura, umidità, rumore e ventilazione; l'utilizzo di materiali e colori anche per le attrezzature e gli impianti è strutturato in modo da eliminare gli stimoli di paura e di disagio anche nelle fasi più specialistiche.

#### LIVELLO + 2 - LABORATORIO, STRUTTURE DI RICERCA, AMBULATORI E SPAZI DEDICATI ALLA RIABILITAZIONE FUNZIONALE

Al livello +1, oltre alle degenze, sono collocati gli spazi adibiti a trattamenti riabilitativi del Raggruppamento di Riabilitazione e Recupero funzionale. Al livello +2 sono localizzati i laboratori di analisi e di ricerca (biologia nucleare, citogenica, sierologia immunoenzimatica, ematologia, ecc.).

#### SERVIZI E COLLEGAMENTI

Dalla hall si dipartono percorsi per raggiungere e collegare tra loro tutte le altre funzioni; il primo percorso è quello che porta alle aree di ristorazione dell'ospedale (zone pranzo e caffetteria), che comprendono a loro volta quattro sale di diverse dimensioni, rivolte a diverse utenze, la prima da 200 posti per il personale e la seconda da 100 posti per i pazienti in day-hospital e i loro accompagnatori. Queste due sale, servite entrambe da self-service, hanno ingressi e servizi autonomi.

L'ospedale si configura perciò come ospedale aperto, integrato da attività perisanitarie, esercizi commerciali, alberghieri e di ristorazione, attrezzature collettive, nonché spazi dedicati alle associazioni di volontariato e di assistenza sociale.

Le altre due sale minori da 20 e 30 posti hanno anch'esse accesso indipendente e

propri servizi, si affacciano anch'esse sul giardino interno e sono supportate da una zona di office-riscaldamento cibi distaccata rispetto alla cucina centrale.

La cucina centrale in diretto contatto con i self-service delle due mense maggiori, tramite due montacarichi è in grado di collegarsi con il magazzino delle derrate alimentari del livello 1.

Questa cucina non serve solo le mense, ma prepara e veicola i pasti giornalieri di tutti i reparti di degenza dei vari Padiglioni.

Dalla hall, tramite un altro percorso, si raggiungono i servizi ospedalieri previsti al piano terra: diagnostica d'immagine e ambulatori; il percorso che si diparte dalla hall conduce ai vari reparti di degenza, anche attraverso scale mobili ed ascensori panoramici.

#### NUOVO CENTRO SPORTIVO E PISCINE DI RIABILITAZIONE

Nell'area adibita a piscine sportive e riabilitative vengono assistiti pazienti pediatrici portatori di disabilità neuromotoria e soggetti giovani adulti con vari esiti post-traumatici; l'offerta di questi servizi integra un ciclo completo di cura e riabilitazione.

Il livello 0 dell'area piscine contiene la piscina sportiva (25x12 m con profondità da 1,5 m ad 1,8 m) la piscina ludica per bambini (10x5 m con profondità da 0,8 m ad 1 m), un'area per la ginnastica preparatoria ed i relativi spogliatoi, maschili e femminili per cinquanta utenti ciascuno ed uno spogliatoio per bambini o bagnanti con necessità d'assistenza. Al livello +1 sono posizionate le piscine riabilitative ed i relativi spogliatoi "assistiti".

Sul versante opposto del corridoio a doppia altezza, separato dall'area piscina da una vetrata, sono posti i locali di assistenza, quali le sale terapeuti, un locale per il pronto soccorso, ed i servizi igienici per i visitatori, mentre in corrispondenza della piscina sportiva vi sono le tribune con 90 posti a sedere.

## PERCORSI

Sono stati distinti diversi tipi di percorsi:

- personale, pazienti, visitatori
- merci in arrivo e partenza, rifiuti
- automobili

Le persone che arrivano al Padiglione 7 sono per la maggior parte alla guida di un'auto e, tramite una viabilità tangenziale che non interferisce con le zone verdi tra i padiglioni, arrivano nel parcheggio interrato.

Dal parcheggio si giunge direttamente nella hall, attrezzata con le funzioni di uso pubblico già citate; qui è prevista la reception, dove viene effettuato il controllo e lo smistamento dei visitatori ai vari servizi e reparti.

L'ospedale riacquista in tal modo una valenza urbana, diventando una struttura aperta al territorio e perdendo il carattere di recinto esclusivo, impermeabile e specialistico; la localizzazione conduce alla massima fruibilità; si assiste alla riduzione del rischio idrogeologico e sismico anche dal punto di vista tecnico strutturale, sotto il profilo del funzionamento degli impianti, della funzionalità distributiva, dei sistemi di mitigazione delle conseguenze di eventi incidentali.

I percorsi di barelle, carrelli, merci e impianti sono tutti previsti al piano interrato, attraverso un collegamento protetto fra tutti i padiglioni già esistenti del complesso.

Il personale utilizza per la sua movimentazione prevalentemente il livello 1. Dalla hall parte infatti un percorso autonomo per il personale che, dopo il controllo magnetico e la sosta nei vari spogliatoi, può usufruire di ascensori dedicati.

I percorsi del livello 0 sono di uso generale (pazienti ambulatoriali, visitatori) e vengono utilizzati dal personale nei momenti di pausa lavorativa (ora di pranzo, coffee-break...).

## BIBLIOTECA

L'IRCCS "E. Medea" è dotato di una Biblioteca Scientifica, ubicata presso la sede centrale di Bosisio Parini. Di seguito vengono fornite indicazioni relative al servizio offerto:

### SCHEDA TECNICA

#### *Orario d'Apertura:*

lunedì/mercoledì/venerdì  
dalle 8.30 alle 12.30  
dalle 13.30 alle 16.00

martedì/giovedì  
dalle 8.30 alle 12.30  
dalle 13.30 alle 16.30

#### *Responsabile:*

dott.ssa Caterina SALA

### SERVIZI:

- Consultazione e prestito
- Fotoriproduzione
- Ricerche bibliografiche online
- Document Delivery
- Posti a sedere per la consultazione: n. 50
- Postazioni Internet: n. 7
- Patrimonio Monografico: 5013 volumi
- Patrimonio Seriale:  
121 abbonamenti di cui 83 correnti  
(37 online)

L'obiettivo cui è rivolta l'attività della Biblioteca Scientifica dell'IRCCS "Medea" è quello di rendere disponibile un sistema d'informazione scientifica che si distingua per qualità, completezza e tempestività.

Quest'obiettivo, comune a tutte le biblioteche afferenti al Sistema Sanitario Nazionale, è particolarmente vero per la nostra struttura che annovera tra i propri fini istituzionali la ricerca biomedica tesa a migliorare la salute dei cittadini.

Nello specifico, l'attività della biblioteca si sviluppa in due ambiti di competenza:

- I° prestiti e gestione patrimonio librario*
- II° documentazione scientifica*

### **I° Prestito e Gestione Patrimonio Librario**

I servizi compresi in quest'area sono rivolti al personale tecnico dell'IRCCS, agli studenti dei Corsi di Laurea attivi presso l'istituto e agli utenti esterni (studenti scuole superiori, medici ricercatori, personale operante nelle strutture ASL ecc. . .) e si articolano in:

- consultazione libera e gratuita di riviste e volumi
- prestito materiale monografico
- consulenza bibliografica per elaborazione tesi, relazioni ecc. . .
- fotoriproduzione
- consultazione di cataloghi e risorse elettroniche

Ad oggi il patrimonio monografico della biblioteca ammonta a 5013 volumi catalogati secondo la Classificazione Decimale Dewey (10<sup>a</sup> edizione ridotta).

Il catalogo è su supporto cartaceo e consente sia una ricerca per autori sia per soggetto. È in fase di progettazione il passaggio ad una versione elettronica del catalogo (OPAC) che renderà consultabile il patrimonio della biblioteca, sia dalla sede centrale, sia da qualsiasi postazione remota.

### **II° Documentazione Scientifica**

Parallelamente a queste si sviluppano anche le attività del Servizio di Documentazione Scientifica (SDS). Questo servizio riveste un ruolo di fondamentale importanza all'interno del nostro istituto perché consente un costante aggiornamento sui risultati della ricerca scientifica in atto e sulla loro corretta applicabilità nella pratica clinica.

Nello specifico il SDS si articola nelle seguenti attività:

- ricerche bibliografiche on-line (n. 7 postazioni internet in biblioteca)
- consultazione riviste scientifiche in versione cartacea e full text
- document delivery
- TOC's Alert

*Ricerche bibliografiche on-line*

Il SDS ha attuato un sistema d'Information Retrieval che si realizza tramite le ricerche bibliografiche on-line su MEDLINE e sugli altri archivi della National Library of Medicine gratuitamente consultabili via Web tramite PubMed o NLM Gateway. Inoltre le postazioni internet presenti in biblioteca consentono di:

- consultare diverse banche dati scientifiche, oltre a Medline, quali Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), Cancer.gov etc. . .
- consultare banche dati elettroniche di natura giuridica (legislazione regionale e nazionale)
- entrare nella Home Page di molteplici Enti di ricerca di tutto il mondo per conoscerne le attività scientifiche in corso; partecipare alle liste di discussione sui maggiori temi della ricerca scientifica internazionale;
- consultare siti ufficiali per l'utilizzo delle Linee Guida in ambito medico e dei risultati della Evidence Based Medicine.

*Consultazione Riviste Full Text, Document Delivery e TOC's Alert*

Il reperimento dei documenti, individuati tramite ricerca bibliografica, avviene attraverso un duplice canale:

Canale Interno IRCCS

Consultazione diretta delle riviste in formato elettronico e/o cartaceo cui l'Istituto è abbonato e delle piattaforme elettroniche d'alcuni editori (attualmente LWW e Synergy-Blackwell).

Per il 2004 i periodici scientifici presenti in biblioteca sono 121 di cui 83 correnti e 37 anche in versione on-line.

Tramite rete intranet è stato realizzato un servizio di *Table of Contents Alert* rivolto a tutto il personale tecnico IRCCS che rende possibile la consultazione regolare degli indici dei periodici in abbonamento.

Canale Esterno IRCCS

Servizio di Document Delivery, cioè di reperimento presso altre biblioteche, a livello nazionale e internazionale, d'articoli non presenti nella nostra biblioteca.

A tal proposito la biblioteca dell'IRCCS è inserita nei seguenti circuiti:

SBBL - Sistema Bibliotecario Biomedico Lombardo - Regione Lombardia

ACNP - Catalogo Collettivo Pubblicazioni Periodiche - CIB Università Bologna

Sistema NILDE - Network Inter Library Document Exchange - Università Bologna

4. BIBLIOSAN - Sistema Bibliotecario degli Enti di Ricerca Biomedici Italiani - Ministero della Salute (operativo da maggio 2004).

L'adesione alle reti ACNP, NILDE e BIBLIOSAN vede la biblioteca dell'istituto impegnata non solo come utente, ma anche come fornitore di materiale bibliografico con una quotidiana attività di document delivery.

## RICERCA E RAPPORTI CON IL TERRITORIO

**Il Progetto  
Healt Innovation Network  
Technology@Lecco  
(HINT@Lecco)  
per la creazione di un network  
di eccellenza nell'ambito della  
ricerca biomedica di base  
e applicata**

Il progetto HINT@Lecco, promosso dall'Istituto "E.Medea" in collaborazione con l'ospedale di riabilitazione Valduce-Villa Beretta, il distaccamento lecchese del Politecnico di Milano, il laboratorio di Lecco del CNR e cofinanziato dalla Fondazione Cariplo, rappresenta un significativo modello di collaborazione interdisciplinare attraverso processi di integrazione a rete tra unità operative di diversa vocazione scientifica che, applicando ad un comune progetto di ricerca differenti competenze tematiche, raggiungono livelli di sinergia rilevanti sul piano dell'incremento conoscitivo e della sua ricaduta tecnologica.

Per di più, HINT@Lecco si colloca nell'ambito di UNIVERLECCO, associazione - di cui fanno parte le istituzioni pubbliche locali (Amministrazione provinciale; Comune capoluogo; Camera di Commercio), le categorie d'impresa (Unione Industriali; API; Confartigianato) e le forze sociali finalizzata a curare gli insediamenti universitari nella provincia di Lecco.

Si tratta, cioè, di una iniziativa che ha un forte radicamento territoriale ed intende interloquire - soprattutto nel campo dei biomateriali innovativi, dell'elettronica applicata ai sensori, dell'informatica diretta all'interfaccia "mente-computer" e delle biotecnologie - con una industria locale che ha storicamente una grande tradizione imprenditoriale, ma soprattutto segnala oggi una forte propensione alla diversificazione ed alla innovazione produttiva.

HINT@Lecco ha, come il piano di cofinanziamento della Fondazione Cariplo, una proiezione triennale ed un significato metodologico che va al di là dei contenuti previsti nei singoli progetti di ricerca fin qui contemplati.

La finalità-cardine consiste, infatti, nella studio e nella predisposizione di un laboratorio "virtuale" ed aperto, cioè non configurato fisicamente in un'unica sede, ma "delocalizzato" (per quanto, per ora, su uno scacchiere territoriale suffi-

cientemente contenuto) e connesso grazie a tecnologie di comunicazione e di scambio operativo la cui sperimentazione rappresenta il filo conduttore essenziale del progetto.

Il proposito comune è poi quello di andare oltre il triennio già avviato per cercare un ulteriore allargamento di tale programma, anche integrando nuove competenze, al di là dell'area lecchese che ha il merito di fungere, per ora, da incubatoio di un'idea stimolante e, a giudicare dai primi positivi risultati di un anno di lavoro, ricca di prospettive.

Vengono di seguito sinteticamente presentate le linee di intervento che il progetto si propone.

*Ricerca di base nell'ambito della medicina riabilitativa e bioingegneristico.*

La ricerca si focalizzerà sullo sviluppo di nuove metodologie per la cura delle patologie indotte da malattie del sistema nervoso che inducono disabilità croniche gravi, nonché nella sviluppo di tecnologie di base ed applicative di supporto al percorso clinico ed alla medicina riabilitativa il cui scopo è l'indagine e lo sviluppo di tecnologie, materiali innovativi, sistemi di misurazione, sistemi e modelli software di supporto per lo sviluppo di nuove strategie riabilitative e un migliore supporto a quelle esistenti.

La ricerca verrà articolata nelle seguenti aree:

- Ricerca nell'ambito dell'Atassia di Friedreich. Verranno sviluppate modalità di analisi strumentale che consentano di identificare parametri oggettivi inerenti la coordinazione, l'efficacia e l'efficienza della deambulazione che consentirebbero di verificare la correlazione fra genotipo/fenotipo e funzione motoria e la pianificazione e verifica di strategie di cura innovative; inoltre si intendono definire modalità di analisi funzionale strumentale inerenti la coordinazione dei movimenti dell'arto superiore che consentirebbero di verificare la cor-

relazione fra genotipo/fenotipo e funzione motoria e l'efficacia di trattamenti farmacologici in pazienti non deambulanti.

- Ricerca nell'ambito della Sindrome Post Polio per la messa a punto una linea guida di valutazione clinico-strumentale per la diagnosi di sindrome post polio, e ricerca di base ed applicazioni tecnologiche di materiali innovativi per lo sviluppo di nuovi tutori per la deambulazione; per ciò che riguarda la sindrome Post Polio, si intende mettere a punto una linea guida di valutazione clinico-strumentale per la diagnosi di sindrome post polio, studiare il fenomeno della fatica muscolare localizzata nei soggetti affetti da sindrome post polio con modalità di analisi metabolica locale (microdialisi muscolare); i fenomeni di invecchiamento muscolare con tecniche di analisi del mRNA; la modificazione morfostrutturale del muscolo con esiti di poliomielite in risposta a programmi di esercizio; la modificazione metabolica del muscolo con esiti di poliomielite in risposta a programmi di esercizio, di tutorizzazione con materiali innovativi; la modificazione morfostrutturale del muscolo con esiti di poliomielite in risposta a terapie farmacologiche; la modificazione metabolica del muscolo con esiti di poliomielite in risposta a terapie farmacologiche. Inoltre, le possibilità offerte dall'analisi del movimento con strumentazioni ad alto contenuto tecnologico, in sinergia con il progredire scientifico medico riabilitativo permettono oggi di riaffrontare i problemi di deambulazione dei "polio survivors" offrendo rivalutazioni funzionali idonee ad impostare programmi mirati per progettare modificazioni di tutori od ortesi utilizzando materiali innovativi. Lo scopo della ricerca in questo ambito è quindi anche strettamente correlato allo sviluppo di tecnologie innovative per l'analisi multifattoriale, il recupero del cammino; effettuare una rivalutazione clinico-strumentale della deambulazione

per verificare i risultati a distanza degli interventi chirurgici funzionali; effettuare una revisione di tutori ed ortesi in uso; valutare l'incidenza delle problematiche dolorose ed identificarne le cause; valutare l'incidenza del sintomo fatica nell'ambito di attività di vita quotidiana, la possibilità di trovare un indice attraverso la valutazione clinico-strumentale della deambulazione utile a stratificare i pazienti in categorie funzionali coerenti con la disabilità della deambulazione; costruire tutori personalizzati con materiali innovativi.

L'attività di ricerca si concentrerà quindi sullo sviluppo di nuovi materiali funzionali e strutturali di interesse per le specifiche problematiche poste dallo sviluppo di tutori per polio survivors:

- sintesi e caratterizzazione di nuovi materiali metallici con elevate caratteristiche di elasticità.
- Sintesi e caratterizzazione di materiali a memoria di forma a ridotta isteresi termica e meccanica e valutazione delle proprietà di ferromagneti a memoria di forma.
- Sintesi e caratterizzazione di materiali strutturali ultraleggeri ad elevata resistenza meccanica quali le leghe di Ti e di Mg.
- Messa a punto della tecnologia per la preparazione e caratterizzazione di fluidi di magnetoreologici;
- Analisi multifattoriale HiTech del movimento per la pianificazione e verifica del trattamento della grave disabilità da disordini del movimento dell'arto superiore.

Attraverso la produzione di modelli matematici innovativi e software dedicato si vuole giungere ad un utilizzo clinico di sistemi innovativi Hi-tech di analisi strumentale che potranno essere disponibili per il mercato delle apparecchiature biomediche per la valutazione della funzione dell'arto superiore in condizioni di reali attività correlabili alla vita quotidiana, superando dei limiti impliciti ed in-

trinseci della sola osservazione clinica. Tutto ciò è possibile con una stretta sinergia operativa fra bioingegneri e clinici in sede ospedaliera ove la presenza delle sopradescritte strumentazioni renda facilmente accessibile la sperimentazione a favore dei pazienti.

• Sviluppo di un approccio multidisciplinare al trattamento nelle patologie neuro-muscolo-scheletriche. Il focus della ricerca sarà la definizione di protocolli, conduzione di attività sperimentale su pazienti, monitoraggio, sviluppo di modelli innovativi orientati a patologie neuromuscolari genetiche per il recupero del cammino. L'obiettivo ultimo è un miglioramento del trattamento, recupero e integrazione sociale di soggetti disabili, l'innovazione tecnologica di settori ad alto valore aggiunto, trasferimento all'industria con particolare riferimento a materiali innovativi per ortesi e protesi, sistemi clinici per il monitoraggio domiciliare del paziente, sistemi di stimolazione elettrico funzionale avanzati, carrozzine ad alta tecnologia e sistemi per la mobilità.

L'impiego di tecnologie BCI nella realizzazione di sistemi di facilitazione della comunicazione per soggetti disabili è ancora in uno stadio sperimentale. Il presente progetto si prefigge di stabilire e valutare l'efficacia di criteri che consentano l'introduzione di queste tecnologie nella pratica clinica di alcune disabilità. Dal punto di vista dell'utente disabile il progetto prevede l'integrazione di nuovi ausili di interazione al fine di soddisfare il paradigma "dall'intenzione all'azione", permettendo ad ogni persona disabile di gestire e utilizzare il proprio sistema di controllo in base alle proprie risorse e esigenze specifiche.

Tale obiettivo verrà perseguito mediante la progettazione, la costruzione e la sperimentazione di un sistema di assistenza alla comunicazione tra persona e ambiente esterno che affianchi l'utilizzo di molteplici parametri fisiologici in modo da massimizzarne l'efficacia.

- Sviluppare modelli di telemonitoraggio avanzati, basati sull'impiego di diverse tipologie di reti telematiche, per consentire la valutazione remota dello stato di salute del paziente domiciliare affetto da patologia critica. Lo scopo è di costruire protocolli clinici ed individuare modalità gestionali che consentano l'impiego di strumenti di telecomunicazione diffusi sul territorio nella pratica clinica quotidiana, puntando ad una riduzione della durata della degenza, ad una miglior qualità di alcuni servizi sanitari e ad un utilizzo più efficiente delle risorse disponibili.

- Ricerche nei campi dell'integrazione dell'informazione proveniente da segnali e immagini con diverse modalità riferite al sistema nervoso. Recenti sviluppi tecnologici hanno ampliato la classe delle tecniche di indagine dell'anatomia e della funzionalità cerebrale (EEG e MEG TAC, SPET e PET). Ognuna di queste tecniche prevede una specifica modalità di imaging e di indagine caratterizzata da limiti e vantaggi peculiari.

Uno degli obiettivi principali del progetto è quello di rendere disponibili metodiche di elaborazione dei dati e delle immagini atti ad integrare le diverse informazioni in essi contenute, oltre a elaborare modelli di interpretazione delle complesse realtà biologiche per affrontare in modo più oggettivo e organico il problema del miglioramento delle conoscenze fisiologiche e delle applicazioni nella clinica diagnostica, nella terapia e nella riabilitazione.

Le applicazioni riguardano patologie di grande rilievo sociale, in ambito sensori-motorio (per patologie neuromuscolari genetiche ed acquisite, morbo di Parkinson e malattia di Alzheimer, lesioni spinali, etc) ed in ambito cardiorespiratorio (disautonomie centrali e periferiche, apnee notturne, etc), sia per la diagnostica funzionale, che per lo sviluppo di nuovi metodi e tecnologie per il trattamento terapeutico e riabilitativo.

#### *Attività infrastrutturali di supporto.*

Gli obiettivi di ricerca di base che il progetto si propone devono potersi avvalere della parallela creazione di strumenti e strutture idonei al perseguimento dei fini di innovazione e di creazione di un ambiente in cui il processo possa avvenire in modo sostenibile e continuativo nel tempo. Inoltre, l'ambizione di divenire un centro di riferimento a livello Nazionale ed Internazionale richiede quella solidità offerta da strutture dedicate, che forniscano anche il contesto ideale per la il trasferimento e lo scambio della conoscenza, ad esempio nell'atto della formazione.

A tal fine, tra gli obiettivi del progetto sussistono:

- la creazione e/o potenziamento di laboratori clinici a gestione interdisciplinare medico-bioingegneristica con strumentazione per l'analisi multifattoriale del movimento e della funzione respiratoria, per il trattamento e lo studio di patologie neuromuscolari genetiche ed acquisite dell'età adulta presso le strutture dell'Ospedale Villa Beretta di Costamasnaga (Fondazione Valduce), di laboratori clinici a gestione interdisciplinare presso l'IRCCS Medea di Bosisio Parini per la cura delle patologie neuromuscolari genetiche e acquisite dell'età infantile del set tecnologico presso il Politecnico di Milano.

- Il potenziamento laboratori CNR esistenti a Lecco per la sintesi di materiali e leghe metalliche avanzata, che consentirà di aumentare in maniera significativa l'attrattività della struttura che già ora rappresenta un esempio unico in Italia. La complessità delle tecnologie impiegate fa sì che gli interventi di tipo incrementale nel parco macchine disponibile risultino particolarmente onerosi si è quindi scelto di potenziare quanto esistente e di focalizzarsi sulle acquisizioni di apparecchiature che potranno fornire ulteriori opportunità al progetto rendendo disponibili nuove tecnologie.

- La creazione del Laboratorio delle Idee, un laboratorio fortemente interdisciplinare e caratterizzato essenzialmente dal fatto di essere un laboratorio senza strumenti. In effetti l'idea è quella di creare uno spazio dove si possa procedere alla verifica di fattibilità di piccoli progetti di innovazione legati al settore biomedicale.

- L'allestimento di una struttura di laboratori BL3 certificata ISO 9002 per manipolazione cellulare e materiale clinical grade, che operi presso l'Istituto Eugenio Medea di Bosisio Parini (Lc).

#### *Sviluppo di competenze specialistiche nell'ambito della ricerca e della pratica manageriale in ambito medicotecnologico.*

Ricade in questo ambito lo studio di nuovi modelli manageriali che rispondano alla crescente complessità sia in ambito clinico-medico che di management etico e sostenibile, sia in ambito di gestione dell'innovazione e trasferimento tecnologico. In particolare si intende confrontare le condizioni organizzative e gestionali teoriche ed operative reali in ambiti sociali fortemente differenti (Italia, USA, America Latina) che devono rispondere ai medesimi bisogni di salute.

Caratteristica peculiare dei centri coinvolti è la possibilità di avvalersi di apparecchiature biomediche Hi-Tech per analisi del movimento per la valutazione strumentale delle disabilità della deambulazione, la decisione clinica e la verifica dei risultati dei trattamenti proposti. Si intende così confrontare e trasferire la metodologia organizzativa e l'esperienza clinica e tecnologica utile a garantire la ottimizzazione delle pratiche gestionali organizzative e cliniche. Partendo dall'ipotesi che un approccio sanitario integrato è la miglior offerta che si può fare al paziente, e avendo il paziente come centro dell'attività sanitaria, bisogna osservare nella pratica clinica, come si traduce questo approccio integrato e quale è il suo impatto sociale e gestionale.



*Sviluppo di un modello collaborativo per la gestione integrata e multidisciplinare della ricerca e per il trasferimento tecnologico alle imprese.*

Dall'ottimizzazione e sviluppo delle attività di ricerca in essere negli altri filoni del progetto, si vuole perseguire la progettazione e definizione di un modello organizzativo sociale e sanitario, la cui validazione consenta la verifica dell'efficacia e l'applicabilità ad altri contesti in risposta a specifiche necessità di crescita e di ricerca.

Tutti gli altri obiettivi che il progetto intende perseguire si inseriscono in una logica di consolidamento e sviluppo di un network integrato che prevedrà sia l'implementazione di reti tecnologiche che la costituzione di spazi fisici che possano favorire ed ottimizzare l'operatività inter e trans disciplinare.

All'interno dello sviluppo del modello collaborativo, avverrà la definizione di modalità per il trasferimento tecnologico alle imprese.

Nell'ambito delle modalità di protezione e gestione della proprietà intellettuale dei ritrovati della ricerca di base, verranno definite delle modalità tramite cui UNIVERLECCO abiliterà e coordinerà il trasferimento tecnologico alle imprese del lecchese per l'avvio di quella che nella visione del progetto vorrebbe essere il supporto alla nascita di un distretto biomedicale.

## COMITATO ETICO

Il Comitato Etico é un organismo indipendente istituito nell'ambito dell'I.R.C.C.S. "E. Medea" dell'Associazione "La Nostra Famiglia", giuridicamente riconosciuta come ente ecclesiastico concordatario, ed é composto secondo criteri di interdisciplinarietà.

Opera nel rispetto dell'ispirazione cristiana espressa nello Statuto dell'Associazione "La Nostra Famiglia" di cui l'Istituto Scientifico é una sezione staccata:

"L'esplicito riferimento all'ispirazione cristiana impegna il Comitato Etico ad operare affinché l'attività di ricerca scientifica ed ogni altra ad essa connessa, l'assistenza, la formazione garantiscano il rispetto, dal concepimento alla morte naturale, della vita umana nonché la salvaguardia e la promozione del diritto alla salute nel quadro generale dei diritti dell'uomo".

La fondamentale aderenza alla fede cattolica dell'Associazione si apre tuttavia al dialogo aperto e sincero con chi accede ad un suo servizio con fedi od ideologie differenti.

I principali riferimenti del Comitato, specie per quanto attiene alle Ricerche, sono: la Dichiarazione di Helsinki, le norme della Good Clinical Practice, la legislazione italiana, quella della C.E. e internazionale.

Inoltre il Comitato tiene in particolare considerazione gli indirizzi del Comitato Nazionale per la Bioetica.

### Storia

Fin dal 1987, cioè subito dopo il riconoscimento ministeriale dell'IRCCS "E. Medea", a prescindere da qualsiasi legislazione ma per scelta propria, l'Associazione "La Nostra Famiglia" ha dato mandato al Consiglio di Gestione dell'IRCCS di deliberare la composizione del Comitato di Etica.

Nel corso della sua attività ha affrontato importanti e approfondite riflessioni su temi particolari e su problematiche specifiche dei Centri di Riabilitazione e

dell'IRCCS. Tra questi: "Riflessioni sulla etica della sessualità", "La valenza etica in psicoterapia" - "L'etica della riabilitazione", studiati da apposite commissioni.

Una svolta fondamentale é stata data al Comitato di Etica con l'emanazione del D.M. 18 marzo 1998, pubblicato sulla G.U. n. 122 del 28 maggio 1998, sulle "Linee guida di riferimento per l'istituzione e il funzionamento dei comitati etici", relativa alla sperimentazione di medicinali (Dipartimento per la valutazione dei medicinali e la farmacovigilanza del M.S.).

### Compiti del Comitato di Etica

Oltre a quello della valutazione ed eventuale approvazione delle Ricerche, compiti fondamentali sono:

- *La riflessione* sui problemi etici relativi allo svolgersi dell'attività sanitaria, sociale ed educativa dei Centri di riabilitazione e dei Poli dell'Istituto Scientifico "Eugenio Medea"

- *la formazione* del personale in accordo con il Settore Formazione.

Più in particolare, il Comitato di Etica ha il compito di formulare pareri e di indicare soluzioni per affrontare problemi di natura etica (e, se il caso, anche degli aspetti giuridici), che emergono con il continuo progredire delle scienze, della assistenza, della riabilitazione e della ricerca, con l'attenzione al presentarsi di nuove prospettive di interesse clinico per la salvaguardia dei diritti fondamentali della persona umana e dei valori ad essa riferiti.

Va precisato che le Ricerche farmacologiche dell'IRCCS, per le quali il parere del C.d.E. é vincolante, sono, almeno per ora, una percentuale esigua rispetto a tutte le altre Ricerche.

Per scelta dell'Associazione vengono sottoposte al parere del C.d.E. tutte le Ricerche, anche non farmacologiche, in atto presso i Poli dell'I.R.C.C.S., siano esse svolte con l'approvazione e il parziale finanziamento del Ministero della

Sanità, siano esse proprie dell'Istituto che le autofinanzia.

Rimangono sempre di primaria importanza i compiti di consulenza e di formazione.

Le finalità che il Comitato si propone di raggiungere con il proprio contributo alla formazione si allineano con quelle dell'Associazione: orientare gli operatori ad esplicare la loro attività nello stile de "La Nostra Famiglia", in virtù di una retitudine di coscienza, di serietà professionale e di sensibilità ed attenzione nella cura della persona in condizioni di bisogno, sempre al centro di ogni attività.

### Composizione

La composizione del Comitato etico deve globalmente garantire le qualificazioni e le esperienze necessarie a valutare gli aspetti etici e scientifico/metodologici degli studi proposti.

I componenti del Comitato etico sono nominati dal Consiglio di Amministrazione dell'Associazione "La Nostra Famiglia, al quale spetta anche la sostituzione dei membri che dovessero, per qualunque motivo, lasciare l'incarico.

I componenti del Comitato etico restano in carica per tre anni e possono essere rinominati.

Essi possono essere sostituiti dal Consiglio di Amministrazione in caso di ripetute assenze e per altro giustificato motivo.

Per il triennio novembre 2002 novembre 2005 il Comitato di Etica é così composto:

|                     |  |
|---------------------|--|
| Giaele Spreafico    | <i>Presidente, clinico riabilitatore</i>                   |
| Giacomo Delvecchio  | <i>Vice Presidente, clinico internista</i>                 |
| Annella Bartolomeo  | <i>Psicologa</i>   |
| Nereo Bresolin      | <i>Direttore Scientifico, ex-officio</i>                   |
| Edo Brunetti        | <i>Rappresentante volontariato (Associazione Genitori)</i> |
| Don Maurizio Chiodi | <i>Teologo Moralista</i>                                   |
| Francesco Clementi  | <i>Farmacologo</i>   |
| Irene Floriani      | <i>Esperto in biostatistica</i>                            |
| Daniela Gobber      | <i>Clinico pediatra</i>                                    |
| Leonardo Lenzi      | <i>Esperto in bioetica</i>                                 |
| Roberto Massironi   | <i>Psichiatra</i>  |
| Massimo Molteni     | <i>Direttore Sanitario, ex-officio</i>                     |
| Angelo Primavera    | <i>Farmacista, ex-officio</i>                              |
| Pietro Romano       | <i>Giurista</i>  |
| Paolo Vezzoni       | <i>Genetista</i>   |
| Monica Castelli     | <i>Segretaria</i>  |

I membri attuali sono tutti esterni all'Istituto, fatta eccezione della Presidente e dei membri ex officio.

Il Comitato Etico opera in piena autonomia ed indipendenza, garantite

- dalla mancanza di subordinazione gerarchica del Comitato nei confronti della Struttura ove esso opera
- dalla presenza significativa di componenti non dipendenti dalla Struttura ove opera il Comitato
- dalla estraneità e dalla mancanza di conflitti di interesse dei votanti rispetto alla sperimentazione proposta
- dalle ulteriori norme di garanzia e incompatibilità che il Comitato etico ritiene di dover adottare in sede di autoregolamentazione

La riunione del Comitato etico é valida purché siano presenti almeno due terzi di componenti esterni ed ha una cadenza bimestrale.

Prospettive future del Comitato sono:

- l'incremento di una funzione di consulenza per l'assistenza e la clinica
- la programmazione di interventi di formazione del personale
- il perfezionamento della procedura per l'esame delle Ricerche
- la sensibilizzazione del territorio ai problemi di etica e bioetica

## POLI SCIENTIFICI REGIONALI

### POLO SCIENTIFICO di BOSISIO PARINI

Via don Luigi Monza, 20  
23842 Bosisio Parini (LC)

Tel. 031 877111 - fax 031 877499  
e-mail medea@bp.lnf.it



|  |   |
|--|---|
| Direttore scientifico                    | NEREO BRESOLIN  |
| Responsabili d'area                      | RENATO BORGATTI, ENRICO CASTELLI,<br>MASSIMO MOLTENI  |
| Direttore Generale Regionale             | SIMONETTA COMINATO  |
| Direttore Sanitario di Polo              | MASSIMO MOLTENI   |
| Primari di sede                          | RENATO BORGATTI - MILENA CANNAO<br>ENRICO CASTELLI - RITA GARGHENTINO<br>MASSIMO MOLTENI - ANNA CARLA TURCONI |
| Direttore Centrale Sviluppo e Formazione | CARLA ANDREOTTI   |
| Direttore amministrativo regionale       | GIUSEPPE MOLTENI  |
| Responsabile amministrativo              | PAOLA GALVALISI   |

L'Istituto Scientifico "Eugenio Medea", sezione di ricerca dell'Associazione "La Nostra Famiglia", è stato ufficialmente riconosciuto come Istituto Scientifico di Ricovero e Cura nel 1985 con sede a Bosisio Parini. Nel 1998 sono stati riconosciuti i Poli Scientifici Regionali di Conegliano (Treviso), Ostuni (Brindisi) e S. Vito al Tagliamento (Pordenone) dello stesso Istituto Medea.

È oggi l'unico Istituto Scientifico italiano riconosciuto per la ricerca e la riabilitazione nello specifico ambito dell'età evolutiva.

Il 25 settembre 2004 è stato inaugurato un nuovo padiglione: la nuova struttura si aggiunge ad altre sei e consente di ampliare ulteriormente un centro ricono-

sciuto in Italia e in Europa per l'eccellenza della ricerca e della cura nel campo delle disabilità infantili.

Il Polo Scientifico di Bosisio Parini opera nei Raggruppamenti di:

#### **Neuroriabilitazione 1: per patologie afferenti alla neuropsichiatria dell'età evolutiva**

Responsabile: Dr. Renato Borgatti -  
*Neuropsichiatra Infantile*  
Tel.: 031 877811  
e-mail: borgatti@bp.lnf.it

Accedono al raggruppamento soggetti di età evolutiva, 0-18 anni per essere sotto-

posti a valutazioni e/o trattamenti in merito a patologie neurologiche (neuro-metaboliche, malformative, ereditarie, epilessie), a disturbi cognitivi (ritardi mentali isolati o in quadri sindromici), a deficit neuropsicologici, a disturbi neurovisivi. In collaborazione con il Centro Ausili operante in Istituto vengono svolte valutazioni per l'idoneità all'accesso, la scelta e l'adattamento di ausili (informatici e non) atti a favorire la comunicazione e lo sviluppo cognitivo-linguistico in soggetti con disabilità motorie e/o cognitive. Parallelamente viene svolta una ampia attività di ricerca circa specifiche problematiche connesse alle suddette patologie.

Neuroriabilitazione 1 eroga la sua attività attraverso ricoveri in regime ordinario o day hospital e tramite ambulatori specialistici dedicati.

#### *Patologie trattate*

- Cerebropatie evolutive e non evolutive
- Epilessie e Cefalee
- Ritardi mentali e disturbi neuropsicologici
- Sindromi rare
- Patologie neuro-oftalmologiche

#### **Neuroriabilitazione 2: per patologie afferenti alla psicopatologia dello sviluppo**

Responsabile: Dr. Massimo Molteni -  
*Neuropsichiatra Infantile*  
Tel: 031 877334  
e-mail: molteni@bp.lnf.it

Accedono al raggruppamento i soggetti in età evolutiva che presentano problemi di apprendimento, di linguaggio e di disturbi emozionali: ansia, depressione, ADHD, per le necessarie valutazioni diagnostiche e funzionali e per impostare i trattamenti intensivi.

Il raggruppamento è centro di riferimento regionale per le psicosi infantili, in particolare per l'autismo: diagnosi

precoce, valutazioni funzionali, interventi sui comportamenti-problema, training ai genitori e supervisione nell'inserimento scolastico e sociale.

È stato inoltre avviato un servizio per i Disturbi del Comportamento Alimentare (Anoressia e Bulimia) e un servizio per la cura dei comportamenti anomali nei soggetti con Ritardo Mentale.

Neuroriabilitazione 2 eroga la sua attività attraverso ricoveri in regime ordinario o day hospital e tramite ambulatori specialistici dedicati. Sono previsti inoltre accessi ambulatoriali

È prevista la possibilità di frequenza alla scuola dell'infanzia statale interna alla struttura per i percorsi riabilitativi intensivi, su progetto specifico.

#### *Patologie trattate*

- Autismo e Disturbi Generalizzati dello sviluppo e Sindromi di Rett, Cornelia de Lange e Wolf-Hirschhorn
- Disturbi dell'apprendimento e Disturbo da deficit di attenzione con iperattività (DDAI)
- Disturbi di Linguaggio
- Disturbi dell'emotività e depressione
- Disturbi del comportamento alimentare
- Doppia Diagnosi nel Ritardo Mentale

#### **Neuroriabilitazione 3: per patologie afferenti alle cerebrolesioni acquisite (traumi cranici e neoplasie cerebrali) dell'età evolutiva e del giovane adulto**

Responsabile: Dott. Enrico Castelli  
*Neurologo*  
Tel: 031 877854  
e-mail: castelli@bp.lnf.it

L'orientamento della domanda sanitaria nel campo riabilitativo verso prestazioni di alta qualità ha portato l'istituto ad avere un ruolo di primo piano in nuovi campi di intervento, come la riabilitazione precoce dei traumi encefalici.

Il raggruppamento Neuroriabilitazione 3 si occupa di bambini e giovani adulti con esiti di trauma cranico, di neoplasie cerebrali, di lesioni postanossiche, vascolari e postinfettive e di lesioni midollari. Gestisce il processo riabilitativo dalla fase post acuta sino al reinserimento familiare, scolastico e sociale.

L'approccio riabilitativo rispecchia la molteplicità e complessità degli esiti. I trattamenti farmacologico, clinico, riabilitativo fisioterapico, logopedico, neuropsicologico, di terapia occupazionale, dei deficit sensoriali e comportamentali, devono essere precoci ed integrati per portare al massimo recupero possibile.

Un ruolo importante sarà svolto è svolto del Centro Ausili del nostro Istituto, per la fornitura di tutti i presidi necessari al raggiungimento della massima autonomia personale.

Neuroriabilitazione 3 eroga la sua attività attraverso ricoveri in regime ordinario o day hospital. è organizzato mediante ricoveri in regime ordinario o day hospital. Sono previsti inoltre accessi ambulatoriali.

#### *Patologie trattate*

- Traumi cranici
- Neoplasie cerebrali
- Lesioni postanossiche - Vascolari - Post-infettive
- Lesioni Midollari

#### **Raggruppamento di Riabilitazione Funzionale**

AZIENDA CON SISTEMA QUALITÀ  
CERTIFICATO DA DNV  
=UNI EN ISO 9001/2000=

Responsabile: Dr.ssa Anna Carla Turconi  
*Fisiatra*  
Tel: 031 877830  
e-mail: turconi@bp.lnf.it

Accedono al raggruppamento di Riabilitazione Funzionale per il trattamento riabilitativo e la valutazione funzionale i soggetti con disabilità motorie neuro-

logiche ed ortopediche congenite ed acquisite insorte in età pediatrica ma che possono anche persistere in età adulta. In particolare vengono seguiti i pazienti affetti da Paralisi Cerebrali Infantili, i pazienti con spasticità centrale o midollare, i pazienti con malattie neuromuscolari e quelli affetti da gravi deformità scheletriche. Riabilitazione funzionale eroga la sua attività attraverso ricoveri in regime ordinario o day hospital e tramite ambulatori specialistici dedicati è organizzato mediante ricoveri in regime ordinario o day hospital. Sono previsti inoltre accessi ambulatoriali. Le procedure sono validate secondo i percorsi della certificazione di qualità ISO 9001.

*Patologie trattate*

- paralisi cerebrali infantili
- patologie neuromuscolari
- scoliosi e patologie vertebrali
- osteogenesi imperfetta

**Ambulatori e Servizi clinico-diagnostici**

L'attività clinica affronta, in tutta la sua estensione, l'ampio spettro delle patologie dello sviluppo, cioè quella vasta e articolata gamma di condizioni che limitano sul piano fisico, psichico e sensoriale la crescita armonica del bambino e dell'adolescente.

## Ambulatori e Servizi clinico-diagnostici

|  |   |
|--|---|
| <b>Cardiologia-Pneumologia</b>                           | Visite cardiologiche, elettrocardiogramma, ecocardiogramma, holter, visita pneumologica, emogasanalisi arteriosa, spirometria   |
| <b>Dietologia e nutrizione clinica</b>                   | Esami ematochimici, osservazione logopedica, osservazione al pasto, colloquio nutrizionale per valutazione abitudini alimentari, consulenza endocrinologica, consulenza chirurgica pediatrica, completamento valutazione dietologica, stesura programma nutrizionale individualizzato   |
| <b>Laboratorio Analisi</b>                               | Servizio prelievi, biochimica clinica e tossicologica, microbiologia e virologia, citogenetica e genetica medica  |
| <b>Medicina Fisica e Riabilitazione</b>                  | Visite fisiatriche (patologie neuromuscolari, disturbi della colonna, paralisi cerebrali infantili, osteogenesi imperfetta), visite di controllo per tossina botulinica, terapie fisiche (ionoforesi, tens, diadinamica, ultrasuoni), trattamenti fisioterapici, prescrizione trattamenti ortesici, verifica clinica e follow-up del trattamento riabilitativo ed ortesico, patologie neuromuscolari (es.: encefalomiopatia mitocondriale)  |
| <b>Neurofisiopatologia-Epilettologia</b>                 | Visite neurofisiopatologiche, EEG, EEG con poligrafia, polisonnografia, potenziali evocati  |
| <b>Neuropsichiatria Infantile</b>                        | Visite neuropsichiatriche (disturbi dell'emozione, disturbi del linguaggio, autismo, disturbi dell'apprendimento, disturbi di comportamento, disturbi del comportamento alimentare, cefalee e patologie neurologiche primarie, cerebrolesioni acquisite, ipovisione, disturbi neuropsichiatrici da lesioni congenite acquisite)   |
| <b>Neuropsicologia dell'età evolutiva</b>                | Studio, valutazione e trattamento di: malformazioni cerebrali (es: malformazioni cerebellari, agenesia corpo calloso etc..), malattie genetiche e sindromi rare (es: Sindrome di Williams), lesioni cerebrali congenite (es: PCI), cefalee  |
| <b>Neuropsicologia delle lesioni cerebrali acquisite</b> | Valutazione dei deficit neuropsicologici, approfondimento per aree deficitarie, assetto neuropsicologico, progetto riabilitativo, riabilitazione neuropsicologica individuale o di gruppo, psicologia comportamentale   |
| <b>Oculistica</b>  | Visite oculistiche, valutazioni ortottiche, esami strumentali (Hees Lancaster, campo visivo, senso cromatico, eco-bulbare)  |
| <b>Otorinolaringoiatria-Foniatria</b>                    | Visite ORL, visite foniatriche, visite audiologiche, fibrorinolaringoscopia, audiometria, impedenzometria, Boel-test, guadagno protesico, test clinico funzionale vestibolare, potenziali evocati uditivi   |
| <b>Psicologia cognitiva</b>                              | Intervento per la riabilitazione della dislessia/disortografia evolutiva (metodo di Bakker, metodo di Geiger-Lettvin, trattamento logopedico), interventi per la difficoltà di organizzazione visuospatiale e prassica, trattamento neurocognitivo per i disturbi dell'attenzione con/senza iperattività, trattamenti per discalculia e disturbi delle abilità matematiche, trattamento in piccolo gruppo sulle abilità metalinguistiche, trattamento in piccolo gruppo ad orientamento metacognitivo sulle abilità di logica-matematica, trattamento in piccolo gruppo con metodo Feuerstein (stimolazione delle abilità cognitive generali), trattamento in piccolo gruppo con metodo Tzurriel (stimolazione delle abilità cognitive generali per la fascia prescolare) |
| <b>Psicologia della famiglia</b>                         | Valutazione dinamiche familiari, psicoterapie familiari, counseling familiari   |
| <b>Psicologia dell'educazione</b>                        | Valutazione psicoeducativa rivolta a soggetti con autismo o ritardo mentale, programmi educativi intensivi secondo approccio TEACCH   |
| <b>Scoliosi e patologie vertebrali</b>                   | Visite, trattamento fisioterapico, prescrizione trattamento ortesico, controllo realizzazione ortesi, verifica clinica e follow-up del trattamento riabilitativo ed ortesico  |
| <b>Sindromi rare</b>                                     | Diagnosi di sindrome malformativa, visite neurologiche e pediatrico-dismorfologiche, accertamenti clinici, di laborat. o di diagnostica per immagini (es. profilo metacarpofalangeo, Eco cardiaca, renale, addome, età ossea, EEG, TAC, RMN, cariotipo ad alta risoluz. di 500 bande, FISH specifiche), studio delle regioni cromosomiche subtelomeriche.   |

| N. | LINEE DI RICERCA   | AMBITI DI RICERCA   | LABORATORI  |
|----|--|---|---|
| 1  | NEUROPATOLOGIA   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Studio dismorfismi cerebrali</li> <li>- Patologie congenite del SNC - SNP</li> <li>- Epilessia</li> <li>- Sindromi rare</li> <li>- Malattie degenerative - spinocerebellari</li> <li>- Patologie neurosensoriali</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pediatria</li> <li>- Audiologia e Foniatria</li> <li>- Neuro-oftalmologia</li> </ul>   |
| 2  | RIABILITAZIONE NEUROMOTORIA E NEUROPSICOLOGIA FUNZIONALE           | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Riabilitazione nelle P.C.I.</li> <li>- Riabilitazione nelle patologie neuromuscolari</li> <li>- Riabilitazione delle cerebrolesioni acquisite (traumatiche, neoplastiche)</li> <li>- Studio e riabilitazione dei dismorfismi del rachide e osteomuscolari</li> <li>- Riabilitazione post chirurgica ortopedica</li> <li>- Riabilitazione delle lesioni midollari congenite ed acquisite</li> <li>- Riabilitazione della vescica neurologica</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Analisi del movimento</li> <li>- Riabilitazione cardio-respiratoria</li> <li>- Protesi/Ortesi/Ausili</li> <li>- Terapia Occupazionale e Neuropsicologia funzionale</li> <li>- Urodinamica</li> </ul> |
| 3  | PSICOPATOLOGIA DELLO SVILUPPO, DEL LINGUAGGIO E DELL'APPRENDIMENTO | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Disturbi cognitivi e di apprendimento</li> <li>- Psicologia clinica</li> <li>- Neuropsicologia</li> <li>- Psichiatria clinica e biologica</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Psicologia applicata</li> <li>- Neuropsicologia degli apprendimenti e del linguaggio</li> <li>- Tecniche di riabilitazione psicologica</li> <li>- Psicofarmacologia</li> </ul>                       |
| 4  | NEUROFISIOPATOLOGIA NEURORADIOLOGIA                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Neurofisiologia clinica e sperimentale</li> <li>- Imaging statico e funzionale</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Neurofisiologia</li> <li>- Elettrofisiologia oculare</li> <li>- NMR: imaging e funzionale</li> </ul>   |
| 5  | NEUROBIOLOGIA  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Cromosomopatie</li> <li>- Diagnostica biomolecolare</li> <li>- Terapia genica</li> <li>- Banca di materiale biologico</li> <li>- Modelli murini transgenici e knock out</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Laboratorio analisi</li> <li>- Chimica clinica</li> <li>- Citogenetica</li> <li>- Biologia Molecolare</li> <li>- Biologia Sperimentale</li> <li>- Colture cellulari</li> </ul>                       |
| 6  | BIOINGEGNERIA  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Analisi dell'errore</li> <li>- Studio della realtà virtuale</li> <li>- Applicazione del Neuroimaging</li> <li>- Realizzazione HW e SW e ausili</li> <li>- Predisposizione, sperimentazione e controllo di qualità di apparecchiature elettromedicali</li> <li>- Telemedicina e Teleassistenza</li> <li>- Tecnol. di supp. per l'assistenza all'handicap</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- C.E.D.</li> <li>- Biotecnologia</li> <li>- Servizio ausili informatici</li> </ul>  |
| 7  | ORGANIZZAZIONE DEI SERVIZI SANITARI                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sperimentazione e valutazione, anche economica, di sistemi di organizzazione in rete dell'assistenza sanitaria</li> <li>- Sperimentazione di modelli di integrazione e organizzazione in rete degli interventi sanitari e socio-sanitari</li> <li>- Sviluppo, sperimentazione e valutazione di modelli di organizzazione della continuità assistenziale</li> <li>- Sperimentazione e valutazione costi-benefici di sistemi di telemedicina e teleassistenza</li> <li>- Sviluppo e sperimentazione di un sistema informativo</li> <li>- Effetti delle modalità di applicazione del sistema di remunerazione in termini di efficacia/efficienza delle prestazioni riabilitative ospedaliere ed extraospedaliere in materia di riabilitazione</li> <li>- Sistemi di applicazione delle disabilità e dei livelli prognostici dei trattamenti riabilitativi</li> <li>- Gestione dei dati e informatizzazione di dati clinici, diagnostici e di trattamento</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Statistica sanitaria</li> <li>- Gestione informativa</li> <li>- Centro studi giuridici</li> </ul>  |



## POLO SCIENTIFICO di CONEGLIANO e PIEVE DI SOLIGO

Via Costa Alta, 37  
31015 Conegliano  
Tel. 0438 4141 - fax 0438 410101  
e-mail: irccs@cn.lnf.it  
(distaccamenti: Padova-Treviso)



|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| Direttore scientifico               | NEREO BRESOLIN  |
| Coordinatori di area                | RENATO BORGATTI<br>ENRICO CASTELLI<br>MASSIMO MOLteni |
| Direttore Generale Regionale        | GIGLIOLA CASATI                                       |
| Direttore Sanitario di Polo         | PAOLO DUCOLIN   |
| Primario del reparto UGDE           | ANDREA MARTINUZZI                                     |
| Primario del reparto URNA           | MARIAGRAZIA PISCAGLIA                                 |
| Direttore Formazione e Sviluppo     | SERGIO DUGONE   |
| Direttore amministrativo Regionale  | MARCO TEREZI  |
| Responsabile amministrativo di Sede | RENZO BALDO   |

Il Polo Regionale di Conegliano è costituito da due Unità Operative:

- Unità per le Gravi Disabilità in Età Evolutiva (UGDE)  
presso la sede di Conegliano via Costa Alta, 37

- Unità per la Riabilitazione delle turbe Neuropsicologiche Acqui-site (URNA)  
presso la sede di Pieve di Soligo via Monte Grappa, 96

#### • Unità per le Gravi Disabilità in Età Evolutiva (UGDE)

Vi afferiscono soggetti in età evolutiva che presentano una situazione di gravità e complessità diagnostica, valutativa e rieducativa di esiti derivanti da:

- Patologie motorie congenite o acquisite
- Patologie cognitive congenite o acquisite
- Psicopatologie primitive o secondarie a cerebrolesioni
- Patologie malformative e gravi deficit sensoriali
- Pluridisabilità

L'Unità Operativa è organizzata mediante ricoveri a degenza ordinaria o day hospital.

La UGDE ha valenza sovregionale.

#### PRESTAZIONI

##### *Ricovero ordinario*

Numero totale posti letto: 23. Il ricovero ordinario è la modalità utilizzata per casi complessi che richiedono l'apporto di più competenze specialistiche e/o un'osservazione più intensiva del paziente.

##### *Ricovero day hospital*

Numero totale posti letto: 17. Il ricovero in day hospital è attuato prevalentemente nei casi meno complessi, in cui vi è la necessità di rispondere a quesiti limitati o specifici. Rappresenta la soluzione ottimale per pazienti residenti in prossimità dell'istituto.

#### AREE DI ATTIVITÀ

##### *Fase diagnostica*

- Studio delle disabilità gravi e complesse
- Studio chinesiológico delle posture e dei compensi di soggetti in età evolutiva con patologie motorie ed alterazioni posturali gravi
- Bilanci funzionali delle disabilità in età evolutiva per individuare progetti di autonomia nella cura del sé, nello spostamento e nella progettualità
- Valutazione della funzionalità respiratoria
- Esami elettroencefalografici con video EEG
- Neurofisiologia clinica: Elettromiografia (EMG) ad ago e di superficie; Elettroencefalografia (ENG); Potenziali Evocati; Potenziali Motori
- Studio del cammino e della mobilità per diagnosi e indicazioni terapeutiche
- Valutazioni specialistiche nei vari ambiti (pediatria, ortopedia, neurochirurgia, otorinolaringoiatria, oculistica, odontostomatologia, dietologia)
- Monitoraggio del trattamento farmacologico
- Audiometria in soggetti con deficit della percezione uditiva e della comunicazione
- Valutazioni neuropsicologiche in disturbi di apprendimento complessi
- Studio neuropsicologico delle abilità cognitive (attenzione, memoria, prassia, fasia)
- Valutazioni con strumenti informatici dei disturbi di apprendimento, delle problematiche visuo motorie e dei problemi neuropsicologici in esiti di traumi cranio encefalici nell'età evolutiva
- Valutazioni psicodiagnostiche in soggetti con turbe del comportamento in età evolutiva
- Approfondimento di diagnostica molecolare usufruendo del laboratorio di Genetica annessa al Polo

##### *Fase terapeutica*

- Rieducazione motoria: applicazione di protocolli validati per instaurare progetti terapeutici finalizzati alla prevenzione delle deformità, alla inibizione di schemi patologici, al miglioramento della forza muscolare, della compliance respiratoria, all'utilizzo di ortesi e ausili per la deambulazione
- Trattamenti farmacologici mirati (controllo della comozionalità, della spasticità, di distonie e discinesie e dei disturbi psichici)
- Riabilitazione neuropsicologica per disturbi specifici di apprendimento dei soggetti con disabilità motorie, ritardi mentali e turbe dell'apprendimento
- Terapia occupazionale: progetti funzionali per migliorare le prassie, il grafismo, le abilità costruttive, ergoterapia
- Psicomotricità a valenza riabilitativa e terapeutica in situazioni di problematiche comportamentali e cognitive, instabilità attentiva, soggetti ipercinetici
- Logopedia per migliorare la recezione degli stimoli verbali, l'espressività e la simbolizzazione in soggetti disartrici, anartrici o con disfasi globali
- Intervento psicopedagogico in situazione di difficoltà di apprendimento quali la dislessia, i disturbi nell'area logico matematica, consulenze alla scuola, verifica dei programmi didattico pedagogici
- Psicoterapia in appoggio a interventi psico-educativi e riabilitativi

#### • Unità per la riabilitazione delle turbe neuropsicologiche acquisite (urna)

Vi accedono pazienti di età adulta in condizioni cardio-respiratorie e mediche di compenso e stabilità, che presentano turbe neuropsicologiche complesse o rare esito di:

- Traumatismi cranio-encefalici
- Eventi cerebrovascolari acuti (ad esempio rottura di malformazioni intracra-

niche, emorragia subaracnoidea) caratterizzati da sequele complesse con alterazioni cognitive, motorie, psicologiche

- Comi post-anossici
- Encefalopatie acute, infiammatorie e non, i cui esiti siano caratterizzati dalla coesistenza di menomazioni in più di un asse (disturbi clinici, disturbi della personalità, condizioni mediche generali, problemi psicosociali ed ambientali e funzionamento globale)

L'Unità Operativa è organizzata mediante ricoveri a degenza ordinaria o day hospital.

L'URNA ha valenza sovraregionale.

#### PRESTAZIONI

##### *Ricovero ordinario*

Numero totale posti letto: 7. Il ricovero ordinario è la modalità più indicata per casi complessi che richiedono l'apporto di più competenze specialistiche e/o un'osservazione più intensiva del paziente.

##### *Ricovero day hospital*

Numero totale posti letto: 33. Il ricovero in day hospital è attuato prevalentemente nei casi meno complessi, in cui vi è la necessità di rispondere a quesiti limitati o specifici. Rappresenta la soluzione ottimale per pazienti residenti in prossimità dell'istituto.

#### AREE DI ATTIVITÀ

##### *Fase diagnostica*

- Studio neuropsicologico delle abilità cognitive (attenzione, memoria, prassia, fasie)
- Studio delle disabilità neuropsicologiche gravi e complesse con problemi di comunicazione
- Bilanci funzionali delle disabilità neuropsicologiche per individuare progetti di autonomia nella cura di sé, nello spostamento, nella progettualità, nella qualificazione (o riqualificazione) professionale e nell'inserimento lavorativo

- Valutazioni specialistiche nei vari ambiti (ortopedia, neurochirurgia, otorinolaringoiatria, oculistica, dietologia, neurofisiologia e fisiopatologia respiratoria)
- Monitoraggio del trattamento farmacologico
- Valutazioni con strumenti informatici delle problematiche visuo motorie, di memoria e di attenzione
- Valutazioni psicodiagnostiche in soggetti con turbe del comportamento

##### *Fase terapeutica*

- Riabilitazione neuropsicologica per disturbi di memoria, attenzione, concentrazione e comunicazione
- Farmacoterapia specifica e suo monitoraggio
- Terapia Occupazionale: progetti funzionali per migliorare le prassie, il grafismo, le abilità costruttive, ergoterapia, l'autonomia personale e sociale
- Logopedia per migliorare la recezione degli stimoli verbali, l'espressività in soggetti disartrici e anartrici e la simbolizzazione in soggetti con disfasie globali
- Psicoterapia in appoggio a interventi psico educativi, riabilitativi, farmacologici

SERVIZI E SETTORI DI INTERVENTO COMUNI ALLE DUE UNITÀ OPERATIVE (UDGE - URNA)

##### *Esami strumentali*

- Elettroencefalogramma (in veglia, in sonno, poligrafia, video-EEG)
- Potenziali Evocati Motori, da stimolazione magnetica transcranica, Potenziali Evocati somatosensoriali, visivi, uditivi
- Elettromiografia, elettroencefalografia, blink reflex
- Elettromiografia di superficie ed Analisi del cammino
- Valutazione Bioenergetica
- Impedenzometria e audiometria
- Psicofisiologia

##### *Servizi aggregati*

- Servizio di neurooftalmologia
- Servizio di neurofisiologia ed epilettologia
- Servizio di audiofonologia
- Servizio di pediatria dismorfologia
- Servizio di psicologia e neuropsicologia
- Servizio ausili informatici, protesi e ortesi Centro di Mobilità (test drive con auto multiadattate e simulatore di guida)

#### SETTORE SVILUPPO E FORMAZIONE

Attività editoriale, Attività di comunicazione e informazione scientifica, Attività formativa, Biblioteca, E-learning, Centro Ausili, Consulenza giuridica.

| <b>N.</b> | <b>LINEE DI RICERCA</b>  | <b>AMBITI DI RICERCA</b>  | <b>LABORATORI</b>  |
|-----------|--|---|--|
| 1         | NEUROPATOLOGIA   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Studio dismorfismi cerebrali</li> <li>- Patologie congenite del SNC - SNP</li> <li>- Epilessia</li> <li>- Sindromi rare</li> <li>- Malattie degenerative - spinocerebellari</li> </ul>   |  |
| 2         | RIABILITAZIONE<br>NEUROMOTORIAE<br>NEUROPSICOLOGIA<br>FUNZIONALE           | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Riabilitazione nelle P.C.I</li> <li>- Riabilitazione nelle patologie neuromuscolari</li> <li>- Riabilitazione delle cerebrolesioni acquisite (traumatiche, neoplastiche)</li> <li>- Riabilitazione postchirurgica ortopedica</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Analisi del movimento</li> <li>- Riabilitazione cardio-respiratoria</li> <li>- Protesi/Ortesi/Ausili</li> <li>- Terapia Occupazionale e Neuropsicologia funzionale</li> </ul> |
| 3         | PSICOPATOLOGIA DELLO<br>SVILUPPO, DELL'LINGUAGGIO<br>E DELL' APPRENDIMENTO | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Disturbi cognitivi e di apprendimento</li> <li>- Neuropsicolinguistica</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Neuropsicologia degli apprendimenti e del linguaggio</li> <li>- Tecniche di riabilitazione psicologica</li> </ul>   |
| 4         | NEUROFISIOPATOLOGIA<br>NEURORADIOLOGIA                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Neurofisiologia clinica e sperimentale</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Neurofisiologia</li> </ul>  |
| 5         | NEUROBIOLOGIA  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Diagnostica biomolecolare</li> <li>- Banca di materiale biologico</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Biologia Molecolare</li> <li>- Colture cellulari</li> <li>- Genetica</li> </ul>   |
| 6         | BIOINGEGNERIA  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Analisi dell'errore</li> </ul>   |  |
| 7         | ORGANIZZAZIONE<br>DEI SERVIZI  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Implementazione in ambito riabilitativo per l'età evolutiva e giovane adulta del sistema classificativo ICF e studio di assessment dedicati</li> <li>- Promozione dell'integrazione dei servizi consultoriali con altre componenti del Dip. Materno-Infantile territoriale, ospedaliero e del distretto, nella gestione degli esiti delle lesioni accidentali gravi, con particolare riguardo agli esiti dei gravi traumi cranio-encefalici e dei deficit anossici.</li> </ul> |  |

**POLO SCIENTIFICO di OSTUNI**

Via dei Colli

72017 Ostuni (BR)

Tel. 0831349111 - fax 0831 349246

e-mail: irccs@os.lnf.it

(distaccamenti: Padova-Treviso)



|                              |   |
|------------------------------|---|
| Direttore scientifico        | Nereo Bresolin  |
| Coordinatori di area         | Renato Borgatti<br>Enrico Castelli<br>Massimo Molteni |
| Direttore Generale Regionale | Carmen Chiaramonte                                    |
| Direttore sanitario di Polo  | Antonio Trabacca                                      |
| Primari di Polo              | Angelo Massagli<br>Antonio Trabacca                   |

Il Polo Scientifico di Ostuni è costituito da due Unità Operative specializzate sui complessi e gravi problemi diagnostici, valutativi e riabilitativi di disabilità complesse, congenite o acquisite dell'età evolutiva e giovane adulta.

Secondo quanto previsto dal nuovo Piano Ospedaliero della Regione Puglia (Delibera della Giunta Regionale n. 1087 del 2 agosto 2002 - "Piano di riordino della rete ospedaliera"), dal 1° marzo 2004, sono attivi e operativi in questa sede 20 posti letto ad alta specialità di Neuroriabilitazione nel settore dell'Età Evolutiva.

**L'Unità Operativa di Neuroriabilitazione 1 ad indirizzo di neuropa-**

**tologia e riabilitazione funzionale**, diretta dal Dr. Antonio Trabacca, opera nei seguenti ambiti:

- paralisi cerebrali infantili
- malattie neuromuscolari
- sindromi disgenetiche a prevalente espressione neuropatologica
- esiti di cerebrolesioni acquisite (infettive, chirurgiche, traumatiche, etc.)
- patologie neuromotorie e medullosezioni congenite
- riabilitazione post-chirurgica ortopedica
- sindromi epilettiche
- quadri poliminorativi

**L'Unità Operativa di Neuroriabilitazione 2 ad indirizzo di psicopatologia dello sviluppo**, diretta dal Dr. Angelo Massagli, opera nei seguenti ambiti:

- disturbi generalizzati dello sviluppo
- disturbi specifici dello sviluppo (del linguaggio, della funzione motoria, etc)
- ritardi mentali
- sindromi ipercinetiche
- disturbi specifici dell'apprendimento
- sindromi disgenetiche a prevalente espressione psicopatologica
- disturbi dello sviluppo psicologico
- minorazioni sensoriali

É possibile effettuare percorsi di riabilitazione intensiva nei seguenti ambiti:

- chinesiterapia
- psicomotricità
- logopedia
- riabilitazione neuropsicologica
- terapia occupazionale
- riabilitazione neurovisiva
- riabilitazione psicologica

**SERVIZI**

A sostegno delle attività ospedaliere sono attivi e funzionanti i seguenti Servizi:

*Servizio di Neurofisiologia Clinica che offre le seguenti prestazioni:*

- EEG in veglia e sonno
- Poligrafia
- video-EEG
- EEG Dinamico delle 12/24 ore
- elettromiografia (EMG)
- elettroencefalografia (ENG)
- potenziali evocati somatosensoriali
- blink reflex
- potenziali evocati motori da stimolazione magnetica transcranica

*Servizio di Neurooftalmologia e Ipovisione che offre le seguenti prestazioni:*

- visita oculistica
- screening visivo neonatale
- valutazione ortottica
- campimetria computerizzata
- potenziali evocati visivi (PEV)
- elettroretinogramma (ERG)
- tonometria e autorefrattometria computerizzata

*Servizio di Otorinolaringoiatria (ORL) che offre le seguenti prestazioni:*

- visita audiologica
- screening audiologico neonatale
- audiometria
- impedenzometria
- fibrolaringoscopia
- potenziali evocati uditivi
- prescrizioni individualizzata di protesi acustiche

*Servizio di Genetica e diagnosi malattie rare*

*Servizio di Odontostomatologia*

Ad integrazione di tali attività e come supporto terapeutico-riabilitativo all'attività sanitaria, sono attivi un:

*Servizio di Psicologia suddiviso per ambiti specifici di attività di diagnosi e riabilitazione psicologica in:*

- cognitivo-neuropsicologico
- psicopatologico
- psicolinguistico

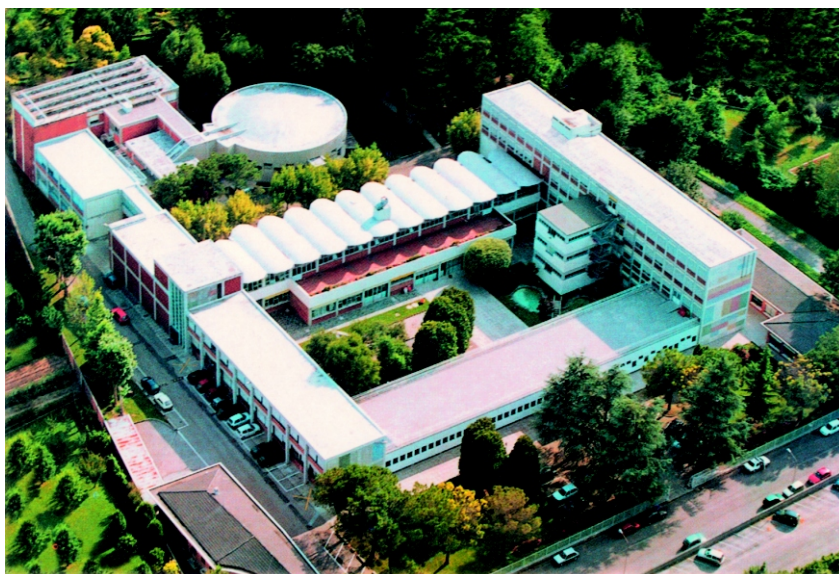
*Servizio Pedagogico deputato alla valutazione delle ricadute funzionali dei trattamenti nei pazienti in età scolare.*

*Centro @usili Informatici*

| N. | LINEE DI RICERCA   | AMBITI DI RICERCA  | LABORATORI   |
|----|--|--|--|
| 1  | NEUROPATOLOGIA   | - Epilessia<br>- Sindromi rare   | - Pediatria<br>- Audiologia e Foniatria<br>- Neuro-oftalmologia                                    |
| 2  | RIABILITAZIONE NEUROMOTORIA E NEUROPSICOLOGIA FUNZIONALE           | - Riabilitazione nelle P.C.I<br>- Riabilitazione nelle patologie neuromuscolari<br>- Riabilitazione delle cerebrolesioni acquisite (traumatiche, neoplastiche)<br>- Riabilitazione della vescica neurologica | - Protesi/Ortesi/Ausili<br>- Terapia Occupazionale e Neuropsicologia funzionale                    |
| 3  | PSICOPATOLOGIA DELLO SVILUPPO, DEL LINGUAGGIO E DELL'APPRENDIMENTO | - Disturbi cognitivi e di apprendimento<br>- Neuropsicolinguistica<br>- Psichiatria clinica e biologica  | - Neuropsicologia degli apprendimenti e del linguaggio<br>- Tecniche di riabilitazione psicologica |
| 4  | NEUROFISIOPATOLOGIA NEURORADIOLOGIA                                | - Neurofisiologia clinica e sperimentale   | - Neurofisiologia<br>- Elettrofisiologia oculare   |

**POLO SCIENTIFICO  
di SAN VITO AL TAGLIAMENTO  
e PASIAN DI PRATO**

Via della Bontà, 7  
33078 S. Vito al Tagliamento (PN)  
Tel. 0434 842711 - fax 0438 842797  
e-mail: irccs.fvg@sv.lnf.it



|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| Direttore scientifico               | NEREO BRESOLIN  |
| Responsabili d'area                 | RENATO BORGATTI,<br>ENRICO CASTELLI,<br>MASSIMO MOLTENI |
| Direttore Sanitario di Polo         | AMERIGO ZANELLA   |
| Primario di Polo                    | GUIDO CRISTOFORI  |
| Direttore Amministrativo Regionale  | MARCO TEREZI  |
| Responsabile amministrativo di Sede | DENIS ADAMI   |

Il Polo Regionale dell'IRCCS "E.Medea" è inserito nell'ambito della rete ospedaliera regionale (DGR 28 marzo 2003, n. 776) con sede a San Vito al Tagliamento (PN) e distaccamento a Pasián di Prato (UD).

È assegnata al Polo Regionale dell'IRCCS "E.Medea" la funzione di "UDGE" (Unità per le disabilità gravi

dell'età evolutiva), destinata ad affrontare i complessi e gravi problemi diagnostici, valutativi e rieducativi degli esiti di patologie motorie e cognitive congenite o acquisite dell'età evolutiva.

I posti accreditati sono: 20 ordinari e day hospital, di cui 10 finalizzati al fabbisogno regionale e 10 al fabbisogno extra-regionale.

L'Unità si articola nelle seguenti sub-unità:

- Sub-unità per la patologia neurolinguistica
- Sub-unità per la patologia neuromotoria
- Sub-unità di neurofisiopatologia
- Sub-unità di neurooftalmologia
- Sub-unità per la psicopatologia

*Riconoscimento Internazionale:*

- In collaborazione con MOVE (Mobility Opportunities Via Education) Europe - Università di Wolverhampton (England) vengono sviluppati sia programmi didattici di educazione al movimento nei gravi disabili, sia ricerche clinico-sperimentali per verificare le indicazioni e l'efficacia di tale programma di riabilitazione in età evolutiva.
- Il Polo del Friuli-Venezia Giulia è stato riconosciuto come il Centro di Riferimento Nazionale per l'Italia

*Riconoscimento regionale:*

- La Regione Friuli-Venezia Giulia con DGR n. 3964 del 15/12/2000, ha riconosciuto la sezione di oculistica del Polo come Centro regionale per l'ipovisione. In tale centro vengono svolte ricerche cliniche per la messa a punto di nuovi strumenti diagnostici e programmi riabilitativi dell'ipovisione.

| N. | LINEE DI RICERCA   | AMBITI DI RICERCA   | LABORATORI  |
|----|--|---|---|
| 1  | NEUROATOLOGIA  | - Studio dismorfismi cerebrali<br>- Patologie congenite del SNC - SNP<br>- Epilessia  | - Pediatria<br>- Audiologia e Foniatria<br>- Neuro-oftalmologia   |
|    |  | - Sindromi rare<br>- Malattie degenerative - spinocerebellari<br>- Patologie neurosensoriali  |   |
| 2  | RIABILITAZIONE NEUROMOTORIA E NEUROPSICOLOGIA FUNZIONALE           | - Riabilitazione nelle P.C.I<br>- Riabilitazione nelle patologie neuromuscolari<br>- Riabilitazione delle cerebrolesioni acquisite (traumatiche, neoplastiche)<br>- Studio e riabilitazione dei dismorfismi del rachide e osteomuscolari<br>- Riabilitazione postchirurgica ortopedica<br>- Riabilitazione delle lesioni midollari congenite ed acquisite<br>- Riabilitazione della vescica neurologica | - Protesi/Ortesi/Ausili<br>- Terapia Occupazionale e Neuropsicologia funzionale   |
| 3  | PSICOPATOLOGIA DELLO SVILUPPO, DEL LINGUAGGIO E DELL'APPRENDIMENTO | - Disturbi cognitivi e di apprendimento<br>- Psicologia clinica<br>- Neuropsicologia<br>- Psichiatria clinica e biologica   | - Psicologia applicata<br>- Neuropsicologia degli apprendimenti e del linguaggio<br>- Tecniche di riabilitazione psicologica<br>- Psico-neurofarmacologia |
| 4  | NEUROBIOLOGIA  |   | - Biologia molecolare   |



## DISTRIBUZIONE DEI CASI TRATTATI PER MDC

|        |  |
|--------|--|
| MDC 1  | Malattie e disturbi del sistema nervoso  |
| MDC 2  | Malattie e disturbi dell'occhio  |
| MDC 3  | Malattie e disturbi dell'orecchio, del naso, della bocca e della gola              |
| MDC 4  | Malattie e disturbi dell'apparato respiratorio                                     |
| MDC 5  | Malattie e disturbi dell'apparato cardiocircolatorio                               |
| MDC 6  | Malattie e disturbi dell'apparato digerente  |
| MDC 7  | Malattie e disturbi epatobiliari e del pancreas                                    |
| MDC 8  | Malattie e disturbi del sistema muscolo-scheletrico e del tessuto connettivo       |
| MDC 9  | Malattie e disturbi della pelle, del tessuto sotto-cutaneo e della mammella        |
| MDC 10 | Malattie e disturbi endocrini, nutrizionali e metabolici                           |
| MDC 11 | Malattie e disturbi del rene e delle vie urinarie                                  |
| MDC 12 | Malattie e disturbi dell'apparato riproduttivo maschile                            |
| MDC 13 | Malattie e disturbi dell'apparato riproduttivo femminile                           |
| MDC 14 | Gravidanza, parto e puerperio  |
| MDC 15 | Malattie e disturbi del periodo neonatale  |
| MDC 16 | Malattie e disturbi del sangue, degli organi emopoietici e del sistema immunitario |
| MDC 17 | Malattie e disturbi mieloproliferativi e neoplasie scarsamente differenziate       |
| MDC 18 | Malattie infettive e parassitarie (sistemiche o di sedi non specificate)           |
| MDC 19 | Malattie e disturbi mentali  |
| MDC 20 | Abuso di alcool/farmaci e disturbi mentali organici indotti                        |
| MDC 21 | Traumatismi, avvelenamenti ed effetti tossici dei farmaci                          |
| MDC 22 | Ustioni  |
| MDC 23 | Fattori che influenzano lo stato di salute ed il ricorso ai servizi sanitari       |
| MDC 24 | Traumatismi multipli rilevanti   |
| MDC 25 | Infezioni da H.I.V.  |

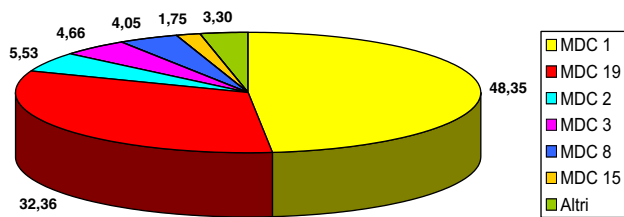
## LEGENDA MDC

MDC = Major Diagnostic Categories (previste dalla 10a revisione dei DRG - Diagnosys Related Groups americani, come utilizzati dalla normativa italiana per il settore ospedaliero di riabilitazione Decr. Min. 15.4.94 e Decr. Min 14.12.94)

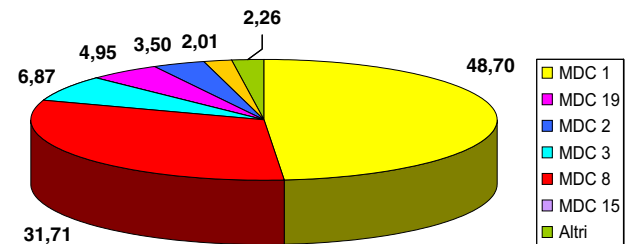
DISTRIBUZIONE  
DEI CASI DELLE  
CLASSI DI PATOLOGIA

**BOSISIO PARINI**

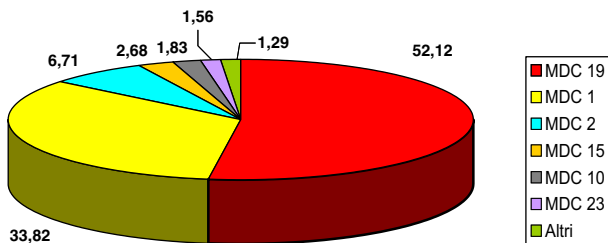
**MDC anno 2003 - Intera struttura**



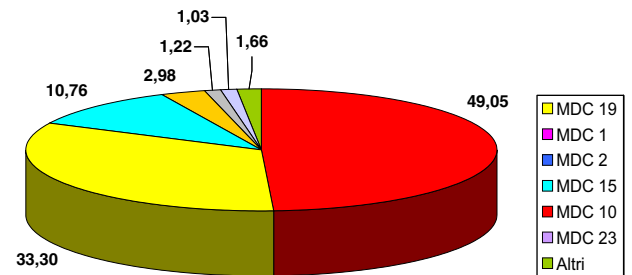
**MDC 2004 - intera struttura**



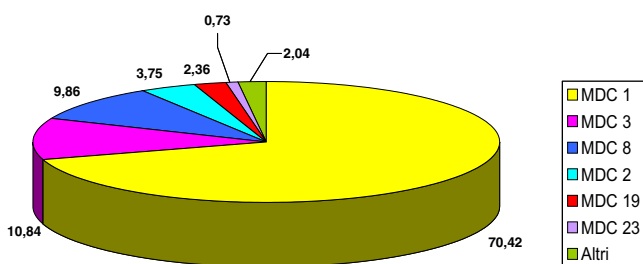
**MDC anno 2003 - Neuroriabilitazione**



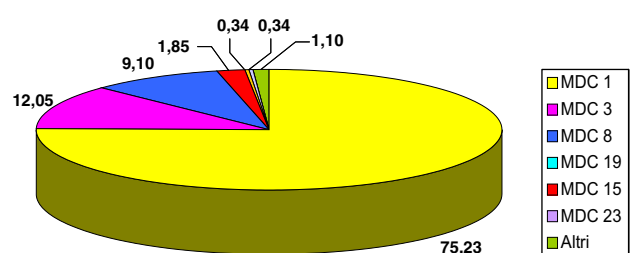
**MDC 2004 - Neuroriabilitazione**



**MDC anno 2003 - Riabilitazione**

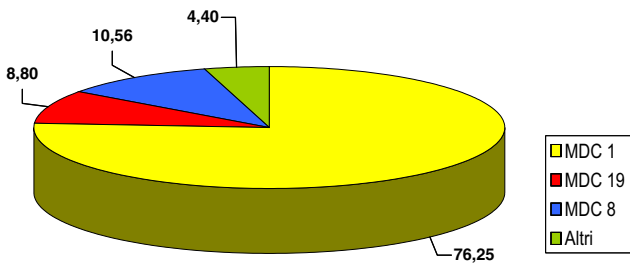


**MDC 2004 - Riabilitazione funzionale**

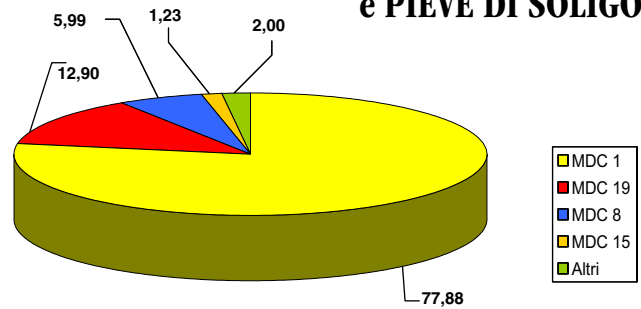


# CONEGLIANO e PIEVE DI SOLIGO

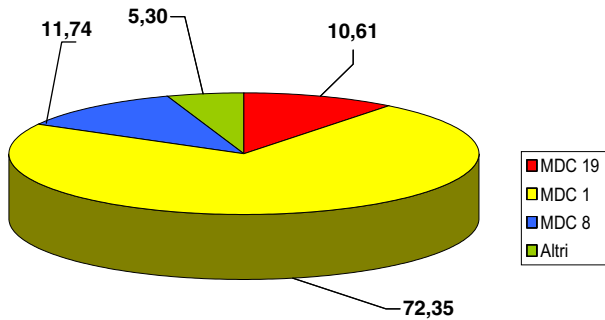
**MDC 2003 - Intera struttura - CONEGLIANO e PIEVE DI SOLIGO**



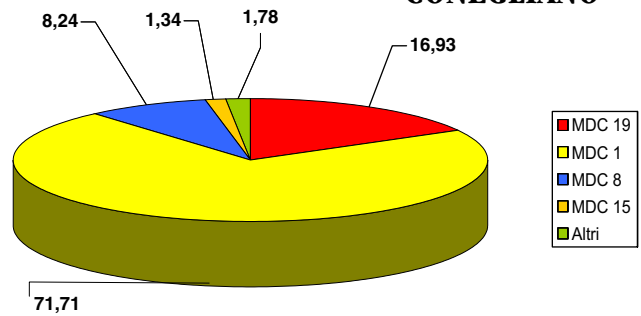
**MDC 2004 - Intera struttura CONEGLIANO e PIEVE DI SOLIGO**



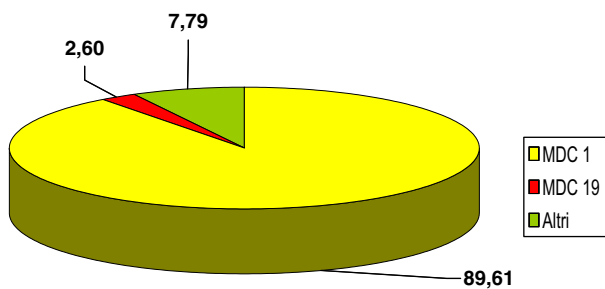
**MDC 2003 - UGDE - ppll ORD + ppll DH CONEGLIANO**



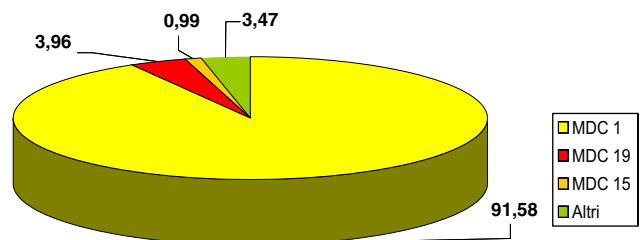
**MDC 2004 - UGDE - ppll ORD + ppll DH CONEGLIANO**



**MDC 2003 - URNA - ppll DH PIEVE DI SOLIGO**

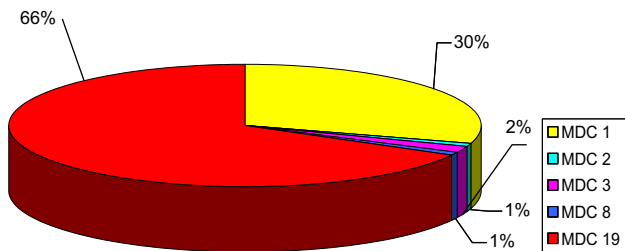


**MDC 2004 - URNA - ppll DH - PIEVE di SOLIGO**

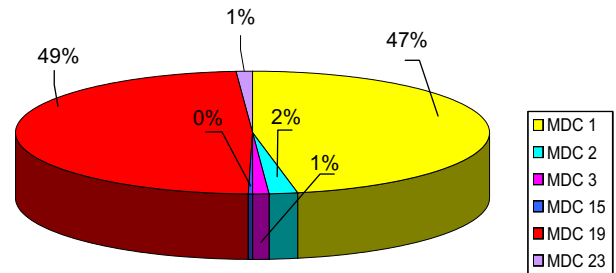


Dal 1° marzo 2004 sono attivi e operativi nella sede di Ostuni 20 posti letto ad alta specialità di Neuroriabilitazione nel Settore dell'Età evolutiva e pertanto, per il 2004, riferiamo i dati relativi ai ricoveri.

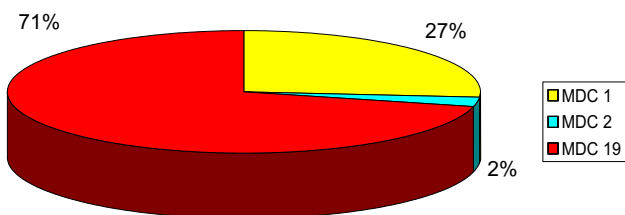
**MDC 2003 - Tutte le modalità di trattamento**



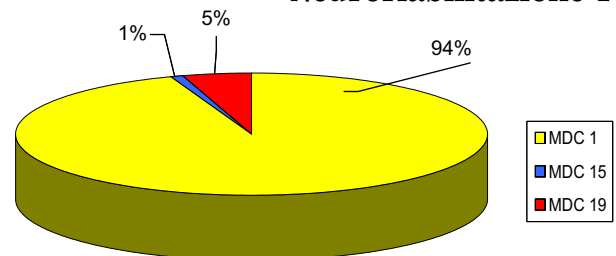
**MDC 2004 - Intera struttura**



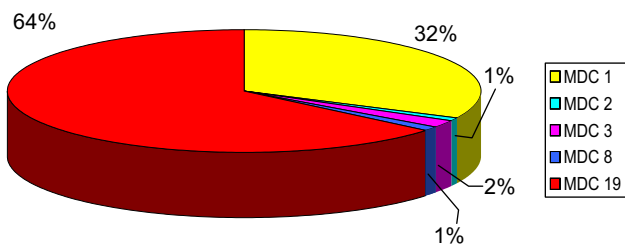
**MDC 2003 - Trattamento a ciclo diurno**



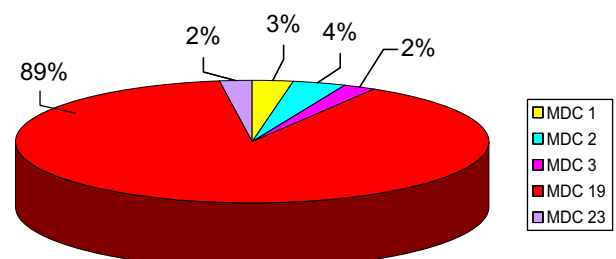
**MDC 2004 Unità Operativa Neuroriabilitazione 1**



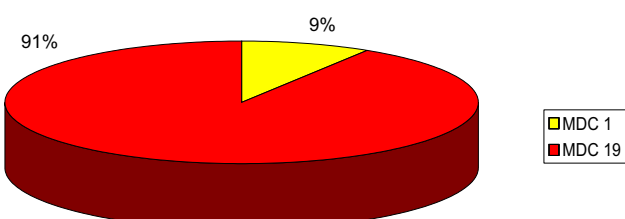
**MDC 2003 - Trattamento ambulatoriale e domiciliare**



**MDC 2004 Unità Operativa Neuroriabilitazione 2**

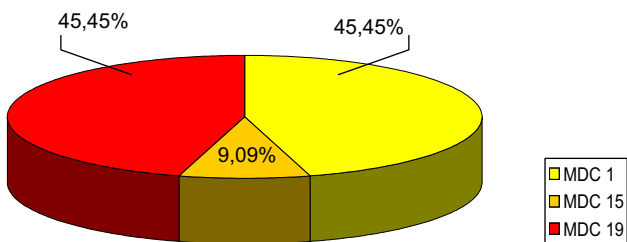


**MDC 2003 - Trattamento a ciclo continuo**

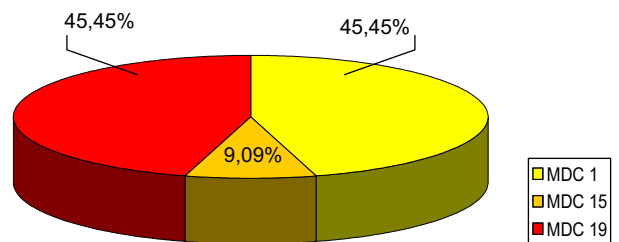


# SAN VITO AL TAGLIAMENTO - PASIAN DI PRATO

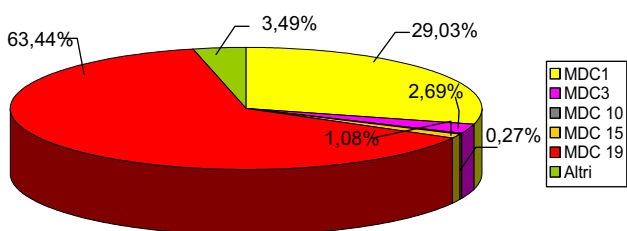
**MDC 2003 - Trattamento a ciclo continuo**



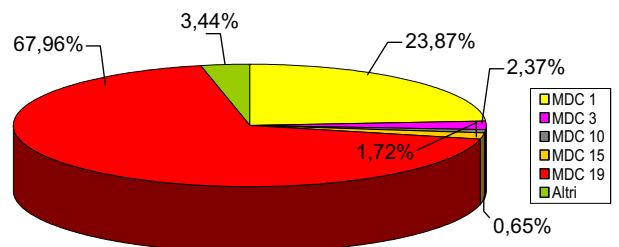
**MDC 2004 - Trattamento a ciclo continuo**



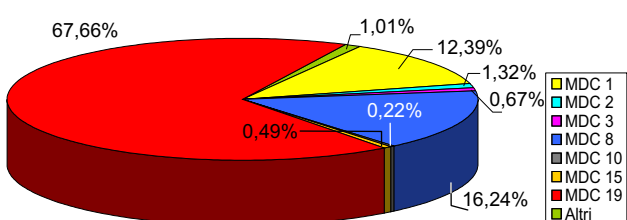
**MDC 2003 - Trattamento a ciclo diurno**



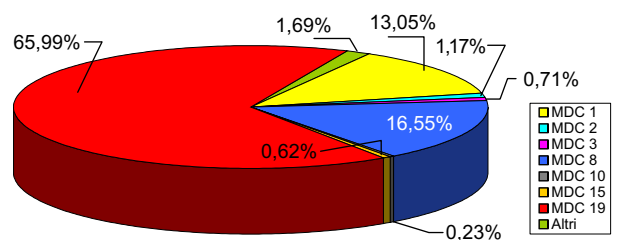
**MDC 2004 - Trattamento a ciclo diurno**



**MDC 2003 - Trattamento ambulatoriale**



**MDC 2004 - Trattamento ambulatoriale**



## CERTIFICAZIONE DI QUALITÀ DEI SERVIZI SECONDO PROCEDURE INTERNAZIONALMENTE RICONOSCIUTE

### ATTIVITÀ SANITARIA

L'I.R.C.C.S. "E. Medea" sede di Bosisio Parini ha conseguito la certificazione per il Sistema di Gestione per la Qualità (SGQ.) con la normativa UNI EN ISO 9001:2000 il 05.11.2003.

Dal novembre 2004 l'applicazione della norma ISO 9001:2000 è stata estesa anche all'ambito della ricerca finalizzata, per cui l'attuale dominio è:

**"Erogazione di servizi di recupero e riabilitazione funzionale in regime di degenza ordinaria e day hospital per l'età evolutiva e laboratorio analisi nell'ambito della patologia clinica.**

**Attività di ricerca finalizzata.**

**Provision of functional recovery and rehabilitation services for children on inpatients and DH bases and of a clinical pathology laboratory. Finalized Research."**

**La Direzione garantisce l'implementazione del SGQ assicurando:**

- l'idoneità del Sistema di Gestione per la Qualità, l'adeguatezza ed efficacia delle procedure descritte ed applicate
- le azioni correttive e preventive messe in atto a seguito delle Verifiche Ispettive Interne ed Esterne
- l'attuazione degli interventi di miglioramento conseguenti
- l'attività del Responsabile Assicurazione Qualità, dell'Ufficio Qualità (attraverso il Responsabile dell'Ufficio Qualità), degli Auditor e dei Referenti per la Qualità delle singole aree certificate.
- il Riesame della Direzione per la definizione degli obiettivi di miglioramento della qualità.

**Il SGQ è applicato ai seguenti processi:**

*Processi principali:*

- Laboratorio
- Unità operativa di Recupero e Riabilitazione funzionale

*Processi di supporto:*

- Prenotazione ed Accettazione
- Cartella Clinica
- Armadio Farmaceutico
- Gestione apparecchiature
- Approvvigionamenti

*Ricerca finalizzata*

I processi principali e di supporto sono sottoposti a monitoraggio tramite l'utilizzo di indicatori elaborati semestralmente.

Sono in uso nell'Unità Operativa di Riabilitazione Funzionale protocolli clinici con richiamo alle Linee Guida per una buona prassi medica.

**• Progetti di miglioramento della qualità raggiunti nel biennio 2003-2004**

1. Attivazione di un fabbricato (7° Padiglione) con trasferimento delle unità operative di Riabilitazione Funzionale, Neuroriabilitazione 1 (cerebrolesioni congenite) e Neuroriabilitazione 3 (cerebrolesioni acquisite); del C.U.P. e dell'accettazione; dell'armadio farmaceutico; dell'archivio cartelle cliniche.
2. Attivazione presso il settimo padiglione del servizio centralizzato di ristorazione e mensa del personale e degli ospiti.
3. Attivazione di collegamenti coperti fra i padiglioni.
4. Release della cartella clinica, con l'inserimento della cartella riabilitativa e di sezioni specificamente dedicate al Progetto Riabilitativo e al Programma Riabilitativo.
5. Release della modulistica finalizzata alla pianificazione ed erogazione degli interventi relativi al processo di cura, tramite informatizzazione della medesima.

6. Informatizzazione della documentazione del SGQ (manuale della qualità, protocolli, Linee Guida, istruzioni operative, moduli) con distribuzione via intranet anche alle aree ed alle unità operative non certificate, al fine di implementare la diffusione della cultura della qualità.
7. Gestione informatizzata delle richieste dei pasti dei degenti (menù settimanale).

**• Obiettivi di miglioramento della qualità per il biennio 2005-2006**

1. Ampliamento e trasferimento del Laboratorio Analisi chimico cliniche con tre sezioni specializzate presso il settimo padiglione
2. Trasferimento del servizio di Pneumocardiologia presso il settimo padiglione
3. Attivazione di nuovi servizi di accoglienza e comfort ( servizio bar, vendita giornali...)
4. Mantenimento della certificazione di qualità UNI EN ISO 9001:2000

**ATTIVITÀ FORMATIVA**

La Direzione Centrale Sviluppo e Formazione ha conseguito la certificazione per il Sistema di Gestione per la Qualità (SGQ) secondo la normativa UNI EN ISO 9001:2000 il 19.6.2003.

La certificazione è valida per il seguente campo applicativo: **“Progettazione ed erogazione di corsi di formazione professionale per l'integrazione di soggetti disabili, formazione continua e formazione professionale superiore nell'area dei servizi alle persone. Progettazione ed erogazione di attività di orientamento”**.

**• La Direzione garantisce l'implementazione del SGQ assicurando:**

- l'idoneità del Sistema di Gestione per la Qualità, l'adeguatezza ed efficacia delle procedure descritte ed applicate
- le azioni correttive e preventive messe in atto a seguito delle Verifiche Ispettive Interne ed Esterne
- l'attuazione degli interventi di miglioramento conseguenti
- l'attività del Responsabile Assicurazione Qualità, degli Auditor e dei Referenti per la Qualità delle singole aree certificate
- il Riesame della Direzione per la definizione degli obiettivi di miglioramento della qualità

**• Il SGQ è applicato alle seguenti aree**

- il Settore Formazione Continua
- il Settore Formazione Superiore
- il Centro di Formazione Professionale di Bosisio Parini
- il Centro di Formazione Professionale di Castiglione Olona.

**• Progetti di miglioramento della qualità raggiunti nel biennio 2003-2004**

- Informatizzazione della documentazione del SGQ (manuale della qualità, procedure, istruzioni operative, moduli) con distribuzione via intranet al fine di implementare la diffusione della cultura della qualità
- Coinvolgimento dei ragazzi con disabilità delle loro famiglie secondo metodologie di empowerment
- Mantenimento di periodici incontri con i rappresentanti istituzionali (regionali e della Comunità Europea) per la definizione e la verifica dei propri orientamenti e il corretto utilizzo dei fondi destinati a questi scopi
- Cura dello sviluppo della professionalità di tutti gli operatori della Nostra Famiglia con adeguate proposte di aggiornamento e formazione permanente

**• Obiettivi di miglioramento della qualità per il biennio 2005-2006**

- Informatizzazione banche dati
- Miglioramento delle metodologie di rilevamento della customer satisfaction mediante strumenti informatici
- Utilizzo di strumenti per una gestione efficiente del monitoraggio e della rendicontazione delle attività
- Verifica e aggiornamento continuo delle procedure affinché siano sempre adeguate all'erogazione di nuove tipologie dei corsi
- Mantenimento della certificazione di qualità UNI EN ISO 9001:2000

## RICERCHE MINISTERIALI CORRENTI 2003 (RISULTATI)

- Caratterizzazione genetica delle epilessie idiopatiche: studio di un'ampia casistica afferente all'Istituto
- Disordini oculomotori nel Cerebral Visual Impairment (C.V.I.): proposta di un criterio classificatorio con valore prospettico in un campione di 100 soggetti affetti da CVI
- Riabilitazione visiva dell'ambliopia mediante Visual Pathfinder
- Studio dello sviluppo della specializzazione emisferica e delle competenze comunicative in soggetti nati pretermine
- Studio del ruolo degli ausili tecnologici nel progetto riabilitativo delle pluriminorazioni da lesioni cerebrali acquisite
- Protocolli di valutazione e trattamento riabilitativo nelle patologie reumatiche croniche del bambino
- Lesioni cerebellari e turbe cognitivo-comportamentali: studio nei tumori della fossa cranica posteriore in età evolutiva
- Complicanze Respiratorie nelle forme gravi di Paralisi Cerebrale Infantile (PCI): determinazione della frequenza e definizione di protocolli valutativi e di trattamento
- Variabilità fenotipica inter- e intra-familiare nell'Osteogenesi Imperfecta: identificazione di loci modificatori, correlazione genotipo-fenotipo e valutazione di potenziali target molecolari per un approccio farmacologico alla terapia
- Correlazioni tra abilità sintattiche ed elaborazione di sequenze visive ed uditive nei Disturbi Specifici del Linguaggio: uno studio elettrofisiologico
- Profilo psicofisiologico, abilità di riconoscimento emozionale e comportamento sociale in bambini vittime di maltrattamento e in bambini con esperienza di immigrazione clandestina
- La riabilitazione neurocognitiva di bambini con disturbo da Deficit di Attenzione/iperattività
- Impulsività come tratto psico biologico trans-diagnostico: studio dei determinanti genetici serotoninergici
- Disturbi del linguaggio nelle agenesie del corpo calloso
- Diagnosi e riabilitazione dell'espressione verbale nei bambini con disfasia evolutiva
- Il ruolo delle anomalie parossistiche EEG in sonno non REM nella riabilitazione delle afasie e delle disfasie
- Epilessie sintomatiche farmacoresistenti: studio del bisincronismo secondario nei tracciati EEG intercritici
- Studio dell'eccitabilità corticale nei disturbi del linguaggio in età evolutiva
- Identificazione e valutazione di potenziali target molecolari in cellule staminali muscolari per un nuovo approccio terapeutico alla Distrofia Muscolare di Duchenne
- Ruolo di beta amiloide e glutammato nella proliferazione, differenziazione ed apoptosi di cellule staminali somatiche in pazienti con Sindrome di Down
- Studio ex vivo delle interazioni tra stress ossidativo ed eccitotossicità in malattie neurodegenerative mediante ibridi citoplasmatici (CIBRIDI)
- Analisi mediante modello animale (*Drosophila*) della funzionalità del gene DYT1
- Significato funzionale dei polimorfismi del mtDNA: valutazione in vitro della sensibilità alla esposizione a ROS e della attivazione di apoptosi
- Studio della tossicità del beta amiloide (A $\beta$ ) nelle cellule neuronali: ruolo del nitrossido d'azoto (NO), di ceramide e di p 75 nell'induzione della morte neuronale in patologie neurodegenerative
- Cinetiche di rimozione degli introni del gene DMD: rilevanza per meccanismi fisiologici e patologici di splicing



- Studio neurochimico su eluato extracellulare ottenuto in corso di monitoraggio neurofisiologico per impianto di stimolatore pallidale profondo in pazienti distonici
- Valutazione del comportamento di una popolazione di cellule staminali multipotenti ottenute da tessuti adulti di topi affetti da diversi tipi di distrofia muscolare (mdx, dy2j) e delle potenzialità terapeutiche
- Microtecnologie al servizio del paziente: ausili per l'interazione tra medico e paziente
- Support Vector Machines: predizione dell'effetto patologico di mutazioni puntiformi
- Implementazione in ambito riabilitativo per l'età evolutiva e giovane adulta del sistema classificativi ICF e studio di assessment dedicati

**CARATTERIZZAZIONE GENETICA DELLE  
EPILESSIE IDIOPATICHE:  
STUDIO DI UN'AMPIA CASISTICA  
AFFERENTE ALL'ISTITUTO**

**Dr. Renato Borgatti**

e-mail: borgatti@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 1:** Neuropatologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Collaborazioni**

IRCCS Stella Maris - Pisa

IRCCS Mondino - Pavia

Università INSUBRIA - Varese

Dipartimento di Biochimica dell'Università Brescia

**Razionale ed Obiettivi**

**Premessa**

Dalla comparsa della prima classificazione internazionale delle sindromi epilettiche (Epilepsia 1989) classicamente si distinguono Epilessie Sintomatiche, nelle quali una lesione è chiaramente identificabile, da Epilessie Idiopatiche dove tutti gli accertamenti clinici e strumentali permettono di escludere una lesione strutturale a carico del sistema nervoso centrale. In questo secondo gruppo, che spesso ha un andamento età dipendente e prognosi favorevole, si è sempre ritenuto che fattori genetici, un tempo definiti come predisposizione alla convulsività, giocassero un ruolo centrale nel determinismo della sintomatologia epilettica

In questi ultimi anni l'acquisizione di sempre maggiori conoscenze, sia nel campo della diagnostica per immagini (grazie alla RMN sono state identificate una grande quantità di malformazioni dello sviluppo corticale prima insospettite) sia nel campo della genetica, hanno consentito di modificare, almeno in parte, i concetti generali prima esposti. Oggi si sa che molte epilessie si trasmettono da una generazione all'altra attraverso differenti geni che possono determinare una alterazione dell'eccitabilità del neurone con meccanismi tra loro anche molto differenti: modificando in modo più o meno vistoso la struttura della corteccia (e in questo caso risultando più o meno individuabili da indagini morfologiche come la RMN), o semplicemente modificando la permeabilità della membrana del neurone (e relativa eccitabilità) Ne deriva che l'assioma Epilessie Genetiche = Epilessie Idiopatiche non è più considerato ineluttabile e soprattutto che la prognosi di una epilessia genetica deve essere valutata caso per caso.

**Obiettivi**

Il presente progetto di ricerca si pone due principali obiettivi:

1. Studiare epilessie a trasmissione genetica nota al fine di migliorare le nostre conoscenze in termini di correlazione genotipo/fenotipo
2. Testare come possibili "geni malattia" alcuni geni di recente identificazione che codificano per canali del Na e del K e per proteine coinvolte nel processo di migrazione neuronale.

**Descrizione della casistica disponibile e dell'attività svolta**

Presso il Reparto di Neuroriabilitazione 1 e il Servizio di Neurofisiopatologia afferiscono oltre 1000 pazienti anno perché affetti da epilessia. Pur essendo la maggior parte dei casi affetti da Epilessie Sintomatiche secondarie a danni cerebrali acquisiti, in una minor percentuale (pari a circa il 15%) si riscontrano anche casi di epilessie idiopatiche riconducibili a sindromi geneticamente determinate. Sono inoltre stati individuati almeno 25 linee familiari con più di un affetto tra parenti di primo grado.

Inoltre da tempo vengono raccolti, studiati e classificati soggetti affetti da diversi quadri malformativi (ed in particolare malformazioni dello sviluppo corticale). Per ogni soggetto studiato viene compilato una specifica scheda di raccolta dati (albero genealogico, dati anamnestici, dati clinici neurologici e neuropsicologici, anamnesi epilettologica e della terapia AE) viene raccolta la documentazione neuroradiologica ed EEG. Viene eseguito un cariotipo standard e la ricerca di mutazioni per specifici geni coinvolti nello sviluppo della corteccia (indagini differenti in base al quadro clinico-radiologico). Al momento attuale la casistica riguarda 123 soggetti, tra i quali si ritrovano 7 nuclei familiari.

Nel nostro laboratorio precedenti studi ci hanno consentito di isolare tramite esperimenti mediante la tecnica del "doppio ibrido" 10 cloni possibili interattori di doublecortin. Successive verifiche dei primi esperimenti hanno ridotto a 6 i cloni sui quali sembra opportuno operare una caratterizzazione. Nel presente progetto ci si propone per ogni clone individuato l'obiettivo di: 1- clonare l'intera sequenza codificante; 2- sotto-clonare i frammenti in vettori di espressione per cellule eucariote per verificare la localizzazione cellulare ed eventuale co-localizzazione con doublecortin (tecniche di biologia molecolare classica ed esperimenti di immunolocalizzazione); 3- analizzare le omologie di questi cloni; 4- mappare i cloni sul genoma e verificare se la localizzazione corrisponde a regioni già segnalate in letteratura per essere associate a malformazioni dello sviluppo corticale o epilessia; 5- esperimenti di co-immunoprecipitazione; 6- definizione della struttura genomica e screening di mutazioni sul DNA dei pazienti mediante sequenziamento e DHPLC.

### **N.5 pubblicazioni degli ultimi 5 anni inerenti il tema**

1. Gleeson JG., Minnerath SR., Allen KM., Luo RF, Hong SE., Berg MJ, Kuzniecky R., Reitnauer PJ., Borgatti R., Mira AP, Guerrini R., Holmes GL, Rooney CM, Berkovich S., Sheffer I., Cooper EC., Ricci S., Cusmai R., Crawford TO., Leroy R., Anderman E., Whelless JW., Dobyns WB., Ross ME., Walsh CA. Characterization of mutations in the gene doublecortin in patients with double cortex syndrome. *Annals of Neurology* 1999;45(2):146-153
2. Borgatti R., Triulzi F, Zucca C., Piccinelli P., Balottin U., Carrozzo R., Guerrini R. Bilateral Perisylvian Polymicrogyria in three generations. *Neurology* 1999;52:1910-1913.
3. Guerreiro MM, Anderman 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, Palmieri A, Fernandes W, Montenegro MA, Cendes F, Anderman F. Familial Perisylvian Polymicrogyria (FPP): a new familial syndrome of cortical maldevelopment. *Ann Neurol* 2000;48:39-48.
4. Borgatti R, Zucca C, Piccinelli P, Radice L, Tofani A, Benti R, Triulzi F: Unilateral Periventricular Nodular Heterotopia Associated With Diffuse Areas Of Cerebral Functional Abnormalities. *Journal of Child Neurology* 2000;15:622-626.
5. Piccinelli P, Borgatti R, Perucca E, Tofani A, Donati G, Balottin U: Frontal Nonconvulsive Status Epilepticus Associated With High-Dose Tiagabine Therapy In A Child With Familial Bilateral Perisylvian Polymicrogyria. *Epilepsia* 2000 41 (11):1485-1488.

Infine queste metodologie potranno poi essere utilizzate nell'ambito delle procedure diagnostiche e prognostiche riconosciute dal Servizio Sanitario Nazionale.

### **Trasferibilità**

Questo progetto è stato ideato con l'obiettivo di individuare nuovi geni responsabili di malformazioni dello sviluppo corticale. La loro identificazione può migliorare le nostre conoscenze rispetto ai meccanismi che regolano nell'uomo lo sviluppo e la migrazione dei neuroni e consentire in soggetti affetti di chiarire il ruolo di possibili meccanismi patogenetico

I risultati attesi permetteranno di affinare le metodologie di inquadramento genetico per le patologie prese in esame contribuendo così ad indirizzare un corretto counselling genetico. Inoltre consentiranno di migliorare i criteri diagnostici e relativa classificazione (attualmente costruita solo su indicatori clinici).

**DISORDINI OCULOMOTORI NEL  
CEREBRAL VISUAL IMPAIRMENT  
(C.V.I.): PROPOSTA DI UN CRITERIO  
CLASSIFICATORIO CON VALORE  
PROSPETTICO IN UN CAMPIONE DI 100  
SOGGETTI AFFETTI DA CVI**

**Dr. Roberto Salati**  
e-mail: salati@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 1:** Neuropatologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale ed Obiettivi**

**Background**

Negli ultimi dieci anni il termine cerebral visual impairment (CVI) è venuto ad indicare il quadro clinico del bambino ipovedente che presenta una perdita visiva dovuta ad una patologia cerebrale, generalmente sulla via visiva retrogenicolata. Nell'ambito di una disamina organica e sistematica del CVI, questi aspetti sono già stati in precedenza affrontati dal nostro Istituto:

- 1998 Ricerca Corrente La compromissione della funzione visiva nel cerebral visual impairment (CVI): correlazioni con le indagini neuroradiologiche (RMN) ed elettrofisiologiche (PEV);
- 2000 Ricerca Corrente Studio morfologico e funzionale delle alterazioni del nervo ottico nel cerebral visual impairment (CVI).

Le lesioni della via visiva, della corteccia visiva, delle aree associative compromettono in maniera grave sia la funzione visiva che il controllo dell'oculomotricità. La motilità oculare nel CVI è così fortemente anomala da meritare una descrizione separata e particolareggiata. I soggetti affetti da CVI presentano sia alterazioni che sono presenti anche in soggetti neurologicamente non compromessi, come strabismo e nistagmo, che anomalie peculiari, specifiche, che qui chiameremo con il termine di incoordinazione oculomotoria.

Nonostante queste anomalie oculomotorie siano note, uno studio organico di queste anomalie non è mai stato affrontato.

**Finalità della ricerca:**

- elaborare un criterio classificatorio dei disordini oculomotori nel CVI
- proporre un protocollo diagnostico che comprenda i disturbi summenzionati e che permetta lo studio dell'evoluitività di questi disturbi. Ribadiamo che un tale strumento è del tutto assente nella letteratura internazionale.

**Metodi**

La metodica consisterà nell'applicazione di un protocollo durante la visita oculistica che i pazienti effettuano presso il Servizio di Oculistica. Per le particolarità del disturbo studiato, lo studio della motilità oculare avverrà mediante filmato, in modo da poter essere studiato a parte.

I parametri studiati nel protocollo saranno:

- mantenimento della fissazione
- scanning dell'ambiente
- movimenti saccadici intenzionali diretti al target: (fenomeno dell'avoiding).
- movimenti di inseguimento (smooth pursuit)
- strabismo
- nistagmo
- deviazioni parossistiche dello sguardo (paroxysmal ocular deviation).

**Soggetti**

Verranno selezionati circa 100 soggetti affetti da CVI all'interno della casistica di pazienti afferenti al Centro Regionale di Ipvisione dell'IRCCS E Medea di Bosisio Parini.

**RIABILITAZIONE VISIVA  
DELL'AMBLIOPIA MEDIANTE VISUAL  
PATHFINDER**

**Dr.ssa Claudia Cordaro**  
e-mail: pasian@cn.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 1:** Neuropatologia  
**Tipo di Ricerca:** Corrente  
**Periodo di svolgimento:** 2003  
**Polo Scientifico:** S. Vito al Tagliamento

**Razionale ed Obiettivi**

**Razionale**

Il termine "ambliopia" indica una condizione di ridotta acuità visiva, monolaterale o bilaterale, causata da un ostacolo al normale input sensoriale, insorto durante il periodo critico e passibile di recupero parziale o totale mediante idoneo e tempestivo trattamento riabilitativo.

Le più comuni cause di ambliopia sono lo strabismo, le anisometropie, la cataratta congenita ed altre più rare malattie oculari congenite.

Il trattamento tradizionale consiste generalmente nella copertura dell'occhio sano (occlusione totale) per stimolare il cosiddetto occhio pigro, cioè ambliope.

Recentemente è stata proposta una nuova modalità di trattamento che mira alla stimolazione diretta dell'occhio ambliope mediante sedute di stimolazione con un metodo psicofisico.

L'apparecchiatura utilizzata per le sedute è quella in uso per gli esami elettrofunkzionali di routine (PEV-ERG) a cui è stato abbinato un sistema detto "biofeedback" che ha la capacità di trasformare il segnale bioelettrico in un segnale acustico. Questo segnale sonoro fa in modo che il paziente si renda conto della funzione visiva: funzione che di norma non è sottoposta ad un controllo volontario.

Il Visual Pathfinder combina le più recenti tecniche del Biofeedback con le esperienze acquisite nei test elettrofunkzionali in oftalmologia: ERG (Elettroretinogramma) VEP (Potenziale Visivo Evocato).

Lo scopo che si prefigge l'apparecchiatura è quella di migliorare, normalizzare ed incrementare le capacità visive e le abilità ad esse collegate in soggetti affetti da patologie oculari di varia origine e natura, ametropie e problemi di binocularità.

Gli elementi sopra descritti sono attualmente impiegati su larga scala nell'ambito medico.

L'apparato elettrofunkzionale utilizzato per Pathfinder ha una duplice funzione:

- fornire all'oftalmologo un mezzo di diagnosi, prima, e di controllo, successivamente, per la valutazione oggettiva dei progressi che il paziente raggiunge nel corso del trattamento (tracciati e valori di riferimento).
- fornire al paziente, in tempo reale, la giusta informazione per l'apprendimento del controllo volontario della sua risposta corticale e retinica agli stimoli ai quali viene sottoposto nel corso del trattamento (biofeedback sonoro).

In termini pratici ciò si può ottenere, come già sopra accennato, sottoponendo i pazienti in oggetto a sedute successive nelle quali, grazie al BF, essi imparino a controllare la risposta bioelettrica corticale ed a migliorarla gradualmente, affrancandosi a poco a poco dalla macchina fino a farne a meno.

In uno studio di Scalinci (2002), si è osservato che l'utilizzo del visual Pathfinder in soggetti adulti con degenerazione maculare, ha determinato significativi miglioramenti per quanto concerne l'acuità visiva e la velocità di lettura, misurate attraverso la somministrazione delle tavole MNREAD.

Questo risultato indica, per il trattamento dei pazienti ipovedenti, la concreta possibilità di affiancare tale metodica di recupero delle capacità visive alla classica assegnazione degli ausili visivi.

**Obiettivo di lavoro**

Il nostro studio sperimentale intende verificare l'utilità dello strumento nel recupero dell'ambliopia in bambini di età compresa tra 3 e 10 anni, la cui ambliopia è causata da anisometropia, strabismo o cataratta congenita.

**Materiali e metodi**

Il campione sarà costituito da bambini di età compresa tra 3 e 10 anni. Verranno considerati tre gruppi:

Gruppo formato da bambini sottoposti al solo trattamento di occlusione;

Gruppo formato da bambini sottoposti in precedenza al trattamento tradizionale di occlusione senza aver ottenuto recupero, ai quali verrà proposto il visual pathfinder;

Gruppo di bambini che riceveranno solamente il trattamento mediante stimolazione bieletrica (visual pathfinder).

**Criteri di inclusione**

Età compresa tra i 3 e i 10 anni;

Ambliopia in uno o entrambi gli occhi;

Assenza di altre patologie oculari, oltre quella ambliopizzante, che possano inficiare il recupero dell'acuità visiva.

**Criteri di esclusione**

– Patologie oculari associate;

– Scarsa collaborazione al trattamento;

– Presenza all'anamnesi di epilessia.

**Criteri di valutazione**

Ogni bambino sarà sottoposto anche alla seguente valutazione:

– PEV pattern: valutazione che sarà effettuata sia prima sia dopo il trattamento;

– Esame dell'acuità visiva eseguito con le tavole ETDRS: la valutazione avrà una cadenza mensile.

L'utilizzo dello strumento visual pathfinder prevede 10 sedute con cadenza a giorni alterni, della durata di circa 15 minuti.

Il gruppo di controllo (gruppo 1) eseguirà un'occlusione totale alternata, variabile a seconda dell'età e della profondità dell'ambliopia.

**STUDIO DELLO SVILUPPO DELLA  
SPECIALIZZAZIONE EMISFERICA  
E DELLE COMPETENZE COMUNICATIVE  
IN SOGGETTI NATI PRETERMINE**

**Dr. Rosario Montiroso**

e-mail: rosario@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 1:** Neuropatologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo scientifico:** Bosisio Parini

**Collaborazioni**

Patologia Neonatale - Ospedale "Manzoni" di Lecco e Ospedale "Buzzi" di Milano

Facoltà di Psicologia, Università Cattolica di Milano

Perception Laboratory School of Psychology, University of St Andrews, Scotland

**Razionale ed Obiettivi**

**Background**

L'espressione facciale e la vocalizzazione oltre ad essere due tra le principali manifestazioni comunicative attraverso le quali il bambino piccolo modula la relazione con l'ambiente (Eckerman et al., 1999), rappresentano importanti indicatori del funzionamento neurocognitivo del bambino. In particolare:

- il **sorriso** esogeno (successivo ai 3 mesi di vita) è un precoce indicatore socio-emozionale con importanti implicazioni in termini di maturazione neocorticale (Sroufe, 2000);
- la **lallazione**, che compare tra i 7 e 10 mesi di età, è riconosciuta essere un precoce segnale della competenza linguistica dei bambini (Bortolini, 1995);

Negli adulti sani e patologici, sia durante il linguaggio spontaneo verbale, che durante la manifestazione di espressioni emotive, l'asimmetria del volto è stata ampiamente utilizzata per indagare la **specializzazione emisferica** (Graves, Goodglass e Landis, 1982; Borod et al., 1988).

Differenze emisferiche sono state documentate a partire dai 4 mesi di età relativamente al riconoscimento di stimoli, ad es.: volti vs. non volti (de Schonen et al., 1998). Recentemente, inoltre, anche in bambini al di sotto dell'anno di vita sono state evidenziate **asimmetrie facciali (pattern buccali), specificatamente associate alla lallazione e al sorriso** (Holowka e Petitto, 2002), quest'ultimi sembrano sostenere l'ipotesi della precoce presenza di una specializzazione emisferica anche per quanto riguarda aspetti del linguaggio e delle emozioni.

Esistono relativamente pochi lavori nei quali sia stata indagato la lallazione e il sorriso nei soggetti prematuri (Oller et al., 1998; Emde et al., 1971). Tuttavia, nessuna di queste ricerche ha utilizzato le manifestazioni espressive ai fini dello studio della specializzazione emisferica

dei bambini nati pretermine.

La condizione di prematurità, la cui prevalenza nei paesi occidentali varia tra il 5 e il 10% di tutti i nati vivi (World Health Organization, 2002), rappresenta uno tra i più importanti fattori di rischio per lo sviluppo di malattie croniche e problematiche di diversa natura.

In grado diverso a seconda di alcune caratteristiche cliniche, come il peso o l'età di gestazione, nel corso dello sviluppo il bambino nato pretermine frequentemente può presentare **disabilità neuropsicologiche, cognitive, comunicative ed emozionali**, anche con esiti a lungo termine (Tideman, 2001).

**Obiettivi**

**Clinico-Conoscitivi Primari**

- analizzare le caratteristiche del sorriso e della lallazione in bambini prematuri senza danno neurologico evidenziato;
- verificare se, nel corso della lallazione e del sorriso, i bambini pretermine presentino un'asimmetria buccale comparabile a quella dei bambini sani nati a termine;
- indagare se e come la lallazione e il sorriso dei soggetti prematuri, sono correlati al grado di rischio biologico perinatale;

**Secondari**

- porre le basi per una ricerca longitudinale relativa allo studio della specializzazione emisferica, dello sviluppo linguistico e dei processi di comunicazione emozionale nei soggetti prematuri.

**Metodologici-Strumentali**

- ricognizione degli strumenti già esistenti per analisi automatica dei volti relativi alla decodificazione dell'espressione;
- selezione ed implementazione di uno strumento per l'analisi dei movimenti buccali finalizzato allo studio dell'asimmetrie emisferiche.

## Casistica

### Gruppo patologico

40 bambini prematuri (età gestazionale < 37° settimana) suddivisi per sesso e di età corretta compresa tra i 7 e 12 mesi, di cui:

- 20 soggetti a basso rischio biologico (età gestazionale > 32° settimana e peso appropriato per l'età gestazionale);
- 20 soggetti ad alto rischio biologico (età gestazionale < 32° settimana o peso inadeguato rispetto all'età).

Tutti i bambini dovranno presentare nella norma le seguenti indagini cliniche:

- *esame neurologico neonatale*,
- *ecografia cerebrale*,
- *fondo dell'occhio*.

### Gruppo di controllo

20 bambini nati a termine, sani, suddivisi per sesso e di età compresa tra i 7 e 12 mesi

### Prodotti attesi

- l'identificazione precoce di problematiche del linguaggio e della comunicazione emozionale;
- porre le basi per una ricerca longitudinale relativa allo studio della specializzazione emisferica, dello sviluppo linguistico e dei processi di comunicazione emozionale nei soggetti prematuri
- la pubblicazioni su riviste specialistiche;
- lo sviluppo e l'ampliamento di importanti collaborazioni con partner scientifici internazionali;

### Sviluppi futuri

L'impostazione della presente proposta di ricerca consente sin da ora di ipotizzare sviluppi futuri relativamente ad obiettivi a medio e lungo termine. In particolare attraverso follow-up ad intervalli di tempo regolari sarà possibile valutare:

- l'evoluzione del sviluppo linguistico ed espressivo dei bambini nati pretermine partecipanti alla ricerca;
- il ruolo di possibili fattori predittivi di rischio clinico-evolutivo.

## Contatti Internazionali

È da tempo attiva una collaborazione con:

- il Perception Laboratory della School of Psychology, University of St Andrews, Scotland diretto dal Prof. Dave Perrett.

Sono in corso contatti con:

- la Prof. Laura Ann Petitto del Department of Psychological and Brain Sciences and Department of Education, Dartmouth College, USA.

## Bibliografia essenziale

- Borod J.C. et al. Facial asymmetry while posing positive and negative emotions: support for the right hemisphere hypothesis. *Neuropsychologia*, 26, 759-764, 1988.
- Bortolini U. Sviluppo delle funzioni linguistiche. In: G. Sabbadini (a cura di) *Manuale di neuropsicologia dell'età evolutiva*. Zanichelli, Bologna, 1995.
- de Schonen S., Mancini J., Liegeois E. About functional cortical specialization: the developmental of face recognition. In: F. Simion e G. Butterworth (a cura di) *The development of sensory, motor and cognitive capacities in early infancy: from perception to cognition*. Psychology Press, Hove, UK, 1998.
- Eckerman CO, Hsu HC, Molitor A, Leung EH, Goldstein RF. Infant arousal in an en-face exchange with a new partner: effects of prematurity and perinatal biological risk. *Dev Psychol*, 35(1): 282-93, 1999.
- Emde R.N., McCartney R.D. Harmon R.J. Neonatal smiling in REM states, Part 4. Premature study. *Child Development*, 42, 1657-1661, 1971.
- Graves R., Goodglass H., Landis T. Mouth asymmetry during spontaneous speech. *Neuropsychologia*, 20(4): 371-81, 1982.
- Holowka S. and Petitto L.A. Left hemisphere cerebral specialization for babies while babbling. *Science*, 297, 1515, 2002.
- Oller D.K., Eilers R.E., Neal A.R., Cobow Lewis A.B. Late onset canonical babbling: a possible early marker of abnormal development. *Am J Ment Retard*, 103(3): 249-63, 1998.
- Sroufe A.L. *Lo sviluppo delle emozioni*. Raffaello Cortina Editore, Milano, 2000.
- Tiderman E. *Children born preterm: a 19-year perspective*. Lund University Press, Sweden, 2001.
- World Health Organization (WHO), WHO Information system, [www.who.int](http://www.who.int), 2002.



**STUDIO DEL RUOLO DEGLI AUSILI  
TECNOLOGICI NEL PROGETTO  
RIABILITATIVO DELLE  
PLURIMINORAZIONI DA LESIONI  
CEREBRALI ACQUISITE**

**Dr. Massimo Guerreschi**

e-mail: maxg@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**

Riabilitazione neuromotoria e Neuropsicologia funzionale

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale ed Obiettivi**

Numerose persone che subiscono lesioni cerebrali di livello medio-grave residuano disabilità plurime di tipo motorio, sensoriale, linguistico, neuropsicologico o comportamentale. Non è infrequente notare come queste patologie siano associate tra di loro, determinando quadri clinici complessi e difficili da valutare e gestire.

Gli ausili tecnologici ad alta o bassa tecnologia, possono facilitare il lavoro riabilitativo e migliorare le condizioni cliniche generali, sia per quanto riguarda gli aspetti di comunicazione interpersonale che quelli di interazione con l'ambiente di vita fisico e sociale.

Poter comunicare le proprie impressioni al terapeuta o al medico curante in genere facilita l'avvio di un progetto riabilitativo mirato al raggiungimento di obiettivi reali e condivisi, mentre ignorare le necessità del paziente significa ridurre il progetto riabilitativo ad un puro intervento tecnico, alla cura del sintomo oggettivamente rilevabile.

L'utilizzo di ausili tecnologici all'interno del progetto riabilitativo può costituire un mediatore rispetto a due diversi obiettivi:

- accelerare e ottimizzare alcuni interventi riabilitativi
- amplificare le possibilità di comunicazione alternative ad una espressione verbale assente o gravemente compromessa.

La possibilità, poi, di usufruire di ambienti con regolazioni alternative (controllo domotico dell'ambiente di vita), facilita il recupero di un ruolo proattivo.

**Obiettivi**

Dati i risultati della Ricerca Corrente 2002, si prevede di impostare il seguente lavoro:

1. scelta di un gruppo campione di utenti collaboranti tra quelli ricoverati nel reparto di Neuroriabilitazione 3 dell'IRCCS E. Medea - Associazione La Nostra Famiglia, con livello di età cronologica uguale o superiore a 4 anni;
2. sperimentazione di ausili prototipali basati su prodotti informatici innovativi del mercato consumer:
  - a. tablet pc, con sistema operativo Microsoft Windows Xp Tablet Editino
  - b. palmare con sistema operativo Pocket Pc, con sintesi vocale e Speech Recognition.
3. allestimento funzionale di una sala prove dove alloggiare gli ausili a disposizione per le prove di impiego e training con i pazienti
4. produzione di schede per la valutazione funzionale degli ausili utilizzati
5. stesura di linee guida per l'utilizzo funzionale di ausili ad alta o bassa tecnologia utili per la riabilitazione e lo svolgimento del progetto riabilitativo in corso.

La ricerca costituisce un approfondimento di quella svolta nel 2002 ed utilizza la medesima metodologia di lavoro e strumenti di rilevazione, a cui si aggiunge il protocollo di rilevazione delle potenzialità di comunicazione prodotto come risultato dell'attività di ricerca effettuata (proCOM).

**PROTOCOLLI DI VALUTAZIONE E TRATTAMENTO RIABILITATIVO NELLE PATOLOGIE REUMATICHE CRONICHE DEL BAMBINO**

**Dr. Enrico Trevisi**

e-mail: irccs@cn.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**

Riabilitazione neuromotoria e Neuropsicologia funzionale

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Conegliano

**Razionale ed Obiettivi RAZIONALE**

Le malattie reumatiche croniche del bambino rappresentano un gruppo di patologie infiammatorie dell'apparato osteoarticolare o muscolare ad eziologia ignota. La più frequente tra queste è l'Artrite Cronica Giovanile (ACG).

L'ACG è caratterizzata da un processo infiammatorio cronico delle articolazioni che determina dolore, limitazione funzionale e sintomi sistemici quali febbre, astenia, anoressia e coinvolgimento, talvolta, di organi interni. L'artrite, se non adeguatamente trattata, determina anchilosi articolari permanenti che portano inesorabilmente verso l'invalidità completa. L'intervento riabilitativo rappresenta, assieme alla terapia farmacologica, uno dei due capisaldi del trattamento di questi pazienti. Esso consiste nell'arrestare i danni prodotti dall'insulto della malattia (atrofia muscolare, rigidità, contratture etc.) e nel prevenire le deformità che si sviluppano nel corso della stessa.

Presso la Clinica Pediatrica dell'Università di Padova opera da anni un Centro di Reumatologia Pediatrica dove vengono seguiti circa 700 bambini con varie malattie reumatiche croniche. Circa 300 sono i casi di ACG che provengono per lo più dalle regioni del nord-est con una incidenza di circa 40-50 nuovi casi per anno.

Il trattamento riabilitativo per questi pazienti nel nostro paese è ancora agli albori ma anche a livello europeo pochi sono i centri di sicura e provata esperienza in cui tale trattamento viene condotto con sistematicità ed efficacia.

In particolare manca nell'approccio al bambino con patologia reumatica quell'approccio olistico ormai considerato la premessa fondamentale per un progetto riabilitativo di lunga durata in patologie croniche invalidanti dell'età evolutiva.

Nel corso del biennio 2001-2002 sono stati visitati 44 pazienti dei quali 31 sono stati successivamente ricoverati (in totale i ricoveri sono stati 69 in quanto in

molti casi si è effettuato più di un ricovero). I pazienti sono stati valutati sia negli aspetti più tipicamente motori che negli aspetti cognitivi e psicologici, e sottoposti a riabilitazione intensiva per brevi periodi (15-21 gg).

**ASPETTI MOTORI**

**Obiettivi**

Verifica dell'efficacia del trattamento riabilitativo attraverso la somministrazione ad inizio e fine dello stesso di una batteria di valutazioni cliniche (esame articolare secondo la scala di valutazione GROMS, esame muscolare con il MMT, scala del dolore VAS, scala dell'attività di malattia VAS, scala delle capacità funzionali CHAQ, scala delle funzioni motorie GMFM, scala dell'indipendenza WEEFIM). Verifica dell'effetto del trattamento a distanza di 6 mesi e di 1 anno attraverso la nuova somministrazione delle valutazioni cliniche.

Confronto della casistica con un gruppo di controllo di pazienti non trattati.

Confronto all'interno della casistica degli effetti del trattamento applicando diverse metodologie riabilitative e nelle diverse fasi della patologia.

**ASPETTI PSICOLOGICI**

**Obiettivi**

Valutazione di eventuali aspetti di ansia e depressione legati alla patologia. Ottenere dati quantificabili e misurabili che ci permettano di rispondere ai quesiti se:

- la malattia si accompagni o meno ad aspetti di sofferenza psicologica e a modificazioni nell'ambito familiare e sociale;
- se vi sia una correlazione fra malattia e psicopatologia ansiosa e depressiva.
- valutare se tali aspetti si differenzino in modo significativo fra soggetti in età pre-adolescenziale e adolescenziale.
- rivalutare se vi siano differenze significative a 6 mesi dalla prima valutazione rispetto a quanto emerso ai punti sudetti (retest).

Per ottenere ciò sono state utilizzate interviste semistrutturate, questionario CBCL e questionari di valutazione su ansia e depressione.

**LESIONI CEREBELLARI E TURBE  
COGNITIVO-COMPORTAMENTALI:  
STUDIO NEI TUMORI DELLA FOSSA  
CRANICA POSTERIORE IN ETÀ  
EVOLUTIVA**

**Dr.ssa Poggi Geraldina**  
e-mail: gpoggi@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**

Riabilitazione neuromotoria e Neuro-  
psicologia funzionale

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

I tumori della fossa cranica posteriore rappresentano i più comuni tumori cerebrali maligni dell'età evolutiva, con incidenza seconda solo alla leucemia. Le percentuali di sopravvivenza di questi pazienti sono aumentate progressivamente negli ultimi 20 anni e, grazie ai nuovi protocolli oncologici, anche l'outcome dei pazienti è in costante miglioramento. Nonostante questi miglioramenti, sono ancora frequenti esiti a breve e a lungo termine che contribuiscono a rendere difficile la ripresa delle attività scolastiche, lavorative e la vita relazionale. In particolare, come molti studi dimostrano, lo sviluppo di problemi cognitivi e comportamentali contribuisce in modo significativo nella determinazione di un outcome sfavorevole.

I pazienti che hanno subito interventi per tumori della fossa cranica posteriore presentano frequentemente problemi neuropsicologici caratterizzati da diminuzione del livello intellettuale complessivo, presenza di turbe di tipo mnestico, linguistico, attentivo, delle funzioni esecutive e visuo-motorie con conseguenti difficoltà di apprendimento. I principali fattori di rischio sono rappresentati dal tipo di trattamenti subiti, in particolar modo dalla radioterapia, dall'età più giovane ai trattamenti e dal tempo intercorso dalla diagnosi alla valutazione. Questi problemi sono spesso associati a problemi di tipo emotivo-psicologico principalmente caratterizzati da isolamento, chiusura relazionale, ansia e depressione che nell'insieme determinano difficoltà di adattamento e di tipo relazionale.

**Obiettivi**

I risultati ottenuti con i progetti di ricerca degli anni 2001 e 2002 hanno permesso di identificare i principali disturbi neuropsicologici e comportamentali dei pazienti in età evolutiva con esiti di tumore cerebrale della fossa cranica posteriore e di studiarne le correlazioni con l'età alla diagnosi, la sede del tumore ed i protocolli di terapia effettuati. Con la prosecuzione del progetto di ricerca ci si propone di aumentare il numero dei pazienti valutati e il numero dei controlli per meglio definire l'outcome e le correlazioni con i tipi di trattamenti oncologici effettuati. Nella ricerca 2002 abbiamo inoltre proceduto ad un confronto tra pazienti post-tumorali e pazienti post-traumatici per differenziare i quadri neuropsicologici e comportamentali. I risultati hanno indicato che i deficit che ne conseguono presentano caratteristiche diverse nei due gruppi studiati e che, di conseguenza anche l'approccio riabilitativo deve essere diversificato nei due gruppi. Con la ricerca 2003 ci si propone anche di mettere a punto diversi protocolli di trattamento sia neuropsicologico che psicologico nei due gruppi e di studiarne l'applicazione in un campione di circa 15 pazienti.

**COMPLICANZE RESPIRATORIE NELLE  
FORME GRAVI DI PARALISI CEREBRALE  
INFANTILE (PCI):  
DETERMINAZIONE DELLA FREQUENZA E  
DEFINIZIONE DI PROTOCOLLI  
VALUTATIVI E DI TRATTAMENTO**

**Dr. Andrea Martinuzzi**

e-mail: andrea.martinuzzi@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**

Riabilitazione neuromotoria e Neuropsicologia funzionale

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo scientifico:** Conegliano

Il termine paralisi cerebrali infantile (PCI) viene applicato ad un gruppo eterogeneo di condizioni caratterizzate da danno cerebrale ad insorgenza perinatale, non progressivo, risultante in una alterazione del movimento e della postura (Ingram 1984). La classificazione delle PCI si basa su criteri fenomenologici, non essendo spesso possibile, ricostruire con certezza eziologia e patogenesi (Badawi 1998).

La paralisi cerebrale infantile (PCI) resta, a dispetto delle progredite capacità di diagnostica e di management perinatale, la principale fonte di disabilità grave dell'età evolutiva. Sebbene per definizione considerata forma morbosa "statica", gli elementi clinici che la caratterizzano sono soggetti ad una spiccata evolutività, in parte condizionata allo sviluppo stesso del bambino affetto.

Le PCI rappresentano la patologia neurologica invalidante cronica più frequente in età pediatrica. Da un recente studio le PCI risultano costituire negli USA il capitolo di maggior impegno economico tra le 18 più diffuse condizioni perinatali: 2,426 milioni di \$ contro i 1848 milioni stimati ad esempio per la sindrome di Down (Waitzman 1995). Sono disponibili dati aggiornati di prevalenza da diverse aree geografiche (Botos 1999, Robertson 1998, Kavcic 1998, Pharoah 1998, Hagberg 1996, Davis 1997) che riportano una prevalenza costante di 2-3/1000 nati vivi. Più scarsi sono invece gli studi di follow up, in particolare mirati a quantificare e seguire nel tempo l'autonomia dei pazienti colpiti da PCI, e quindi a stimare in senso prospettico il costo sociale della patologia. (Strauss 1998, Johnson 1999).

Studi epidemiologici di coorte hanno evidenziato una speranza di vita nella norma nei soggetti con forme moderate o lievi di PCI, ma significativamente ridotta (50% a 20 anni) nei soggetti con forme gravi, in particolare dal punto di vista motorio (Hutton 1994, Maudsley 2000).

La riduzione di sopravvivenza è legata in gran parte, direttamente o indirettamente, allo sviluppo di complicanze respiratorie, (28%, Evans 1989-91), che sono anche una variabile fondamentale nel definire il rischio di morbidità in questa popolazione.

In uno studio recente su un'ampia popolazione di giovani e adulti (>15 anni) affetti da PCI, sono stati sottolineati alcuni elementi chiave per la prognosi *quoad vitam*: piuttosto che la localizzazione, il tipo o la severità della lesione iniziale, appare determinante la "disabilità funzionale" sviluppata, soprattutto se riguarda la perdita di funzioni base, come la mobilità e la capacità di alimentarsi. Questo è infatti l'elemento più importante nel predire il rischio di morte in questa fascia di età. (Strauss 1998).

Nel corso degli anni emergono, in particolare per le forme medio gravi e severe, problematiche via via più complesse, spesso solo secondariamente legate al danno iniziale, che però condizionano pesantemente la qualità e la quantità di vita di questi bambini e dei loro familiari, traducendosi in ultima analisi in una moltiplicazione dei costi umani, sanitari, e sociali connessi a questa patologia. Le complicanze respiratorie sono tra le variabili che maggiormente possono pesare nella prognosi di bambini affetti da forme gravi di PCI.

Non esistono dati recenti, in particolare per l'Italia, sulla frequenza delle sopra menzionate complicanze nella popolazione di soggetti affetti da PCI e manca di conseguenza una stima realistica del loro impatto sulla storia naturale della PCI.

Non esistono al momento protocolli valutativi ed operativi obiettivi, validi ed affidabili che si siano dimostrati efficienti ed efficaci nella identificazione precoce e nel follow-up di tali complicanze. Tale elemento sarebbe invece cruciale per indirizzare efficacemente il trattamento riabilitativo, su quegli aspetti che possono rappresentare un fattore prognostico critico.

Per le particolari caratteristiche di questi bambini con forme gravi di PCI e per la spesso scarsa o nulla collaborazione ottenibile nella esecuzione di tests funzionali, è particolarmente difficile (e in alcuni casi del tutto inadeguato) applicare protocolli valutativi standard.

Solo una valutazione prospettica della efficacia ed efficienza di protocolli valutativi specifici potrà giustificarne l'adozione, fornendo nel contempo elementi per una ottimale taratura (nelle modalità e nei tempi) degli interventi messi in opera al fine di prevenire o ridurre tali complicanze.

### **Obiettivi**

1. caratterizzazione epidemiologica mediante studio retrospettico delle complicanze respiratorie in una ampia popolazione di bambini con forma grave di PCI, in particolare l'obiettivo è portare la numerosità del campione studiato almeno a 50 soggetti;
2. messa a punto e validazione di protocolli valutativi ed operativi tesi alla identificazione precoce di tali complicanze ed al loro follow-up, con definizione dei tempi e dei modi ottimali per la loro applicazione;
3. sperimentazione prospettica dei protocolli di cui sopra in una popolazione di bambini con forma grave di PCI, determinandone applicabilità, efficacia ed efficienza. A questo fine nel corso delle precedenti fasi della ricerca sono già stati individuati i primi 14 soggetti da studiare e da seguire in follow up.
4. valutare al termine dello studio la eventuale capacità dei protocolli applicati di identificare situazioni a rischio e di modificare la storia naturale e di conseguenza i dati epidemiologici rilevati al punto 1)

**VARIABILITÀ FENOTIPICA INTER- E  
INTRA- FAMILIARE NELL'OSTEOGENESI  
IMPERFECTA: IDENTIFICAZIONE DI LOCI  
MODIFICATORI, CORRELAZIONE  
GENOTIPO-FENOTIPO E VALUTAZIONE  
DI POTENZIALI TARGET MOLECOLARI  
PER UN APPROCCIO FARMACOLOGICO  
ALLA TERAPIA**

**Dr. Paolo Fraschini**

e-mail: frasch@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**

Riabilitazione neuromotoria e  
Neuropsicologia funzionale

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Background del progetto**

L'osteogenesi imperfetta (O.I.) è una sindrome ereditaria caratterizzata da alterazioni qualitative e quantitative del collagene di tipo I, la più diffusa proteina strutturale dell'organismo, responsabile della resistenza dell'osso e di tutte le strutture di sostegno. Ne consegue una displasia del tessuto connettivo la cui espressione principale è una particolare fragilità ossea, che si rende evidente con fratture ricorrenti, tendenza a deformazioni della colonna vertebrale e delle ossa lunghe, ritardo di chiusura della fontanella cranica. Le mutazioni responsabili dell'O.I. possono colpire un gene localizzato sul cromosoma 17, che codifica le informazioni per la produzione delle catene  $\alpha 1$  del collagene I; in altri casi è interessato un gene sito sul cromosoma 7 e codificante le catene  $\alpha 2$  del collagene I. Vengono così prodotte catene  $\alpha 1$  o  $\alpha 2$  difettose o in quantità inferiore al normale; ne deriva un collagene meno resistente del normale e di conseguenza una aumentata fragilità ossea. L'elevata variabilità clinica della sindrome è dovuta principalmente al tipo di mutazione presente.

Si possono distinguere:

- mutazioni che provocano una ridotta sintesi del collagene I, caratteristiche dell'O.I. di tipo IA
- mutazioni strutturali che comportano alterazioni della struttura delle catene  $\alpha 1$  e  $\alpha 2$ , responsabili di tutti gli altri tipi di O.I.

In base alla classificazione radiografica di Hanscom (1992) l'O.I. è stata suddivisa in 6 tipi.

I criteri utilizzati sono l'aspetto della corticale diafisaria, il grado di assottigliamento delle ossa lunghe, la presenza di platispondilia e vertebre biconcave, il tempo di chiusura delle epifisi distale del femore e prossimale della tibia, la presenza di deformità nella parete costale, una struttura pelvica con aspetto a trifoglio e protrusione dell'acetabolo, la com-

parsa di alterazioni cistiche nell'epifisi e metafisi attorno all'articolazione del ginocchio, la proporzione tra l'ampiezza della metafisi del femore e quella della tibia (la metafisi è misurata nel punto più largo).

La correlazione tra modificazioni genetiche e quadro fenotipico dell'O.I. è complessa poiché l'evoluzione naturale della malattia per le caratteristiche specifiche della stessa è condizionato dalla casualità degli eventi traumatici che può comportare significative differenze morfologiche e funzionali anche tra soggetti con lo stesso patrimonio genetico.

Tale dato è particolarmente evidente nelle forme famigliari, relativamente alle deformità presenti a livello delle ossa lunghe, ma con rilevanti differenze anche a livello del rachide sia in relazione a modifiche della morfologia vertebrale sia per la presenza di gravi scoliosi solo in alcuni dei componenti del nucleo famigliare affetti.

La colonna risente comunque in minima misura degli eventi traumatici rispetto alle ossa lunghe, pertanto un'analisi delle modificazioni indotte dallo sviluppo staturale, da ormoni o da farmaci trova a questo livello un marker di maggiore significatività statistica.

L'utilizzo della M.O.C. (Mineralometria ossea computerizzata) è stato in questi anni focalizzato sui livelli lombari, in quanto nell'O.I. numerosi pazienti sono portatori di mezzi metallici di sintesi a livello delle ossa lunghe che non permettono una corretta esecuzione dell'esame a livello femorale.

Il trattamento con farmaci diretti a ridurre il catabolismo osseo si è dimostrato negli ultimi anni particolarmente efficace nel trattamento di soggetti con O.I. sia nella fascia adulta sia nella fascia pediatrica, come rilevato dall'esame M.O.C., tuttavia un certo numero di pazienti, indipendentemente dalla gravità del deficit genetico non ha ottenuto risultati significativi pur con tempi e dosaggi adeguati.

Da osservazioni cliniche personali eseguite negli ultimi mesi su radiografie di soggetti in età pediatrica in trattamento con bifosfonati si è evidenziato in un piccolo gruppo di pazienti un significativo miglioramento della morfologia dei corpi vertebrali con incremento dell'altezza degli stessi e riduzione dell'aspetto a lente biconcava.

### Obiettivi principali

1. Realizzazione di standard valutativi delle alterazioni macro e microscopiche dell'osso con metodologie comparate di mineralometria ossea e di analisi morfologica computerizzata nel bambino e nell'adulto.
2. Analisi genetica di marker della densità ossea.
3. Selezione dei trattamenti farmacologici specifici.

### Workpackages, protocolli, metodologie

Sono state pubblicate recentemente le linee guida del gruppo scientifico interdisciplinare italiano relative al trattamento dei soggetti con osteogenesi imperfetta; l'attuale proposta va a completare la complessa analisi genotipo-fenotipo alla luce delle recenti ricerche in ambito terapeutico. Sul piano genetico si propone di studiare questa variabilità fenotipica intra- e inter-famigliare attraverso l'analisi di particolari loci modificatori o di suscettibilità potenzialmente in grado di influenzare in varia misura il fenotipo indotto dalla presenza di una stessa mutazione nel gene direttamente coinvolto nella O.I. Tra i geni da considerarsi come candidati si possono annoverare i marcatori di densità ossea quali il recettore per la vitamina D, per il quale è già nota, sebbene con risultati controversi, l'associazione di alcune varianti alleliche con la predisposizione all'osteoporosi ed il recettore per gli estrogeni, anch'esso coinvolto nella patogenesi

dell'osteoporosi. Inoltre studi di genome-wide screening volti ad identificare altri loci associati o in grado di controllare la densità ossea indicano come possibili candidati il gene per la calmodulina 2 in posizione 2p21.3-p21.1, una serina-treonina chinasi in posizione 2p23-24, il gene POMC (pro-opiomelanocortina) in posizione 2p23.3 e COL4A1 e COL4A2 in posizione 13q34 codificanti rispettivamente per le subunità alfa-1 e alfa-2 del collagene di tipo IV.

La casistica di pazienti affetti da O.I. a disposizione in questa U.O. verrà quindi analizzata per la presenza di polimorfismi sia nella regione codificante di questi geni sia nella regione 5' non tradotta mediante vari approcci: analisi con ASO + reverse dot blot o analisi con DHPLC.

La valutazione nel siero e nelle urine dei cataboliti dei fibroblasti permette una genetica distinzione tra forme quantitative e forme qualitative nonché può essere un indice della risposta a specifici trattamenti.

L'analisi biochimica verrà utilizzata per discriminare con precisione i gruppi con deficit quantitativo da quelli con deficit qualitativo e verrà realizzata presso l'Università di Pavia.

Accanto allo studio M.O.C. verrà affiancato uno studio radiologico della morfologia vertebrale, lombare e dorsale medio (T5- T8), dove più frequenti appaiono le deformità specie sul piano sagittale.

I risultati ottenuti verranno confrontati con i dati corrispondenti ottenuti su una popolazione di controllo. Seguirà quindi un'accurata analisi statistica dei dati ottenuti per valutarne la significatività.

### Risultati attesi

Le indagini proposte permetterebbe di avere un preciso follow-up della storia naturale della malattia nonché di migliorare la significatività dei trials diagnostici e terapeutici con farmaci quali i bifosfonati, recentemente inseriti dal Ministero della Sanità come indicazione specifica in questa patologia rara.

### Trasferibilità

L'evidenziazione di marker specifici genetici per l'osso ha vaste applicazioni in ambito di trattamenti farmacologici per altre patologie ossee primarie o secondarie, nonché nella realizzazione di materiale osseo sintetico per impianti di chirurgia ortopedica.

**CORRELAZIONI TRA ABILITÀ  
SINTATTICHE ED ELABORAZIONE DI  
SEQUENZE VISIVE ED UDITIVE NEI  
DISTURBI SPECIFICI DEL LINGUAGGIO:  
UNO STUDIO ELETTROFISIOLOGICO**

**Dr.ssa Maria Luisa Lorusso**  
e-mail: mluisa@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 3**  
Psicopatologia dello sviluppo,  
del linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale**

Il progetto di ricerca costituisce il completamento e proseguimento della ricerca condotta nel 2002 presso l'IRCCS "Me-dea" sull'elaborazione di sequenze visive e uditive in bambini con disturbi specifici del linguaggio. Nel corso di tale studio, sono stati effettuati una serie di studi pilota, per definire i parametri del protocollo sperimentale, quali:

- a) per gli stimoli uditivi: il tipo di suono, la durata dello stimolo, l'intervallo tra gli stimoli, gli stimoli più riconoscibili, la consegna sperimentale;
- b) per gli stimoli visivi: la riconoscibilità delle immagini predisposte.

Sono stati inoltre raccolti dati preliminari che mostrano la presenza di risposte ERP particolari alla violazione di regole sequenziali implicite, in modalità uditiva e visiva, in soggetti adulti e in età evolutiva. I dati finora sembrano confermare gli studi riportati in letteratura, ai quali il progetto iniziale si era ispirato.

I processi alla base del riconoscimento delle strutture superficiali (aventi gli stessi elementi nello stesso ordine) e di quelle astratte (uguale successione ma di elementi diversi) sembrerebbero dissociabili e riconducibili a strutture neuroanatomiche distinte (rispettivamente, il sistema fronto-striatale e la corteccia anteriore sinistra) (Dominey et al., 1998). Inoltre, è stata dimostrata una dissociazione dei profili ERP (Lelekov et al., 2000; Hoen e Dominey, 2000).

Appare ipotizzabile che un meccanismo generale basato sull'estrazione e generalizzazione di regole sequenziali nell'input (linguistico e non) sia una componente fondamentale nei processi di acquisizione del linguaggio. I bambini con DSL (Disturbo Specifico del Linguaggio) potrebbero quindi avere difficoltà nell'elaborazione (percezione/astrazione) delle regole sequenziali astratte, che interferirebbero con la normale acquisizione delle competenze sintattiche.

Poiché i dati da noi attualmente raccolti su bambini con DSL non sono sufficienti per rilevare effetti attendibili nei potenziali evocati, si intende proseguire la ricerca, attraverso:

- La somministrazione del paradigma sperimentale ad altri 8 bambini con DSL (disturbo della comprensione) e 8 controlli, comparabili per età, QI, sesso. Età compresa fra 4 e 8 anni.
- serie di brevi sequenze con struttura astratta comune, uditive (suoni di animali) e visive (figure di animali in presentazione sequenziale)
- 2 velocità di presentazione degli stimoli (ISI di 250 e 500 msec.)
- Paradigma cosiddetto "odd-ball" (80% sequenze valide, 20% invalide)

La consegna è quella di guardare (o ascoltare) le sequenze e poi di rispondere a domande riguardanti la presenza di specifici elementi (che possono essere presenti o assenti nella serie proposta).

I dati raccolti verranno sottoposti ad un'ANOVA a cinque vie:

"finestra temporale" (Ref, EN, LP, SW) x "elettrodo" (Cz, Fz, Pz, P3, P4, F3, F4, F7, F8) x "intervallo tra gli stimoli" (250 versus 500 msec.) x "modalità di presentazione" (visiva, uditiva) x "gruppo" (sperimentale versus controllo).

Variabile dipendente: differenza in voltaggio tra sequenze valide e sequenze invalide. I voltaggi sono calcolati per ogni soggetto come media di 80 risposte per condizione (in due sedute).

È inoltre prevista l'analisi dei dati comportamentali (risposte corrette/errate).



**PROFILO PSICOFISIOLOGICO, ABILITÀ DI RICONOSCIMENTO EMOZIONALE E COMPORTAMENTO SOCIALE IN BAMBINI VITTIME DI MALTRATTAMENTO E IN BAMBINI CON ESPERIENZA DI IMMIGRAZIONE CLANDESTINA**

**Dr. Massagli Angelo**

e-mail: massagli@os.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 3**

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Ostuni

**Razionale ed obiettivi**

*Premessa*

La ricerca è una prosecuzione ed un approfondimento di 2 precedenti studi, condotti presso il nostro Istituto, sulle possibili conseguenze psicopatologiche e/o psicofisiologiche di esperienze emotive traumatiche che intervengano in soggetti in età evolutiva ("Assessment psicofisiologico e maltrattamento infantile", Ricerca Corrente del '97 e "La Puglia regione di frontiera: analisi antropologica, psicosociale e di medicina preventiva nel fenomeno dell'immigrazione clandestina e dei profughi", Ricerca Finalizzata del '99).

È cominciata nel 2002. Nel corso di quest'anno si è ampliato il campione dei bambini maltrattati (il cui numero è aumentato per l'inclusione di soggetti della Lombardia in aggiunta a quelli Pugliesi già programmati) e si è inserito un test di riconoscimento delle emozioni di recente pubblicazione che ha consentito di avere dei dati più approfonditi su questo aspetto.

**Razionale**

Da questo primo anno di lavoro si è visto come il fenomeno del maltrattamento mini in modo significativo l'apprendimento delle emozioni. I segnali emozionali che i bambini maltrattati ricevono, infatti, sono inappropriati, inconsistenti, poveri, stressanti, limitati o, al contrario, eccessivi. I bambini trascurati sono generalmente meno esposti ad opportunità di apprendimento emotivo, data la tendenza dei genitori ad isolare, fisicamente e socialmente, i loro figli; i maltrattati, di contro, seppur con modalità scorrette, ricevono dai genitori maggiori stimoli emotivi, caratterizzati però da forte ostilità ed astio.

I maltrattamenti e gli abusi sui minori sono situazioni non episodiche ed isolate, ma, purtroppo, protratte nel tempo in un clima familiare comunque negativo.

L'evento emigratorio, similmente, rappresenta di fatto l'epilogo di una serie di esperienze traumatiche, essenzialmente centrate sulla sofferenza familiare legata alla decisione di emigrare con tutto ciò che questo comporta (per non parlare delle situazioni dei profughi di guerra).

Sulla scorta di tali rilievi e dei risultati del lavoro fin qui fatto abbiamo ipotizzato che esperienze traumatiche reiterate possano determinare un processo di "adattamento", di verosimile valore difensivo, il quale si traduce, da un lato, in un incremento delle capacità di coping (adattive o disadattive) e, dall'altro, in una condizione di iporeattività sia di tipo fisiologico che di tipo emozionale. Il tutto nell'ambito di una generale alterazione dell'assetto emotivo-affettivo e comunque in modo differente a seconda del tipo di stress psicofisico subito.

**Obiettivi**

- Verificare la costanza dei dati registrati su un maggior numero di soggetti, con riferimento alle diverse tipologie di trauma psichico esaminate.
- Definire se è possibile che una situazione di stress psichico "cronico" possa determinare un abbassamento dell'arousal, piuttosto che un aumento così come invece previsto dal DSM IV (in particolare per quanto riguarda la risposta di allarme a mediazione neurovegetativa) nei soggetti con Sindrome Post traumatica da Stress.
- Descrivere l'assetto affettivo-relazionale di questi bambini evidenziandone le peculiarità (legate al tipo di esperienza negativa subita) in termini di diagnosi, ma anche di prognosi e di possibili interventi terapeutici

**Metodologia**

Per il 2003 prenderemo in considerazione il campione dei bambini immigrati e completeremo il protocollo valutativo con l'indagine psicofisiologica su tutti i soggetti.

In particolare:

si completerà lo studio sui tre campioni di soggetti selezionati in base a tre criteri:

- età compresa tra i 4 e i 12 anni;
- Q.I. > 80;
- assenza di patologie neurologiche.

I campioni sono così composti

- campione 1: 36 bambini vittime di violenza (di cui 23 trascurati, 11 maltrattati psicologicamente e 2 abusati sessualmente; provenienti 16 dal nord e 20 dal sud): già testati con parte del protocollo (manca la parte psicofisiologica)
- campione 2: soggetti reduci da una recente esperienza di immigrazione, presenti nei Centri di Accoglienza dislocati in Puglia, e nella Provincia di Lecce in particolare (da individuare e da sottoporre al protocollo completo). In questo si avrà l'assistenza logistica della Regione Puglia.
- campione 3: gruppo di controllo (36 bambini con un'età media di 8 anni e 7 mesi e un Q.I. di 103 comparabili per età, sesso, scolarità, ai soggetti del gruppo sperimentale, ma residenti nelle famiglie di origine, senza storia di maltrattamento né di immigrazione): da completare con la parte psicofisiologica.

Protocollo previsto (in parte già somministrato ai campioni 1 e 3):

- Questionario informativo
- Scala d'intelligenza Stanford-Binet
- CBCL: Child Behavior Checklist/4-18
- AFFECT: Animated Full Facial Expression Comprehension Test (test di identificazione su materiale fotografico standardizzato per valutazione delle abilità di riconoscimento emozionale)
- Assessment Psicofisiologico Emozionale: rilevazione della frequenza cardiaca, del tono muscolare e del valore di conduttanza cutanea, in condizioni basali e durante l'esposizione ad uno stimolo.

- Misurazione del tono vagale (calcolando il rapporto tra una data impostata frequenza respiratoria e le modificazioni della frequenza cardiaca)

Valutazione del Comportamento Sociale, mediante il sistema Observer Video-Pro di Noldus (analisi quantitativa computerizzata su materiale videoregistrato dei comportamenti pro-sociali)

Questionari per la valutazione delle strategie di coping

#### **Ricadute finali:**

- Tracciare linee di intervento terapeutico nei bambini con Sindrome Post Traumatica da Stress
- Dare indicazioni per l'accoglienza dei soggetti immigrati clandestinamente in Italia (con particolare attenzione ai minori), in particolare per quanto riguarda la componente psichica.

Gettare le basi per l'individuazione di percorsi formativi per personale esperto in problematiche socio-sanitarie.

## LA RIABILITAZIONE NEUROCOGNITIVA DI BAMBINI CON DISTURBO DA DEFICIT DI ATTENZIONE/IPERATTIVITÀ

**Dr. Marco Marzocchi**

e-mail: marzoc@sissa.it

### Linea di Ricerca n. 3

Psicopatologia dello sviluppo,  
del linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

### Razionale

Il Disturbo da Deficit di Attenzione-/Iperattività (DDAI) rappresenta una delle condizioni psicopatologiche che viene sempre più frequentemente diagnosticata tra i clinici che si occupano di problematiche infantili. Sebbene il DDAI sia un disturbo che può diventare cronico, numerose ricerche hanno dimostrato che i trattamenti psicologici possono migliorare la qualità della vita di questi pazienti. Nella letteratura internazionale non sono presenti autorevoli sperimentazioni di trattamenti neurocognitivi per soggetti con diagnosi di DDAI e deficit neuropsicologici. Da tali premesse risulta importante sviluppare e sperimentare un progetto per verificare l'efficacia di un intervento riabilitativo di carattere neurocognitivo. Successive analisi su singoli pazienti possono essere condotte tenendo conto delle caratteristiche genetiche dei pazienti e dei genitori, individuate attraverso i nostri precedenti studi.

### Metodologia

Il progetto di ricerca sulla riabilitazione neurocognitiva delle Funzioni Esecutive coinvolgerà complessivamente 20 pazienti di età compresa tra i 7 e gli 11 anni con diagnosi di DDAI. 10 pazienti usufruiranno del training e altri 10 faranno parte del gruppo di controllo, come lista d'attesa. I pazienti selezionati, oltre alla diagnosi di DDAI, non dovranno presentare problematiche di tipo emotivo (ansia o depressione), ma dovranno presentare deficit neuropsicologici in base ai test relativi alla valutazione delle Funzioni Esecutive. In specifico, soggetti con DDAI, che verranno sottoposti al training, non dovranno presentare punteggi elevati alle sub-scale dei sintomi interiorizzati della Child Behavior Checklist (CBCL), inoltre non dovranno riportare sintomi di ansia o depressione in base ai dati raccolti con l'intervista diagnostica DICA. Inoltre i pazienti con DDAI, per essere inclusi nella presente ricerca dovranno avere prestazioni deficitarie a tre test neuropsicologici sperimentali (per le Funzioni Esecutive): Change Task, Test

di Pianificazione Quotidiana, Activation/Inhibition Task. Il training proposto sarà una versione rivista di quello sperimentato nel 2002, che include una serie di esercizi per la rieducazione delle Funzioni Esecutive. Il programma consiste di 26 sedute di circa 45 minuti ciascuna (2 volte alla settimana), il cui scopo principale riguarda il miglioramento di delle seguenti abilità cognitive: processi inibitori, memoria di lavoro, sequenza esecutiva e uso di strategie. Inoltre è prevista una sezione per la generalizzazione di quanto appreso con gli esercizi per l'esecuzione di attività quotidiane.

I soggetti del gruppo di controllo verranno appaiati al gruppo sperimentale per età, sesso, livello intellettuale, condizione socio-economica familiare gravità dei sintomi. Come il gruppo sperimentale, anche quello di controllo verrà valutato prima e dopo il training per verificare se, gli eventuali miglioramenti del gruppo sperimentale, siano da imputare o meno all'applicazione del training o all'evoluzione spontanea.

Per misurare l'efficacia della generalizzazione del trattamento riabilitativo al contesto quotidiano verranno considerate diverse misure cognitive e comportamentali, tra cui i questionari sui sintomi del DDAI (SCOD e Conners), il "Questionario di Autoefficacia Scolastica" e il "Questionario di Attribuzione".

### Risultati attesi

Con la presente ricerca ci si attende che i soggetti DDAI con deficit neuropsicologico e sottoposti al training riabilitativo possano acquisire un miglior funzionamento dei processi cognitivi definiti con il termine "Funzioni Esecutive". La ricerca prevede due cicli di trattamento di circa 4 mesi rivolti a due gruppi di 6 pazienti alla volta, sebbene la somministrazione del training sarà individualizzata. Il primo gruppo di pazienti verrà anche testato dopo 4 mesi (follow-up) per verificare il grado di mantenimento dei risultati ottenuti e l'eventuale trasferimento degli eventuali benefici ad altri contesti comportamentali.

**IMPULSIVITÀ COME TRATTO PSICO  
BIOLOGICO TRANS-DIAGNOSTICO:  
STUDIO DEI DETERMINANTI GENETICI  
SEROTONINERGICI**

**Dr.ssa Nobile Maria**  
e-mail: mnobile@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 3**  
Psicopatologia dello sviluppo,  
del linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo scientifico:** Bosisio Parini

**Premessa**

L'impulsività è stata descritta come tratto psicopatologico associato in misura più o meno grave a diversi disturbi psichiatrici sia in età adulta (Depressione con condotte suicidarie, Disturbo Borderline di Personalità, Abuso di sostanze, etc.) sia in età evolutiva (Autismo con condotte auto-eteroaggressive, ADHD, condotte suicidarie in corso di depressione soprattutto fra gli adolescenti, disturbo oppositivo provocatorio etc).

L'impulsività può essere definita come una predisposizione verso una reazione rapida e non pianificata a stimoli esterni od interni senza alcuna considerazione delle possibili conseguenze negative per se stessi o per altri (Moeller et al 2001).

La manifestazione comportamentale dell'impulsività avviene sotto forme diverse negli individui sani o affetti da patologie psichiatriche (es nella depressione sotto forma di condotte suicidarie, nell'ADHD sotto forma di scelte impulsive, nell'Autismo sotto forma di agiti auto od eteroaggressivi) anche se la disfunzione neuropsicologica e/o neurobiologica sottostante appare essere condivisa da tutti questi soggetti (Swann et al 2002).

In accordo a diversi studi, sia all'impulsività che all'aggressività nelle varie categorie diagnostiche sembra, infatti, essere sottesa una comune origine psicobiologica: una disfunzione del sistema serotoninergico (Lesch et al 2000). Questo è un sistema ad alto controllo genetico: ricordiamo il gene regolatore del trasportatore della serotonina, la triptofano Idrossilasi e la Mono amino ossidasi ed i geni codificanti per i recettori serotoninergici: 5HT1A, 5HT2.

**Obiettivo**

Obiettivo di questo studio è la valutazione della quota di impulsività presente nel corso di diversi disturbi dell'età evolutiva (Depressione, ADHD, Autismo) da un punto di vista comportamentale e neuropsicologico e la sua correlazione con disfunzioni del sistema serotoninergico

**Materiali e metodi**

Verranno reclutati pz di età compresa tra i 6 e i 18 anni afferenti alla NR2 dell'IRCCS E Medea affetti da Depressione /Distimia, ADHD, diagnosticati attraverso interviste diagnostiche strutturate (K-SADS) (+ i pz già presenti in archivio di cui sono disponibili i dati)

Verranno quindi somministrate le seguenti scale comportamentali:

- CBCL (genitori, insegnanti YSR),
- Conners (genitori, insegnanti, YSR),
- CDI, HAM-D,
- Barrat Impulsive Scale versione per adolescenti

Verranno somministrati i seguenti test neuropsicologici:

- Matching Familiar Figure Test (MF 20) versione abbreviata adattata da Cornoldi
- Continuous Performance Test test di vigilanza e di inibizione motoria
- Stroop (controllo delle interferenze verbali)
- Test Walk -don't Walk della batteria Tea-Ch di Robertson (test di inibizione motoria)
- Test di fluenza fonemica e semantica.

**Metodiche di laboratorio**

Tutti i pz (e quando possibile i genitori) verranno tipizzati per i seguenti marcatori genetici: gene per la Triptofano idrossilasi (TPH); gene per la Monoamino Ossidasi-A (MAO-A); gene per il Promoter del trasportatore della serotonina (5HTTLPR)

**Bibliografia essenziale**

- Moeller F, Barratt ES, Dougherty DM, Schmitz JM, Swann AC: Psychiatric Aspects of Impulsivity. Am J Psychiatry 2001; 158: 1783-1793
- Swann AC, Bjork JM, Moeller FG, Dougherty DM: Two Models of Impulsivity: Relationship to Personality Traits and Psychopathology. Biol Psychiatry 2002; 51: 988-994.
- Lesch KP, Merschdorf U: Impulsivity, Aggression and Serotonin: a molecular psychobiological perspective. Behav Sci Law 2000

## **DISTURBI DEL LINGUAGGIO NELLE AGENESIE DEL CORPO CALLOSO**

**Prof. Fabbro Franco**  
e-mail: [fabbro@sv.lnf.it](mailto:fabbro@sv.lnf.it)

### **Linea di Ricerca n. 3**

Psicopatologia dello sviluppo,  
del linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:**

San Vito al Tagliamento

### **Razionale**

Studi neuropsicologici in bambini con disfasia evolutiva (cfr. Fabbro et al. 2002) o con dislessia evolutiva (cfr. Fabbro et al. 2001) hanno evidenziato deficit neurofunzionali a livello della trasmissione callosale. Questi studi suggeriscono che l'integrità del corpo calloso potrebbe avere un ruolo fondamentale nel normale sviluppo delle funzioni linguistiche.

Un paradigma clinico per studiare il ruolo delle funzioni del corpo calloso sullo sviluppo del linguaggio è costituito dallo studio di pazienti con agnesie del corpo calloso che presentano un livello intellettivo normale. Gli studi presenti in letteratura riguardanti lo sviluppo del linguaggio in soggetti con agnesie del corpo calloso sono molto scarsi. Dennis (1981) ha studiato un paziente (D.S.) che presentava deficit della comprensione sintattica e deficit pragmatici. Jeeves e Temple (1987) hanno studiato due pazienti che presentavano deficit nel recupero lessicale (K.C., B.F) e deficit nella comprensione sintattica e pragmatica (B.F.). Temple et al. (1989, 1990) hanno studiato due bambini con agnesie del corpo calloso che presentavano deficit della lettura di non-parole, mentre Nass (1996) in un paziente con agenesia del corpo calloso ha riscontrato la presenza di una grave balbuzie.

Questi pochi studi suggeriscono che il corpo calloso potrebbe intervenire nello sviluppo del linguaggio e che lesioni o malformazioni precoci del corpo calloso potrebbero giocare un ruolo significativo nella patogenesi delle disfasie evolutive.

### **Materiali e metodi**

Da un campione di 60 pazienti con agnesie del corpo calloso identificati in uno studio precedente ("Agenesia del corpo calloso isolata o associata ad altre informazioni" Ricerca Finalizzata 1997, Responsabile dr. Renato Borgatti) sono stati selezionati otto soggetti con le seguenti caratteristiche: a) agenesia del corpo calloso completa (5 casi) o parziale dello splenio (3 casi); b) età superiore a sette anni; c) Quoziente Intellettivo non verbale superiore a 95; d) malformazioni non associate ad altri quadri sindromici.

I soggetti così identificati verranno sottoposti a una sistematica valutazione delle funzioni linguistiche: 1) esame del linguaggio (Fabbro 1999); 2) sviluppo morfosintattico (Fabbro e Galli 2001); 3) prove di lettura e scrittura MT (Cornoldi e Colpo); 4) valutazione delle abilità di lettura di parole presentate tachistosopicamente (Masutto e Fabbro 1996); 5) test di trasferimento callosale (cfr. Fabbro et al. 2001, 2002).

### **Risultati attesi**

Con questa ricerca si intende verificare se l'agenesia del corpo calloso si associa o meno a deficit dello sviluppo del linguaggio. In presenza di deficit del linguaggio si cercherà di evidenziare se questi interessano maggiormente alcuni livelli o compiti linguistici. In terzo luogo si cercherà di correlare gli eventuali deficit del linguaggio con i tipici quadri che si riscontrano nelle disfasie evolutive.

**Riferimenti bibliografici**

Dennis M. 1981. Language in a congenitally acallosal brain. *Brain and Language*, 12: 33-53.

Fabbro F. 1999. Neurolinguistica e Neuropsicologia dei disturbi specifici del linguaggio nel bambino. *Saggi di Neuropsicologia infantile, Psicopedagogia, Riabilitazione*, 24: 11-23.

Fabbro F., Galli R. 2000. Test di sviluppo morfosintattico. Milano: Ghedin:

Fabbro F., Lucilla L., Tavano A. 2002. A callosal transfer deficit in children with developmental language disorder. *Neuropsychologia*, 40: 1541-1546.

Fabbro F., Pesenti S., Facoetti A., Bonanomi M., Libera L., Lorusso M.L. 2001. Callosal transfer in different subtypes of developmental dyslexia. *Cortex*, 37: 65-73.

Jeeves M.A., Temple C.M. 1987. A further study of language function in callosal agenesis. *Brain and Language*, 32: 325-335.

Masutto C., Fabbro F. 1995. Flash Word. Programma computerizzato di riabilitazione neuropsicologica della dislessia evolutiva. Gorizia: Tecnoscuela.

Nass R.D. 1996. Developmental stutter in a patient with callosal agenesis disappears during steroid therapy. *Pediatr. Neurol.*, 15: 166-168.

Temple C.M., Jeeves M.A., Vilarroya O. 1989. Ten pen man: Rhyming skills in two children with callosal agenesis. *Brain and Language*, 37: 548-564.

Temple C.M., Jeeves M.A., Vilarroya O. 1990. Reading in callosal agenesis. *Brain and Language*, 39: 235-253.

**DIAGNOSI E RIABILITAZIONE  
DELL'ESPRESSIONE VERBALE NEI  
BAMBINI CON DISFASIA EVOLUTIVA**

**Dr. Tavano Alessandro**

e-mail: [alessandrotavano@libero.it](mailto:alessandrotavano@libero.it)

**Linea di Ricerca n. 3**

Psicopatologia dello sviluppo,  
del linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico**

San Vito al Tagliamento

**Razionale**

Nell'ambito delle disfasie evolutive (*Specific Language Impairments*, SLI), l'espressione verbale risulta spesso gravemente compromessa e raramente è possibile il raggiungimento di una funzionalità comunicativa completa. In particolare, i bambini con SLI possono manifestare un disturbo selettivo dell'espressione verbale (ICD-10: F80.1) o presentare deficit nella produzione associati a un disturbo della comprensione del linguaggio (ICD-10:F80.2). La natura dei disturbi specifici del linguaggio non è conosciuta. Alcuni studiosi sostengono un deficit di elaborazione temporale, che compromette l'identificazione e elaborazione degli stimoli acustici di breve durata presentati in rapida successione (Tallal 1976; Tallal et al. 1985a,b). Poiché l'acquisizione del linguaggio necessita di un'ottimale elaborazione di stimoli brevi rapidi, tale deficit risulterebbe in un apprendimento linguistico deficitario, in particolare a carico del sistema morfologico, percettivamente poco saliente (Bishop 1997, Cipriani, Chiosi e Bottari 1995).

Secondo gli standard internazionali, la diagnosi di tali disturbi richiede la somministrazione di test standardizzati insieme alla raccolta di un campione rappresentativo di eloquio spontaneo e di produzione narrativa (McWinney 1995). Presso l'IRCCS "E.Medeo" di Bosisio Parini, Fabbro (1999) e Fabbro e Galli (2001) hanno realizzato strumenti quantitativi per la valutazione clinica dei disturbi del linguaggio nei bambini, in conformità alle indicazioni dell'ICD-10. Per completare tali strumenti occorre definire dei valori standard per la valutazione dell'espressione verbale spontanea e narrativa. Risultati sperimentali indicano che l'eloquio spontaneo e la produzione narrativa manifestano al massimo grado le possibilità del sistema linguistico di un soggetto (Wagner et al., 2000).

La standardizzazione dei dati qualitativi dell'eloquio spontaneo e narrativo nei bambini costituisce dunque un settore di estremo interesse per la ricerca a livello internazionale (Berndt et al. 2000) e un'area di novità assoluta a livello nazionale.

L'obiettivo principale è quello di trasformare la raccolta dell'eloquio spontaneo e dell'eloquio narrativo in uno strumento semplice e affidabile per la diagnosi e valutazione dei disturbi specifici del linguaggio nei bambini in associazione alle batterie di test standardizzati.

Per quanto riguarda la riabilitazione logopedica, è noto che una recuperata funzionalità comunicativa ai test formali non corrisponde, soprattutto nel caso di soggetti in età evolutiva, a una piena funzionalità comunicativa (grammaticale e pragmatica) a livello di produzione spontanea e narrativa, capacità essenziali per una buona riuscita in ambito scolastico (Joffe et al. 1996). Di conseguenza, lo strumento che si intende predisporre può contribuire alla verifica dell'efficacia della riabilitazione logopedica nella globalità delle funzioni comunicative del soggetto in età evolutiva.

**Materiali e metodi****Soggetti**

150 bambini con DEL dai 6 agli 11 anni, selezionati sulla base di criteri clinici standard (ICD- 10th, cf. Fabbro 1999), di cui almeno 30 attualmente in trattamento logopedico.

150 soggetti controllo per età cronologica e  
200 soggetti controllo per età linguistica (Lunghezza media dell'enunciato) (Tallal et al., 1998).

**Metodi**

|                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| <b>Eloquio spontaneo e narrativo</b> | La storia del nido (Paradis 1987)   |
|                                      | Criteri di somministrazione e analisi (McWinney 1995, Rochon et al. 2000, Berndt et al. 2000) |

Tempo: 12 mesi

**Azioni**

2.1. (mesi 1-2) Selezione su base neuropsicologica e neurolinguistica (Fabbro, 1999) presso le sedi IRCCS "E. Medea" - La Nostra Famiglia del Polo del Friuli Venezia Giulia di 150 bambini con SLI (50 per sottotipo di patologia ICD-10), e, presso le scuole del territorio contattate per il progetto, di 200 bambini controllo per età (gruppo 1) e per abilità linguistiche (gruppo 2).

2.2 (mesi 3-4) Raccolta di un campione di produzione spontanea e di produzione narrativa per ciascun soggetto. Definizione del format e dei criteri d'analisi per l'italiano.

2.3 Analisi quantitativa dei parametri qualitativi acquisizionali (es. lunghezza media dell'enunciato) e neurolinguistici (analisi degli errori morfosintattici).

2.4 Estrazione dei parametri standardizzati (gruppo normali) e clinici (gruppo patologici). Invio per pubblicazione della risultati della standardizzazione su *Journal of Neurolinguistics* (interesse verificato con l'Editor in Chief) e dei parametri clinici su *Brain and Language*.

2.5 Follow-up di un sottogruppo dei soggetti patologici in trattamento logopedico a 3 e 6 mesi per valutare gli effetti della riabilitazione a livello dell'eloquio spontaneo e narrativo.

**Risultati attesi**

1. Trasformazione dell'analisi dell'eloquio in uno strumento pratico di indagine clinica.
2. Definizione di valori normativi per l'espressione verbale per la pratica clinica e riabilitativa
3. Miglioramento conseguente dell'approccio riabilitativo
4. Approfondimento della tipologia dei deficit linguistici (grado, tipo) dei disturbi specifici del linguaggio

**Riferimenti bibliografici**

◦ Berndt RS, Wayland S, Rochon E, Saffran E & Schwartz M. Quantitative Production Analysis: A training manual for the analysis of aphasic sentence production. Hove: Psychology Press, 2000.

-Bishop DVM. Uncommon understanding. Development and Disorders of Language Comprehension in Children. Hove: Psychology Press, 1997.

-Cipriani P, Chilosi AM & Bottari P. Language Acquisition and Language Recovery in Developmental Dysphasia. In KE Nelson & Z Réger (Eds). Children's Language (vol. 8), 245-73. Hillsdale: Lawrence Earlbaum Associates, 1995.

-Fabbro F. Neurolinguistica e Neuropsicologia dei disturbi evolutivi del linguaggio nel bambino.

-Saggi di Neuropsicologia infantile, Psicopedagogia, Riabilitazione; **24**: 11-23, 1999.

-Fabbro F & Galli R. Test di Sviluppo Morfosintattico. Milano: Ghedini, 2001.

-Joffe BS, Doyle J & Penn C. The persisting communicative difficulties of 'remediated' language-impaired children. European Journal of Disorders of Communication; **31**: 369-86, 1996.

-McWhinney B. The CHILDES Project: tools for analyzing talk. Hillsdale: Lawrence Earlbaum, 1995.

-Paradis M. The Bilingual Aphasia Test. Hillsdale: Lawrence Erlbaum Associates, 1987.

-Rochon E, Saffran EM, Berndt RS & Schwartz MF. Quantitative analysis of aphasic sentence production: further development and new data. Brain and Language; **72**: 193-218, 2000.

-Tallal P. Rapid auditory processing in normal and disorders language development. Journal of Speech and Hearing Disorders; **19**: 561-71, 1979.

-Tallal P, Stark R & Mellits D. Identification of language impaired children on the basis of rapid perception and production skills. Brain and Language; **25**: 314-22, 1985a.

-Tallal P, Merzenich M, Miller S & Jenkins W. Language learning impairment: Integrating research and remediation. Scandinavian Journal of Psychology; **39**: 197-9, 1998.

-Wagner CR, Nettelbladt U, Sahlén B & Nilholm C. Conversational versus narrative in pre-school children with language impairment. International Journal of Language and Communication Disorders; **35**: 83-93, 2000.



**IL RUOLO DELLE ANOMALIE  
PAROSSISTICHE EEG IN SONNO NON  
REM NELLA RIABILITAZIONE DELLE  
AFASIE E DELLE DISFASIE**

**Dr. Guido Cristofori**

e-mail: irccs@sv.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 4**

Neurofisiopatologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo scientifico:**

San Vito al Tagliamento

**Razionale**

Nell'ambito dei disturbi del linguaggio del bambino un quadro clinico molto noto è quello della afasia-epilessia, detta sindrome di Landau-Kleffner. Si tratta di una afasia acquisita in bambini affetti da epilessia che presentano delle anomalie parossistiche (PA) nel sonno non REM (NREM) (cfr. Landau, Kleffner 1957; Mantovani, Landati 1980). Un quadro simile che compromette numerose funzioni neuropsicologiche e affettive è la sindrome CSWS (*continuous spikes during sleep with slow waves*) (Fabbro, Zucca 2000).

Più recentemente è stato riscontrato che nelle forme più gravi di disfasia evolutiva [disturbi della comprensione (F80.2) e della espressione (F80.1) del linguaggio] si associavano in più del 50% dei casi ad anomalie parossistiche nel sonno NREM (Echenne et al. 1992; Picard et al. 1988; Fabbro et al. 2000). Queste anomalie parossistiche erano presenti in bambini con disfasia evolutiva che tuttavia non avevano una epilessia clinicamente manifesta. Studi preliminari indicano che l'utilizzazione di un farmaco antiepilettico che riduca i parossismi durante il sonno (valproato di sodio) migliora significativamente i risultati del trattamento logopedico in questi bambini. Si ritiene che detto farmaco, riducendo le anomalie parossistiche durante il sonno a onde lente migliori i processi della memoria che sono coinvolti nel recupero del linguaggio (Gordon et al. 1996; Picard et al. 1998).

**Materiali e metodi**

**a.** Verranno identificati 15 bambini che presentano una disfasia evolutiva con disturbo specifico della comprensione (F80.2) o con disturbo specifico della espressione verbale (F80.1) e che presentano delle anomalie epilettiformi per almeno il 10% del sonno NREM documentato mediante un EEG in sonno da siesta pomeridiana.

**b.** Questi bambini verranno sottoposti ad associato trattamento logopedico e farmacologico. Il farmaco utilizzato sarà il valproato di sodio (Depakin) in un dosaggio unico serale di 15 mgr pro Kg. Prima della somministrazione del farmaco dovranno essere valutati alcuni indici ematochimici per escludere controindicazioni di tipo interventistico. I genitori dovranno inoltre firmare un consenso informato.

**c.** Ad un mese dall'inizio della terapia verranno controllati di nuovo i valori ematochimici, il dosaggio del valproato di sodio e l'EEG in sonno NREM. Se il trattamento farmacologico avrà ridotto significativamente le anomalie epilettiformi si continuerà il trattamento farmacologico e logopedico per altri 5 mesi.

**d.** A sei mesi dall'inizio del trattamento associato: logopedia + valproato di sodio il bambino verrà sottoposto ad un controllo linguistico. Se i deficit linguistici dovrebbero essere significativamente migliorati il trattamento associato verrà continuato per altri 12 mesi.

**e.** Alla fine del trattamento (dopo 18 mesi) verrà effettuato un controllo finale delle abilità linguistiche e inoltre verrà sospeso il trattamento farmacologico.

**Risultati attesi**

**a.** Nei pazienti afasici con anomalie parossistiche durante il sonno NREM in cui sia stato introdotto il VPA si attende una riduzione delle anomalie parossistiche nel secondo EEG in sonno.

**b.** Nei pazienti trattati con VPA e logopedia si attende un significativo miglioramento di alcune componenti del linguaggio.

**c.** La ricaduta di questo studio incrementerà le conoscenze riguardanti il sonno e i fenomeni di apprendimento collegati ai processi di riabilitazione. Al livello clinico questo studio permetterà di formulare delle indicazioni terapeutiche sulle anomalie PA e/o epilessia con allargamento dell'attuale utilizzo del VPA.

**Riferimenti bibliografici**

- Echenne B., Cheirtinal R., Rivier F., Negre C., Touchon J., Billiard M. 1992. Epileptic electroencephalographic abnormalities and developmental dysphasias: A study of 32 patients. *Brain & Development*, 14, 216-225.
- Fabbro F., Zucca C. 2000. Acquired neuropsychological disorders in children with epilepsy. Saggi. *Child Development and Disabilities*, 25: 23-29.
- Fabbro F., Zucca C., Molteni M., Borsatti R. 2000. EEG abnormalities during sleep in children with developmental language disorders. Saggi. *Child Development and Disabilities*, 25: 41-48.

**EPILESSIE SINTOMATICHE  
FARMACORESISTENTI:  
STUDIO DEL BISINCRONISMO  
SECONDARIO NEI TRACCIATI EEG  
INTERCRITICI**

**Dr. Zucca Claudio**

e-mail: [zucca@bp.lnf.it](mailto:zucca@bp.lnf.it)

**Linea di Ricerca n. 4**

Neurofisiopatologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale ed Obiettivi**

Il piano triennale di Ricerca Corrente 2001-2003 presentato dal Servizio si proponeva di sviluppare il tema della farmacoresistenza nelle epilessie sintomatiche, avendo come obiettivi: 1) Individuare pattern EEG predittivi di farmacoresistenza. 2) Verificare tramite l'analisi digitale dei tracciati incidenza e caratteristiche specifiche dei fenomeni di bisincronismo secondario (BSS) delle scariche parossistiche. 3) Analizzare le risposte cliniche e le modificazioni dei tracciati (sempre mediante analisi quantificata delle anomalie epilettiformi) a trattamenti farmacologici. 4) Correlare i dati neurofisiologici ricavati dalla popolazione dei pazienti farmacoresistenti (FR) con le specifiche eziologie e il tipo di risposta alle diverse categorie di farmaci antiepilettici utilizzati.

La ricerca delle caratteristiche clinico-elettroencefalografiche è stata effettuata su un totale di 533 pazienti con diagnosi di epilessia sintomatica o presumibilmente sintomatica seguiti nel nostro centro, distinti in base alla risposta al trattamento in FR 129 (24.2%) e non FR 404 (75.8%), questi ultimi a loro volta suddivisi in: controllo non completo (CNC) 110 (27.2%), crisi occasionali (CO) 68 (16.8%) e controllo completo (CC) 226 (56%).

I dati EEG raccolti (al momento per un totale di 348 tracciati) hanno permesso di evidenziare la maggior presenza di multifocalità e diffusione delle anomalie epilettiformi nei tracciati dei pazienti FR (22.2% e 34.5%) rispetto alle altre categorie (CC: 3.8% e 10.7%; CNC: 3.2% e 12.8%; CO: 21.4% e 14.1%), con la sola eccezione della percentuale elevata di MF nel gruppo delle crisi occasionali, dove peraltro il campione di tracciati è ridotto e più della metà di questi è privo di anomalie epilettiformi. Nel gruppo dei FR si è rilevata la più bassa percentuale di EEG privi di anomalie epilettiformi (8.2% rispetto a 57.9% dei CC, 56.5% dei CNC e 36% dei CO).

Inoltre, per quanto riguarda la categoria dei FR, sono stati acquisiti 43 tracciati digitali, nei quali si è potuto rilevare all'analisi visiva il fenomeno del BSS in 14/43 (32.5%); la percentuale non differisce sostanzialmente dal dato del 34% sopracitato.

Gli obiettivi del prossimo anno di ricerca sono la prosecuzione della raccolta di tracciati per l'analisi digitale del fenomeno del BSS e lo studio dell'azione dei farmaci sul BSS, con particolare riferimento ai farmaci di seconda generazione (Gabapentin, Lamotrigina, Topiramato, Levetiracetam), tenendo sempre presente la correlazione tra andamento clinico e modificazione del tracciato.

**STUDIO DELL'ECCITABILITÀ CORTICALE  
NEI DISTURBI DEL LINGUAGGIO IN ETÀ  
EVOLUTIVA**

**Dr. Paolo Profice**

e-mail: profice@os.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 4**

Neurofisiopatologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale ed obiettivi**

I disturbi del linguaggio in età evolutiva colpiscono circa il 7% dei bambini tra i 5 ed i 6 anni. L'entità del disturbo può variare da forme caratterizzate da lievi difficoltà fonologiche e articolatorie a forme più gravi che determinano dei deficit del sistema linguistico a più livelli. Sia le forme lievi che quelle più severe, possono essere causa di difficoltà nell'apprendimento della lettura e scrittura. Studi di genetica indicano che, almeno una parte dei disturbi evolutivi del linguaggio riconoscono una base genetica.

Poco conosciute tuttavia sono le basi fisiopatologiche del disturbo. Alcuni studi riportano una elevata incidenza di anomalie parossistiche elettroencefalografiche durante il sonno di bambini affetti da disturbi evolutivi del linguaggio, in particolare nei casi in cui il deficit linguistico coinvolge anche le abilità di comprensione.

La stimolazione magnetica transcranica (TMS) è una metodica non invasiva, non dolorosa e ben tollerata. Essa consente di esplorare i circuiti eccitatori ed inibitori delle aree motorie. Essa è stata utilizzata con successo nel dimostrare modificazioni dell'eccitabilità corticale in soggetti con diverse forme di epilessia (Reutens et al 1992, 1993; per una review vedi Ziemann U et al 1998) ed anche nel dimostrare modificazioni dell'eccitabilità della corteccia motoria durante compiti verbali (Tokimura et al 1996).

Sulla base di tali evidenze essa sembra essere uno strumento particolarmente idoneo per uno studio non invasivo dei circuiti eccitatori ed inibitori della corteccia motoria nei bambini con disturbo del linguaggio.

Lo studio prevede una fase di screening mirata ad una corretta definizione e classificazione del disturbo del linguaggio in un campione di 10-15 pazienti, ad essa farà seguito lo studio neurofisiologico con TMS ed una registrazione EEG in veglia e durante sonno pomeridiano.

I dati ottenuti dallo studio con TMS verranno paragonati a quelli ottenuti da una popolazione di controllo *age matched*, successivamente verranno correlati ai dati rilevati alla valutazione neuropsicologica ed alle eventuali anomalie EEG rilevate. Tale analisi ci consentirà di rilevare l'eventuale presenza di alterazioni dell'eccitabilità corticale nei pazienti con disturbo evolutivo del linguaggio, di comprendere se le alterazioni dell'eccitabilità della corteccia motoria correlano con le alterazioni elettroencefalografiche e/o con il profilo neuropsicologico e/o con le competenze linguistiche. Tali dati potrebbero consentire una miglior comprensione della patogenesi del disturbo specie in prospettiva di un approccio terapeutico farmacologico che per alcune forme di disturbo evolutivo dell'eloquio con anomalie EEG associate è ancora dibattuto.

Reutens DC, Berkovic SF.

Increased cortical excitability in generalised epilepsy demonstrated with transcranial magnetic stimulation.

Lancet. 1992 Feb 8;339(8789):362-3.

Reutens DC, Puce A, Berkovic SF.

Cortical hyperexcitability in progressive myoclonus epilepsy: a study with transcranial magnetic stimulation.

Neurology. 1993 Jan;43(1):186-92.

Ziemann U, Steinhoff BJ, Tergau F, Paulus W.

Transcranial magnetic stimulation: its current role in epilepsy research.

Epilepsy Res. 1998 Mar;30(1):11-30. Review.

Tokimura H, Tokimura Y, Oliviero A, Asakura T, Rothwell JC.

Speech-induced changes in corticospinal excitability.

Ann Neurol. 1996 Oct;40(4):628-34.

**IDENTIFICAZIONE E VALUTAZIONE DI POTENZIALI TARGET MOLECOLARI IN CELLULE STAMINALI MUSCOLARI PER UN NUOVO APPROCCIO TERAPEUTICO ALLA DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE**

**Dr.ssa Bassi Maria Teresa**  
e-mail: bassi@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**  
Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente  
**Periodo di svolgimento:** 2003  
**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale:**

Come descritto nella proposta originale di questa ricerca, le potenzialità terapeutiche di cellule con un'elevata capacità proliferativa e soprattutto dotate di notevole plasticità quali le cellule staminali, sono strettamente correlate alla possibilità di manipolazione e di controllo della loro funzionalità. Una buona caratterizzazione da un punto di vista molecolare di tali cellule costituisce un presupposto indispensabile per raggiungere tale scopo. In particolare il nostro interesse è rivolto verso le cellule staminali di origine muscolare per un loro potenziale utilizzo nella terapia delle distrofie muscolari. La definizione dei marcatori specifici per i vari stadi di proliferazione e/o migrazione e l'identificazione dei composti che possono indurre specificamente tali fenomeni, permette l'identificazione di eventuali elementi di controllo della loro attività in vitro che possono poi essere testati in vivo. La caratterizzazione molecolare di tali cellule può essere particolarmente informativa se condotta in parallelo su campioni prelevati da tessuto muscolare normale e da tessuto distrofico. La definizione del pattern di espressione genica specifico per l'una e l'altra popolazione tramite SAGE, rende possibile un confronto diretto delle due popolazioni in termini ad esempio di elementi regolatori attivi normalmente e inattivati o alterati in condizioni patologiche. A questo proposito, il nostro gruppo ha recentemente evidenziato la presenza di una popolazione di cellule staminali AC133, CD34 positiva nei prelievi bioptici muscolari di pazienti Duchenne che in vitro sembra essere ben capace di differenziare in tessuto muscolare.

Dopo il loro isolamento le cellule staminali muscolari sembrano essere svincolate dai fattori che in vivo ne regolano lo stato di quiescenza iniziando quindi a commissionarsi spontaneamente evidenziando le loro capacità miogeniche.

**Obiettivi**

In questo progetto vengono utilizzate cellule staminali muscolari raccolte tramite prelievo bioptico e isolate tramite metodica di MACsorting. La caratterizzazione molecolare di tali cellule tramite SAGE è in corso, come descritto nella relazione della ricerca stessa. In questo secondo anno di attività ci proponiamo di raggiungere i seguenti obiettivi:

- a) Completamento dell'analisi di SAGE con il sequenziamento dei cloni ottenuti e analisi bioinformatica delle sequenze prodotte.
- b) Isolamento dei cloni espressi in maniera differenziale nel tessuto normale rispetto a quello patologico
- c) Caratterizzazione di tali cloni per pattern di espressione nei vari tessuti e se necessario a vari stadi dei processi proliferativi e/o di migrazione.
- d) Ricerca di geni coinvolti in particolari pathway di signalling cellulare tra i geni differenzialmente espressi nell'ottica che questi potrebbero essere degli ottimi candidati nella regolazione dei processi proliferativi e di migrazione delle cellule stesse. Caratterizzazione dei prodotti proteici di tali geni (se non già noti) e test funzionali in vitro sulle nostre colture di cellule staminali muscolari, e valutazione di un loro possibile ruolo in un approccio farmacologico nella terapia delle distrofie muscolari.

**RUOLO DI BETA AMILOIDE E GLUTAMMATO NELLA PROLIFERAZIONE, DIFFERENZIAZIONE ED APOPTOSI DI CELLULE STAMINALI SOMATICHE IN PAZIENTI CON SINDROME DI DOWN**

**Prof. Ferrarese Carlo**

e-mail: carlo.ferrarese@unimib.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale**

La proteina  $\beta$  amiloide ( $A\beta$ ) sembra essere responsabile della neurodegenerazione nella Sindrome di Down (DS) e nella Malattia di Alzheimer (AD) (Selkoe 1994, Knowles 1998). La proteina precursore di  $\beta$  amiloide (APP) può seguire una via non amiloidogena, che porta alla formazione e secrezione del frammento solubile di APP (sAPP), per opera di  $\alpha$ -secretasi o APP-secretasi, che taglia all'interno di  $A\beta$ , oppure segue una via amiloidogena, catalizzata da  $\beta$  e  $\gamma$  secretasi, che porta alla formazione di  $A\beta$ . Le preseniline 1 e 2 (PS1 e PS2) sono richieste per la corretta proteolisi di APP e, se mutate, sono responsabili di gran parte delle forme di AD familiare (FAD). Inoltre PS1 è implicata nel processing di Notch, che è coinvolto in fasi cruciali durante il differenziamento cellulare, e regola l'attività della  $\gamma$ -secretasi sia in modelli cellulari (De Strooper 1999) sia in pazienti FAD (Saftig 1999). Sembra infatti che PS1 possa essere la proteasi necessaria per l'attivazione sia di Notch che di APP o un cofattore necessario per l'attività di due distinte proteasi, tra loro molto simili (Ray 1999; Berezouka 2000; Martys-Zage 2000).

Nel 2000 Herreman ha descritto inattivazione totale della  $\gamma$ -secretasi in cellule staminali embrionali con deficit di PS1 ed è stata descritta una proliferazione di cellule staminali neuronali indotta dalla regione N-terminale dell'APP solubile (Ohsawa, 1999). Inoltre, l'alterato metabolismo dell'amiloide potrebbe determinare il fenomeno eccitotossico, legato all'accumulo di glutammato nello spazio intersinaptico (Olney, 1997). Si sta indagando riguardo il coinvolgimento di APP e  $A\beta$  nel differenziamento, proliferazione e apoptosi cellulare.

Aumentati livelli di  $A\beta$  inducono apoptosi neuronale, possibile causa di neurodegenerazione in AD, infatti  $A\beta$  provoca una downregulation di Bcl-2, proteina anti-apoptotica, mentre upregola Bax,

una proteina che promuove la morte cellulare (Paradis, 1996). Da prelievi biopatici muscolari e cutanei è ormai possibile isolare le cellule staminali e seguirne la proliferazione *in vitro*. Questo ci ha permesso di verificare una elevata attività proliferativa di queste cellule nei giovani Down rispetto ai controlli mentre nell'adulto Down le cellule staminali risultano nettamente inferiori ai controlli. Inoltre, abbiamo osservato nei fibroblasti di pazienti DS e AD una riduzione del trasporto e dei trasportatori di glutammato, verosimilmente legata al progressivo accumulo di  $A\beta$ . Questo potrebbe indicare un presupposto neuropatologico in grado di indurre un esaurimento funzionale nelle cellule staminali di pazienti DS e AD a seguito di un loro precoce processo di differenziamento.

**Obiettivi**

Proseguendo negli obiettivi della ricerca corrente 2002, verificheremo l'eventuale coinvolgimento di APP e PS1 nel differenziamento di cellule staminali somatiche ed il loro eventuale ruolo nella DS e nell'AD.

Utilizzando le condizioni di crescita e proliferazione cellulare messe a punto in precedenza, ci proponiamo di:

- continuare gli studi molecolari dei trasportatori di glutammato in una più ampia casistica per meglio definire i livelli di espressione dei diversi trasportatori ed eventuali differenze tra pazienti Down e controlli;
- indagare l'effetto di glutammato e  $A\beta$  in cellule staminali e fibroblasti in rapporto a: processi di proliferazione, differenziamento, apoptosi e trasportatori di glutammato. Data la scarsa quantità di cellule staminali, finora abbiamo definito le modalità e gli effetti di glutammato e A-beta in fibroblasti di soggetti controllo, per studiarne poi l'effetto in cellule staminali.

Ci proponiamo di verificare, in fibroblasti e in cellule staminali "lineage-comitted" (muscolo ed epitelio), trattati con A $\beta$  e glutammato, la presenza, i livelli e l'attivazione di alcuni markers dei processi di proliferazione (per es. fattori di crescita), di differenziazione (per es. ERK1 e 2) e dell'apoptosi (per es. le caspasi 3 e 7, bcl-2, bax), mediante RT-PCR e metodi di immunocitochimica;

- verificare l'attivazione di altri specifici signaling pathway (oltre alla MAPK p38) in seguito alla somministrazione di glutammato e A $\beta$  in fibroblasti ed eventualmente in cellule staminali lineage-comitted.

**STUDIO EX VIVO DELLE INTERAZIONI  
TRA STRESS OSSIDATIVO ED  
ECCITOTOSSICITÀ IN MALATTIE  
NEURODEGENERATIVE MEDIANTE  
IBRIDI CITOPLASMATICI (CIBRIDI)**

**Prof. Ferrarese Carlo**

e-mail: carlo.ferrarese@unimib.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale dello studio**

Le alterazioni mitocondriali hanno un ruolo importante nella fisiopatologia di molte malattie neurodegenerative, essendo connesse a fenomeni quali deficit energetico, stress ossidativo ed eccitotossicità. In queste patologie le cellule nervose sono cronicamente esposte a livelli abnormemente elevati di specie reattive dell'ossigeno (ROS), che derivano principalmente dalla disregolazione della fosforilazione ossidativa mitocondriale. L'accumulo di ROS ed il deficit energetico ostacolano il trasporto intracellulare di glutammato. Tale aminoacido si accumula nello spazio intersinaptico e provoca una continua stimolazione dei recettori che può determinare morte cellulare con meccanismo apoptotico.

La presente ricerca si concentra su due patologie neurodegenerative relativamente rare, ma contraddistinte da un quadro clinico altamente debilitante e inesorabilmente progressivo, considerate le attuali terapie disponibili: la Neuropatia Ottica Ereditaria di Leber (LHON) e la Sclerosi Laterale Amiotrofica (ALS). In entrambe queste malattie si viene a determinare una alterata funzionalità mitocondriale, seppur con meccanismi diversi. Inoltre, le cellule nervose che degenerano nella LHON e nella ALS, ovvero rispettivamente le cellule ganglionari della retina e i motoneuroni delle corna anteriori del midollo spinale e della corteccia motoria, sono cellule altamente sensibili alla tossicità da glutammato. La LHON è una malattia ad eredità matrilineare, che si è dimostrata essere causata da una serie di mutazioni del complesso I della catena respiratoria mitocondriale. Nonostante questa evidente causa genetica, la fisiopatologia della degenerazione delle cellule ganglionari rimane relativamente sconosciuta.

La ALS non è una malattia mitocondriale, ma numerose evidenze supportano la presenza di alterazioni mitocondriali sia nei pazienti con la forma familiare che

sporadica della malattia. Queste alterazioni potrebbero essere conseguenti ad un aumentato stress ossidativo primitivo, come suggerito dai casi di ALS familiari associati a mutazione pro-ossidanti dell'enzima rame/zinco superossido dismutasi (SOD1). In questo studio, che si pone come continuazione della ricerca condotta nel 2002, ci si propone di analizzare le interazioni patogenetiche tra stress ossidativo ed eccitotossicità utilizzando delle linee cellulari trasmitocondriali, chiamate anche ibridi citoplasmatici oppure cibridi (cybrids). Queste linee cellulari derivano dalla fusione di cellule prive di DNA nucleare, ma contenente DNA mitocondriale provenienti da pazienti (nel nostro caso fibroblasti enucleati) con cellule riceventi private di mitocondri in quanto esposte a basse concentrazioni di bloccanti della replicazione del DNA (dette cellule rho zero).

**Obiettivi della ricerca**

L'utilizzo dei cybrids è stato utilizzato per dimostrare l'influsso di una alterata funzionalità mitocondriale sui processi cellulari, in particolare il trasporto di glutammato ad alta affinità, la produzione di ROS endocellulari e mitocondriali ed i livelli intracellulari di ATP. I risultati finora ottenuti per quanto riguarda la LHON permettono di ipotizzare un reale coinvolgimento della tossicità da glutammato nella patogenesi della malattia. Infatti il modello di cybrids utilizzato esprime in misura maggiore lo stesso trasportatore che è responsabile del reuptake di glutammato nella neuroretina umana.

Tale ipotesi, se ulteriormente avvalorata, comporterebbe una novità importante nel panorama internazionale della ricerca sulla LHON. Infatti tale quadro patogenetico avrebbe possibili implicazioni terapeutiche, in quanto esistono nella pratica clinica dei farmaci con proprietà anti-eccitotossiche.



Gli sviluppi della ricerca prevedono l'effettuazione di studi di RT-PCR e Western Blot sulle linee cybrids, in particolare per EAAT1, per evidenziare se il diminuito trasporto potrebbe essere ricondotto ad una down-regolazione di questo trasportatore nei pazienti LHON. Un ulteriore approfondimento prevede tecniche di biotinilazione e analisi della quantità di trasportatore presente in membrana. Inoltre si prevede l'utilizzo di ulteriori tre linee di cybrids provenienti da pazienti LHON, una per ogni mutazione del complesso I, sulle quali compiere le analisi biochimiche e funzionali sopra citate. In questo modo si otterrebbero un totale di sei linee di cybrids provenienti da pazienti LHON, due per ogni mutazione del complesso I. Per quanto riguarda la ALS, gli studi sul modello in vitro hanno permesso di chiarire che la compromissione del trasporto di glutammato associato alla mutazione SOD1 non è reversibile con il trattamento anti-ossidante, mentre quest'ultimo è in grado di preservare e proteggere l'omeostasi mitocondriale. La creazione dei cybrids a partire dai pazienti ALS permetterebbe di verificare se il trasporto di glutammato e l'espressione dei trasportatori del glutammato sia influenzata dalle alterazioni mitocondriali presenti nelle forme sporadiche della malattia. Questo dato è particolarmente importante, considerato il fatto che non è chiarita la ragione per cui nei pazienti ALS sporadici si assiste ad una down-regolazione del trasportatore EAAT2. La creazione dei cybrids ALS, finora rivelatasi di difficile realizzazione, rimane un obiettivo primario di questa ricerca. A questo proposito, ci si propone l'utilizzo della linea cellulare NT2, la quale è già presente come linea cellulare stabile presso il laboratorio del dott. Ian Holt presso la University of Cambridge ed è differenziabile sia in neuroni che in astrociti funzionanti ed esprimenti i trasportatori del glutammato EAAT1-2, dopo esposizione ad acido retinoico.

La creazione di cybrids utilizzando le cellule NT2 *rho zero* è possibile mediante l'utilizzo di colture di fibroblasti umani provenienti da pazienti ALS e da soggetti controllo, entrambi presenti nel nostro laboratorio. Considerando quanto sopra esposto, si sono stabiliti accordi per un eventuale soggiorno presso il laboratorio inglese per un periodo da stabilirsi.

**ANALISI MEDIANTE MODELLO ANIMALE  
(DROSOPHILA) DELLA FUNZIONALITÀ  
DEL GENE DYT1**

**Dr. Andrea Martinuzzi**

e-mail: andrea.martinuzzi@cn.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Conegliano

**Razionale ed obiettivi**

Negli ultimi anni è stato identificato un gran numero di geni le cui mutazioni causa malattie, ma nonostante questi successi della genetica umana i meccanismi molecolari responsabili di queste malattie rimangono misteriosi soprattutto perché non si conosce la normale funzione che questi geni svolgono nella cellula e quindi risulta difficile capirne il ruolo nell'insorgenza delle patologie. Poiché l'analisi genetica in pazienti ed in modelli animali vertebrati è complessa e laboriosa, questo progetto sfrutta la grande conservazione strutturale e funzionale che i geni di *Drosophila* (il comune moscerino della frutta) possiedono con i geni umani per generare modelli di malattia in un organismo più semplice e manipolabile. I modelli in organismi invertebrati permettono di utilizzare potenti metodi genetici per individuare i "pathways" cellulari in cui sono coinvolti questi geni malattia, consentendo di delucidarne la loro funzione fisiologica e possibilmente il meccanismo patogenetico alla base delle malattie.

Il progetto prevede l'uso della *Drosophila* come modello per lo studio della funzione dei geni coinvolti in due diverse neuropatologie, la distonia idiopatica primaria (gene responsabile DYT1) e la forma più comune di paraplegia spastica ereditaria, SPG4. Le proteine codificate da questi geni sono rispettivamente Torsina e Spastina, caratterizzate strutturalmente come "nucleotide binding proteins" e la cui normale funzione biologica è sconosciuta. Gli omologhi di *Drosophila* dei geni codificanti per queste proteine sono stati identificati e clonati nel nostro laboratorio e sono stati denominati D-torsina e D-spastina.

L'utilizzo del modello di *Drosophila*, già impiegato con successo in altre malattie neurodegenerative (Huntington, SCA, PD), offre la possibilità di chiarire la funzione biologica dei geni responsabili in

modo rapido ed efficiente. Per questo motivo, questo progetto si propone di creare un modello animale in *Drosophila* delle malattie descritte.

**Obiettivi**

Gli obiettivi di questo progetto sono:

1. creazione di un modello in *Drosophila* per la distonia causata da mutazioni in DYT1.
2. creazione di un modello in *Drosophila* per la paraplegia dovuta a mutazioni in SPG4.
3. Generazione di mutazioni loss of function, in particolar modo utilizzando la tecnologia dell'RNA interference, nei geni D-torsina e D-spastina.
4. Generazione di mutazioni gain of function per D-torsina e D-spastina. Tali mutazioni saranno ottenute grazie a overexpression delle proteine normali e di alcune forme contenenti mutazioni analoghe o identiche a quelle patologiche.
5. Analisi dei fenotipi causati dalle mutazioni così generate nell'animale *in toto*, allo scopo di definire il ruolo funzionale di queste proteine.
6. Eseguire screens genetici al fine di individuare geni interagenti con la D-torsina e D-spastina. I geni così identificati codificano per proteine necessarie alla normale funzione di D-spastina e D-torsina.

In letteratura sono state descritte numerose forme di paraplegia spastica ereditaria e distonia primaria, e sebbene alcuni geni candidati siano stati mappati, solo pochi di essi sono stati finora clonati. Grazie all'identificazione di geni interagenti, la nostra ricerca potrebbe quindi consentirci anche di scoprire altri geni responsabili di forme diverse di distonia e paraplegia ereditaria. Infatti, sarà possibile analizzare gli omologhi umani dei geni identificati in *Drosophila* e determinare se in pazienti con forme diverse di paraplegia spastica ereditaria e distonia primaria essi siano mutati.

**SIGNIFICATO FUNZIONALE DEI  
POLIMORFISMI DEL MTDNA:  
VALUTAZIONE IN VITRO DELLA  
SENSIBILITÀ ALLA ESPOSIZIONE A ROS  
E DELLA ATTIVAZIONE DI APOPTOSI**

**Dr. Andrea Martinuzzi**

e-mail: andrea.martinuzzi@cn.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Conegliano

**Razionale ed obiettivi**

Le caratteristiche di sequenza del DNA mitocondriale (mtDNA) condizionano la funzionalità delle proteine codificate da questo genoma. I 13 polipetidi codificati dal mtDNA umano entrano tutti a far parte dei complessi della catena respiratoria. La capacità respiratoria mitocondriale condiziona la cellula nei suoi processi metabolici e nelle modalità di risposta della cellula ad eventi stressanti.

Modificazioni della sequenza codificante possono portare a alterazioni di funzione tali da determinare patologia, e per questo tali modificazioni sono dette patogene.

Nell'ambito delle mutazioni patogene del mtDNA, alcune, come quelle raggruppate sulle varie sub-unità del Complesso I associate alla neuropatia ottica di Leber causano modificazioni apparentemente marginali della capacità ossidativa, e sono spesso caratterizzate da penetranza relativamente bassa: elementi che rendono problematica la delucidazione dei meccanismi patogenetici.

Accanto alle mutazioni patogene, sono osservate in popolazione di controllo variazioni di sequenza non silenti che, proprio per il fatto di non essere associate a malattia, rientrano tra i polimorfismi del mtDNA.

Essi quindi:

- sono variazioni di sequenza presenti nella popolazione di controllo
- sono presenti in omoplasmia
- definiscono determinati gruppi di popolazione (aplogruppi)
- la loro neutralità fenotipica dedotta sulla base della loro presenza in soggetti "sani"
- per alcune è descritta una associazione significativa con patologie a patogenesi mitocondriale (LHON) e non (sordità neurosensoriale, astenozoospermia, NIDDM,...)

Molte di queste variazioni di sequenza sono state inizialmente indicate come potenzialmente patogene, in quanto determinanti sostituzioni di AA in subunità di complessi della catena respiratoria e in quanto descritte in pazienti con citopatia mitocondriale. Il loro riscontro nella popolazione di controllo ed la loro presenza esclusivamente in omoplasmia ha determinato la loro riclassificazione come polimorfismi.

Nulla però si sa del loro fenotipo biochimico, anche se per alcune è descritto un possibile ruolo nel condizionale l'espressività di mutazioni patogene. Una situazione paradigmatica è a questo proposito il rapporto tra mutazioni primarie e secondarie associate alla LHON, ed il significato funzionale possibile di queste ultime.

Alterazioni, primitive o secondarie, della funzionalità mitocondriale sono riconosciute come centrali in processi quali la risposta a tossici, il processo apoptotico, l'invecchiamento.

La costruzione di ibridi cellulari transmitocondriali (cibridi) è utilizzata ormai routinariamente nella valutazione funzionale di mutazioni patogene. La tecnica si presta ad essere applicata allo studio della fitness di cellule omoplasmiche per polimorfismi per i quali si ipotizzi un ruolo positivo o negativo sulla funzionalità mitocondriale.

**Obiettivi**

Lo studio si propone, utilizzando il sistema dei cibridi, lo studio delle modificazioni fenotipiche indotte da varianti patogene e non patogene del mtDNA sia in condizioni basali, sia in risposta a stress. In particolare verranno analizzate le risposte cellulari al fine di individuare markers consistenti della funzione (o malfunzione) del mitocondrio, e per delineare la modalità di difesa antiossidativa attivata dalla cellula.

I risultati di questo progetto avranno significato per:

- il chiarimento dei meccanismi alla base della variabilità fenotipica delle citopatie mitocondriali
- la comprensione dei meccanismi di danno cellulare mitocondrio-mediato,

la possibile definizione di background genetici più o meno predisposti a dimostrare segni di citopatia mitocondriale la potenziale ricaduta di una tale informazione ai fini di una impostazione non solo terapeutica ma anche preventiva di situazioni influenzate ed influenzanti la funzionalità mitocondriale (ischemia, neurodegenerazione, apoptosi).

**STUDIO DELLA TOSSICITÀ DEL BETA AMILOIDE (A $\beta$ ) NELLE CELLULE NEURONALI: RUOLO DEL NITROSSIDO D'AZOTO (NO), DI CERAMIDE E DI P 75 NELL'INDUZIONE DELLA MORTE NEURONALE IN PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE**

**Dr.ssa Maria Teresa Bassi**

e-mail: mtbassi@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Premessa e razionale**

La deposizione di proteina beta amiloide (A $\beta$ ), derivante dalla proteolisi della proteina precursore APP, rappresenta un evento fondamentale nella patogenesi di alcune malattie neurodegenerative, come la malattia di Alzheimer e la sindrome di Down (AD e DS), eterogenee da un punto di vista clinico e genetico ma accomunate da fenomeni di morte cellulare. Molte alterazioni biochimiche e genetiche sono state associate alla deposizione di Ab in AD e DS tuttavia, non è ancora chiaro quali siano tra queste, quelle coinvolte nell'inizio del processo degenerativo.

A $\beta$  è in grado di legare il recettore a bassa affinità per le neurotrofine p75<sup>NTR</sup> e di indurre tramite questa interazione apoptosi in neuroni e fibroblasti. p75<sup>NTR</sup> è sovraespresso in neuroni corticali di pazienti affetti da AD e in fibroblasti DS. La sua attivazione è in grado di aumentare ulteriormente la deposizione di A $\beta$  generando così un loop di amplificazione del segnale. Queste osservazioni, insieme con il riscontro che le vie di trasduzione del segnale attivate da p75<sup>NTR</sup> portano ad alterazioni simili a quelle indotte da A $\beta$  in vitro, suggerisce che l'interazione con p75<sup>NTR</sup> possa mediare i fenomeni di citotossicità indotti da Ab in corso di AD e DS. p75<sup>NTR</sup> tuttavia, nel sistema nervoso centrale, ha un ruolo duplice, in quanto induce crescita e differenziamento, oppure morte cellulare. Nell'ippocampo, per esempio, induce sviluppo dendritico/assonale oppure morte a seconda dello stadio della cultura cellulare.

Comprendere il signaling e le funzioni di p75<sup>NTR</sup> è quindi rilevante a capire quanto sia importante la sua attivazione da parte di A $\beta$  nelle malattie degenerative.

Una via di trasduzione importante accesa da p75<sup>NTR</sup> è la generazione di ceramide in seguito ad attivazione di una sfingomielinasi neutra. Il ceramide è coinvolto sia nella morte sia negli eventi di differenziamento asso-dendritico indotti da p75<sup>NTR</sup>. Il ruolo del ceramide e degli sfingolipidi nel sistema nervoso è sicuramente importante come dimostrato dal fatto che tutte le malattie ereditarie caratterizzate da assenza o ridotta funzione di enzimi chiave del metabolismo degli sfingolipidi, tra cui la malattia di Niemann-Pick A e B (deficit di sfingomielinasi acida), la malattia di Tay-Sachs (deficit di  $\beta$ -esosaminidasi A), la malattia di Farber, (deficit di ceramidasi acida), si accompagnano a deficit neurologici di varia entità. Perché un alterato metabolismo degli sfingolipidi porti a danno neuronale non è però ancora chiaro. In particolare, non è chiaro come il ceramide possa mediare effetti sia di sopravvivenza e differenziamento, sia effetti neurotossici.

Nelle malattie neurodegenerative è coinvolto il nitrossido (NO), che induce stress ossidativo, può inibire la catena respiratoria mitocondriale a livello dei suoi complessi I e IV e contribuire alla eccitotossicità da glutammato. Questi eventi sono analoghi a quelli osservati dopo somministrazione di A $\beta$  in cellule (il deficit a livello del complesso IV è una caratteristica dell'AD, mentre il deficit del complesso I lo è del Parkinson). Anche per l'NO, tuttavia, ci troviamo di fronte ad un paradosso, perché questo messaggero gassoso è stato descritto avere anche effetti positivi, tra cui la protezione dalla morte per apoptosi indotta da neurotrofine, regolazione del release di neurotrasmettitori, facilitazione della long term potentiation, e ha un chiaro ruolo nella ontogenesi della corteccia visiva ed olfattoria (e presumibilmente di altre aree cerebrali). Infine, è coinvolto nella formazione dei coni di crescita assonali. Noi ipotizziamo che esista una stretta interazione tra NO, ceramidi ed enzimi responsabili della loro sintesi (NO sintasi e sfingomielinasi) accoppiati all'attivazione di p75<sup>NTR</sup> nei neuroni. La caratterizzazione di questa interazione potrebbe essere alla base della comprensione del ruolo di p75<sup>NTR</sup> nel mediare l'effetto tossico di A $\beta$ .

**Obiettivi:**

- 1) Definizione del ruolo della attivazione delle NOS e delle sfingomielinasi all'interno delle vie di signaling di p75<sup>NTR</sup> in modelli non patologici (culture di ippocampo stimulate con neurotrofine). In particolare ci proponiamo di identificare i trasduttori principali attivati da ceramide e da NO, e di verificarne la loro regolazione. Ci proponiamo inoltre di studiare eventuali variazioni nel pattern di espressione di geni che sono attivati da p75<sup>NTR</sup> studiando sia vie note (es quella di c-jun) sia vie potenzialmente coinvolte ed identificate sulla base della definizione del ruolo di NO e ceramidi.
- 2) Definizione della via di signaling accesa da A $\beta$ -p75<sup>NTR</sup> (per verificare se coincide con una delle vie accese dall'attivazione di p75<sup>NTR</sup> con le neurotrofine). Ci sono tre possibilità a) che A $\beta$  attivi una via di signaling diversa rispetto a quella attivata dall'interazione di p75<sup>NTR</sup> con le neurotrofine; b) che il signaling sia lo stesso tra A $\beta$  e neurotrofine ma che eventuali elementi genetici di predisposizione alle malattie neurodegenerative determinino differenze nella via accesa nei soggetti normali rispetto a quelli predisposti a tali malattie; c) che sia come in a, ma che il contributo di fattori addizionali (proinfiammatori per esempio) modifichi l'effetto intracellulare dell'accensione di p75<sup>NTR</sup>. In questo caso sarà necessario usare linee cellulari diverse ad esempio di monociti da sangue periferico in soggetti sani e in soggetti AD caratterizzati geneticamente.

**Piano sperimentale:**

Per gli esperimenti utilizzeremo una linea cellulare di neuroni ippocampali immortalizzati e culture primarie di ippocampo. La scelta del modello è basata sull'osservazione che p75<sup>NTR</sup> in queste cel-

lule regola lo sviluppo di dendriti ed assoni ma può indurre anche morte, ambedue attraverso la via delle sfingomielinasi. L'ippocampo inoltre possiede sia la NOS endoteliale, enzima con funzioni housekeeping, sia la NOS neuronale che ha un ruolo più nel segnale differenziale e nella eccitotossicità. Come modello di cellula patologica si utilizzeranno fibroblasti di pazienti AD caratterizzati geneticamente, mediante analisi mutazionale dei geni coinvolti nella patologia.

Per studiare se e come p75<sup>NTR</sup> (attivato da neurotrofine o A $\beta$ ) attivi le sfingomielinasi acida e neutra utilizzeremo saggi enzimatici specifici ed inibitori farmacologici selettivi per ciascun enzima. Lo studio delle specie di ceramide (lunghezza della catena dell'acido grasso) generate da ciascun enzima si effettuerà mediante spettroscopia di massa, in collaborazione con il Prof Sandro Sonnino (LITA, Segrate).

Si verificherà inoltre se p75<sup>NTR</sup> attivi la NOS endoteliale valutando, come via possibile, quella da noi identificata in altri modelli trasduttivi, ovvero attivazione sequenziale della sfingomielinasi neutra e di Akt/PI3 chinasi.

Si dissezioneranno le vie di trasduzione del segnale, accese in queste due condizioni, attraverso un approccio farmacologico (inibitori di vie enzimatiche), che permetta di identificare target significativi.

Sulla base delle informazioni in letteratura si considereranno come candidati iniziali soprattutto le seguenti vie di trasduzione del segnale note essere bersaglio di NO e ceramide in altri sistemi trasduttivi: attivazione di caspasi; eventi mitocondriali (cambiamenti nel potenziale di membrana, rilascio di citocromo c, effetti sugli enzimi della catena respiratoria); potenziale redox; controllo della omeostasi del calcio; attivazione delle vie delle MAP chinasi (ERK 1/2; p38 e JNK); attivazione di protein fosfatasi PP1 e PP2A.

Un quadro generale della variazione dell'attività trascrizionale della cellula (utilizzata come sistema modello in questi esperimenti) in seguito al trattamento con Ab oppure con neurotrofine si otterrà tramite utilizzo della tecnica dei microarray.

Per la preparazione delle sonde marcate, verrà effettuata una reazione di trascrizione inversa sull'mRNA del campione trattato e quello di controllo ed i cDNA ottenuti verranno marcati con le molecole fluorescenti Cy3 o Cy5. Per tale procedura utilizzeremo il CyScribe Post-Labeling Kit (Amersham Pharmacia Biotech). Per ogni campione in esame, l'esperimento verrà effettuato in duplicato secondo lo schema del "reciprocal labeling" (esperimento: Sonda A-Cy3 con Sonda B-Cy5; duplicato: Sonda A-Cy5 con Sonda B-Cy3). Per la lettura dei microarray dopo ibridazione, verrà utilizzato uno scanner confocale a doppio laser Virtek ChipReader, ad una risoluzione di 10 micron. Una delle parti più complesse di questo progetto è rappresentata dall'analisi e dalla interpretazione dei dati di espressione ottenuti dagli esperimenti con microarray di DNA.

Lo studio funzionale del ruolo di p75<sup>NTR</sup> e delle vie di trasduzione identificate negli studi descritti sopra si effettuerà controllando i seguenti parametri: morte, sviluppo degli assoni (coni di crescita); resistenza ad un insulto diverso da p75<sup>NTR</sup> (ipossia; insulto eccitotossico da NMDA; insulto da TNF ed altre citochine proinfiammatorie coinvolte nella neurodegenerazione). La valutazione di questi parametri si farà mediante un approccio morfologico.

**CINETICHE DI RIMOZIONE DEGLI  
INTRONI DEL GENE DMD: RILEVANZA  
PER MECCANISMI FISIOLGICI E  
PATOLOGICI DI SPLICING**

**Dr.ssa Sironi Manuela**

e-mail: msironi@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale ed obiettivi**

Dal momento in cui si è scoperta la presenza di porzioni non codificanti nei pre-mRNA eucariotici, gli sforzi si sono concentrati sui segnali che ne regolano la rimozione e sulla loro possibile funzione. Oggi è noto che le sequenze introniche aumentano in numero e dimensione con l'aumentare della complessità degli organismi viventi, indicando che le sequenze non codificanti debbano avere un ruolo, forse regolatorio, nello svolgimento di alcuni processi cellulari.

Anche il numero di trascritti che possono originarsi da uno stesso gene attraverso eventi di splicing alternativo aumenta fortemente in organismi più complessi ed è stato ipotizzato che la modulazione della lunghezza intronica possa rappresentare un ulteriore livello di regolazione dello splicing negli eucarioti superiori.

Il gene umano della distrofina, localizzato sul braccio corto del cromosoma X (Xp21), è il più lungo fino ad ora identificato; esso si estende per più di 2.5 Mb e occupa circa lo 0.1% del genoma umano. Il gene è costituito da 79 esoni piuttosto piccoli che codificano per un messaggio di circa 14 kb indicando che solo lo 0.6% del gene è costituito da porzioni codificanti. La distrofina presenta dunque gli introni più lunghi che siano mai stati descritti. L'attività di ricerca svolta dal nostro gruppo ci ha portato alle seguenti osservazioni:

- l'estrema lunghezza degli introni della distrofina è conservata nei vertebrati ma le porzioni introniche che presentano elevata omologia di sequenza tra organismi diversi (uomo, topo, Fugu) rappresentano una percentuale minima della lunghezza intronica totale (Pozzoli et al. Genome Res, submitted).
- l'espansione intronica è stata in parte determinata dall'accumulo nel tempo di sequenze ripetute (Pozzoli et al. *Genetics* 2002)

- gli esoni out-of-frame della distrofina presentano splice sites significativamente più forti se paragonati a quelli degli esoni in-frame e sono separati da introni significativamente più lunghi (Siorni et al. *Hum Genet* 2001; Pozzoli et al. *Genetics*, 2002).
- il gene umano della distrofina presenta almeno 16 trascritti derivanti da splicing alternativo della regione del rod-domain e il pattern di splicing è alterato in pazienti DMD e BMD (Sironi et al. *FEBS Lett*, 2002).

Tali osservazioni suggeriscono che la lunghezza delle sequenze introniche della distrofina piuttosto che la loro composizione in basi possa essere rilevante per un qualche meccanismo regolatorio ancora ignoto. Inoltre il parallelismo che si osserva tra l'andamento dei parametri degli splice sites e le lunghezze introniche potrebbe indicare l'esistenza di un meccanismo di regolazione dello splicing basato su queste caratteristiche.

Numerosi studi hanno dimostrato che il processo di splicing dei pre-mRNA eucariotici non è processivo, in altre parole non si osserva necessariamente la rimozione ordinata degli introni dall'estremità 5' a quella 3' del pre-mRNA.

Esistono eventi di rimozione lenti e rapidi che danno origine ad una o più vie di rimozione con un ordine preferenziale. Non è noto quali siano gli elementi che determinano la velocità di rimozione di una sequenza intronica e l'ordine di rimozione degli introni è noto solo per pochi geni umani. È stato inoltre osservato che l'analisi dell'ordine di rimozione degli introni può spiegare l'esito inatteso di alcune mutazioni patologiche.

Ci proponiamo quindi di studiare le cinetiche di rimozione degli introni della regione centrale del rod-domain nel gene umano della distrofina. Il protocollo sperimentale prevede l'utilizzo di colture di mioblasti umani che verranno indotti a differenziare in senso muscolare e suc-

cessivamente trattati con actinomicina D per arrestare la trascrizione. L'hnRNA sarà poi estratto a tempi diversi dal trattamento con actinomicina e si utilizzerà un approccio basato su PCR semiquantitativa per valutare le cinetiche di rimozione degli introni.

Verrà in seguito messo a punto un modello in grado di valutare la proporzione di molecole rimosse nel tempo per ciascun introne in funzione della distribuzione di probabilità del relativo tempo di rimozione. Mediante algoritmi di ottimizzazione è possibile identificare i parametri relativi a tali distribuzioni che meglio approssimano i dati sperimentali. Questo ci permetterà di valutare l'ordine di rimozione degli introni e ci darà informazioni sul meccanismo di rimozione.

Auspichiamo che lo studio qui proposto possa fornire indicazioni riguardanti:

- l'eventuale ruolo/presenza di elementi cis-acting che determinano la velocità di rimozione di una sequenza intronica
- l'influenza della lunghezza di ciascun introne sulla propria cinetica di rimozione
- i meccanismi che regolano lo splicing alternativo fisiologico e patologico nella regione genica interessata



**STUDIO NEUROCHIMICO SU ELUATO  
EXTRACELLULARE OTTENUTO IN  
CORSO DI MONITORAGGIO  
NEUROFISIOLOGICO PER IMPIANTO DI  
STIMOLATORE PALLIDALE PROFONDO  
IN PAZIENTI DISTONICI**

**Dr. Martinuzzi Andrea**

e-mail: andrea.martinuzzi@cn.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo scientifico:** Conegliano

**Razionale ed Obiettivi**

*Premesse:*

Le basi neuropatologica e neurofisiologica delle forme primarie di distonia è ancora in gran parte oscura. Anche nelle forme molecolarmente definite (DYT1) manca un correlato neuropatologico che possa spiegare il grave quadro clinico, mentre indagini strumentali indirette e su animali di laboratorio sembrano indicare nella alterazione dei circuiti GABAergici a livello di nuclei della base la possibile spiegazione delle manifestazioni cliniche (1-3). Non vi sono tuttavia prove dirette nell'uomo di una tale ipotesi, né se tale quadro di alterazione neurotrasmettitoriale sia una caratteristica comune a tutte le forme di distonia o se vi sia una differenziazione tra le varie forme.

La stimolazione pallidale mediante elettrodi impiantati a livello di globus pallido interno rappresenta un approccio terapeutico proposto da qualche anno con un certo successo nelle forme primarie di distonia, ed in modo più episodico e con risultati più incerti nelle forme secondarie di distonia, per le quali si è posto recentemente il problema di un eventuale bersaglio alternativo per l'impianto (talamo). Un analogo tipo di intervento è praticato da alcuni anni in pazienti con malattia di Parkinson grave o con intolleranza alla L-DOPA, utilizzando come bersagli il talamo, il nucleo subtalamico o il globus pallidus.

Questo tipo di intervento condivide molti degli obiettivi della neurochirurgia funzionale lesionale degli anni passati (talamotomia, pallidotomia), riducendo però nettamente rispetto a questa la morbilità operatoria e post-operatoria.

Il razionale della stimolazione cerebrale profonda (DBS) si basa sulla verosimile capacità della stimolazione ad alta frequenza (tipicamente 130-180 Hz) di modificare la circuiteria dell'area in cui è situato l'impianto.

L'impianto di elettrodi stimolanti profondi viene eseguito previa identificazione del bersaglio in stereotassi e con monitoraggio neurofisiologico intraoperatorio. Il monitoraggio consiste nella registrazione mediante elettrodi impiantati lungo guide inserite seguendo le traiettorie scelte sulla base dei dati di imaging.

Gli elettrodi registrano lungo il loro tragitto l'attività neuronale dei nuclei basali che attraversano (putamen, pallido esterno, pallido interno) permettendo un più corretto posizionamento dell'elettrodo stimolante.

È stata condotta nei 3 anni precedenti presso questo Istituto un progetto di ricerca corrente che ha permesso di mettere a punto un protocollo di selezione di soggetti con distonia primaria candidabili a DBS, e di portare a termine il primo intervento di posizionamento di DBS in un soggetto con distonia generalizzata (RC2000-2002: criteri di selezione e protocolli valutativi pre e post-chirurgici in pazienti distonici sottoposti a stimolazione pallidale).

In soggetti sottoposti a DBS per malattia di Parkinson la disponibilità delle tracce intracerebrali create dagli elettrodi registranti è stata utilizzata per l'inserimento di sonde da microdialisi, che ha permesso la analisi della concentrazione di neurotrasmettitori (aspartato, glutamato, glicina, GABA) nel globus pallidus e nel subtalamo di questi pazienti (4).

Questo studio, sebbene non sia riuscito a stabilire un correlato tra modificazioni cliniche indotte da farmaco e livello di neurotrasmettitori, ha permesso tuttavia di definire il profilo neurotrasmettitoriale di base nelle strutture implicate nella malattia di Parkinson.

**Obiettivi:**

Il progetto si propone di testare, mediante raccolta in microdialisi durante interventi per posizionamento di DBS in soggetti distonici, il livello di neurotrasmettitori extracellulari nelle strutture dei nuclei della base. In letteratura mancano ovviamente dati di concentrazione nei soggetti normali, sarà tuttavia possibile paragonare i dati dei distonici a quelli dei pazienti affetti da Morbo di Parkinson (4).

Verrà poi tentata una correlazione tra tipologia ed etiologia della distonia, risultati clinici del trattamento di stimolazione, e dati ottenuti a livello neurochimico.

**Materiali e Metodi:**

**Soggetti:** pazienti affetti da distonia primaria o secondaria selezionati per impianto di DBS sulla base del protocollo di valutazione già attivo presso il nostro Istituto.

**Intervento:** presso la U.O. di Neurochirurgia dell'Ospedale di Udine, in anestesia locale.

**Monitoraggio neurofisiologico:** mediante sistema Axon a 5 canali acquisito dalla U.O. Neurochirurgia, utilizzando microelettrodi (FHC 500-1500 KOhm).

**Microdialisi:** utilizzando le tracce create dai microelettrodi di registrazione, verranno inserite sonde da microdialisi (diametro 0.5 mm, membrana esterna 0.6 mm, cutoff 20 kDa) connesse a una pompa di microinfusione (flusso 5 ul/min). L'eluato extracellulare (50 ul) verrà raccolto ogni 10 min per la prima ora ed immediatamente congelato.

**Analisi dell'eluato:** il dosaggio dei neurotrasmettitori di interesse avverrà mediante metodica HPLC (laboratorio Prof. Stanzione, Università di Roma).

1)Filion M. Physiologic basis of dyskinesia. *Ann. Neurol* 2000; 47 (suppl 1): S35-S41

2)Vitek J. Pathophysiology of dystonia: a neuronal model. *Mov.Disord.* 2002; 17 (suppl 3) S49-S62

3)Eidelberg D, Moeller JR, Antonini A, et al. Functional brain networks in DYT1 dystonia. *Ann. Neurol.* 1998; 44: 303-312

4)Fedele E et al. Microdialysis in Parkinsonian patient basal ganglia: acute apomorphine-induced clinical and electrophysiological effects not paralleled by changes in the release of neuroactive amino acids. *Exp. Neurol.* 2001; 167: 1-9.

**VALUTAZIONE DEL COMPORTAMENTO DI UNA POPOLAZIONE DI CELLULE STAMINALI MULTIPOTENTI OTTENUTE DA TESSUTI ADULTI DI TOPI AFFETTI DA DIVERSI TIPI DI DISTROFIA MUSCOLARE (MDX, DY2J) E DELLE POTENZIALITÀ TERAPEUTICHE**

**Dr.ssa D'Angelo Maria Grazia**  
e-mail: grazia@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**  
Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo scientifico:** Bosisio Parini

**Background**

La distrofia muscolare di Duchenne è una malattia ereditaria legata al cromosoma X, trasmessa con carattere recessivo causata dalla mancanza della proteina distrofina a livello dei tessuti muscolari. Il modello animale della distrofia muscolare di Duchenne è il topo mdx, che presenta una mutazione puntiforme a livello dell'esone 23 del gene della distrofina.

Tale difetto molecolare comporta un deficit di espressione di distrofina a livello della fibra muscolare e rende l'animale un discreto modello sperimentale per la terapia genica. Tra le 2 e 8 settimane dalla nascita, la più parte delle fibre muscolari vanno incontro almeno ad un ciclo di degenerazione/rigenerazione, come dimostrato dall'accumulo di fibre contenenti centralizzazioni nucleari. Le principali fasi della malattia nel topo ripercorrono, con tempi ovviamente diversi, quelle umane: attorno alle 2-3 settimane di vita, esordio della malattia, 4-5 settimane, picco di mionecrosi, 8-12 settimane: rigenerazione delle miofibre, 20 settimane: recupero transitorio.

La crescita e la riparazione del muscolo scheletrico nel periodo postatale sono iniziati dall'attivazione di una popolazione di cellule precursori mononucleati definiti cellule satelliti (Bischoff, 1986).

In relazione alla loro capacità di riparazione del tessuto muscolare danneggiato o traumatizzato nella fase postnatale, le cellule satelliti sono proposte come una popolazione di cellule satelliti muscolari (Bischoff, 1986; Schultz e McCormick, 1994).

Il differente comportamento delle cellule satelliti sia in vivo che in vitro sostiene al loro natura eterogenea. Sono state isolate dal muscolo scheletrico di animali di diverse specie almeno due popolazioni di cellule satelliti, "fusing e no fusing" (Baroffio, 1996). Quando colture primarie umane sono indotte a differen-

ziare, una parte di questi elementi cellulari rimane indifferenziato, sotto forma di una popolazione a divisione lenta o quiescente che può essere indotta alla proliferazione e all'auto rinnovamento e generazione di una progenie in grado di differenziare. Queste cellule esprimono Myf5 and CD34, ma non MyoD (Lindon, 1998, Beauchamp 2000). Gussoni nel 1999, ha riportato una più sostanziale evidenza dell'esistenza di cellule staminali pluripotenti nel muscolo scheletrico murino: la "side population" isolata tramite FACS (che precedentemente era stata utilizzata per isolare le cellule emopoietiche) di derivazione sia muscolare che midollare era in grado di differenziare in diverse linee cellulari dopo trapianto intravenoso. Jackson (1999) ha dimostrato che una popolazione cellulare di derivazione muscolare presentava una notevole capacità di differenziazione in senso emopoietico dopo trapianto endovenoso in topi irradiati.

Studi più recenti hanno dimostrato che cellule progenitrici isolate dal midollo osseo (Ferrari, 1998; Gussoni 1999), dal tessuto vascolare embrionale (De Angelis 1999), dal compartimento neuronale (Clarke 2000, Galli 2000) e da vari tessuti mesenchimali (Young 2001) può differenziare in senso miocentrico, suggerendo che cellule staminali di origine diversa possono contribuire alla rigenerazione muscolare.

La separazione e al caratterizzazione delle cellule staminali di origine muscolare rimane una tappa critica del processo, in relazione alla rarità di tali elementi cellulari (Schultz 1996, Beauchamp 1999, Gussoni 1999, Lee 2000) ed alla mancanza di markers specifici per le fasi estremamente precoci di sviluppo.

L'antigene CD 34, una glicoproteina transmembranaria, è stato identificato e caratterizzato come un marker delle cellule staminali emopoietiche di diverse specie, compresi i topi (Krause 1994, Fennie 1995).

Più recentemente una popolazione di cellule satelliti esprimenti CD 34 è stata ritrovata nel muscolo scheletrico (Beauchamp 2000, Lee 2000).

Attraverso l'uso di una tecnica di purificazione cellulare, preplating, può essere ottenuto un elevato numero di cellule staminali di derivazione muscolare (Qu, 1998).

Tramite citometria di flusso, sono stati trovati specifici pattern di espressione di proteine di superficie: Sca1 (Stem Cell Antigen 1) e CD34 possono essere utilizzati una subpopolazione altamente purificata all'interno di colture altamente purificate ottenute da muscolo.

Inoltre la popolazione di cellule esprimenti Sca1 è capace dopo trapianto nel muscolo distrofico, di un'elevata capacità di rigenerazione di fibre contenenti distrofina.

In uno studio recente, Z. Qu-Petersen and Huard (2002) hanno dimostrato che 3 popolazioni di cellule di derivazione muscolare possono essere isolate dal muscolo di topo normale in relazione alle loro capacità proliferative e alle loro caratteristiche: la "early preplate" (EP), la "late preplate" (LP) ed una rara popolazione di cellule proliferanti derivate dalla popolazione LP.

Quest'ultima popolazione cellulare esprime marker emopoietici, comprende cellule che mantengono il loro fenotipo per più di 30 passaggi con un cariotipo normale e che può differenziare in muscolo, neuroni ed endotelio.

Il lavoro fino ad ora condotto nel nostro Istituto ha dimostrato (Torrente et Al 2001) che cellule positive sia per Sca1 sia per CD34 purificate da tessuto muscolare di topi newborn, in fase di preplating definita pp6, sono multipotenti in vitro e sono in grado di differenziare sia in senso miogenico che multimieloidi.

Queste stesse cellule, isolate dal newborn di topo esprimente lacZ sotto il controllo

del promoter della desmina o della tropomiosina I sono state iniettate nella circolazione arteriosa delle zampe posteriori del topo mdx. Le cellule aderiscono fermamente alla parete endoteliale e migrano dalla circolazione nel tessuto muscolare dell'ospite (osservazione avvenuta tramite microscopia intravitale). L'analisi immunocitochimica ha dimostrato la colocalizzazione del LacZ e della distrofina nei muscoli iniettati.

A partire da questi promettenti risultati abbiamo ritenuto opportuno estendere l'analisi a cellule "staminali" di derivazione muscolare ottenute da muscolo di topi mdx.

Pochi sono i lavori presenti in letteratura in merito alla presenza di tali elementi cellulari ottenuti da topo mdx. Uno di questi è quello di Lee and J Huard (2000) nel quale viene dimostrato che cellule di derivazione muscolare altamente purificate ottenute da topi mdx di 3 settimane esprimono markers emopoietici ma sono anche in grado di differenziare in senso osteogenico e miogenico.

In uno studio precedente, Bockhold (1998) ha testato il "potenziale miogenico" in termini di numero di cellule miogeniche prodotte in coltura attorno a miofibre isolate ottenute da muscolo di topi controllo ed mdx in età diverse. Questo studio ha dimostrato una diminuzione del numero di cellule miogeniche attorno alle fibre età-dipendente ma senza una significativa differenza tra topo vecchio mdx e controllo, generando la domanda circa il fatto che il deficit di rigenerazione muscolare nel topo mdx anziano sia da attribuirsi all'«esaurimento» delle cellule satelliti o al progressivo cambio dell'«environment» neuromuscolare.

Le radiazioni ad elevato grado di energia bloccano le mitosi nelle cellule miogeniche in attiva replicazione ed inibiscono la rigenerazione; la notexina è un potente miotossico che distrugge le fibre

muscolari mature ma risparmia le singole cellule, incluse le cellule satelliti; nel muscolo non irradiato induce la rigenerazione.

L'iniezione di notexina nel muscolo irradiato e non irradiato di topi controllo ed mdx, ed il successivo conto delle cellule originanti da ogni fibra isolata mostra chiaramente che la notexina induce una proliferazione di cellule isolate nel muscolo normale ma non nel muscolo di topo mdx.

In relazione alla reazione alle radiazioni, le cellule miogeniche possono essere distinte in 3 gruppi: 1) cellule sensibili alle radiazioni, che muoiono dopo trattamento; 2) cellule che sono resistenti e possono formare muscolo ma non proliferano quando coltivate; 3) cellule resistenti alle radiazioni e mantengono le loro capacità proliferative. Partridge ha dimostrato che il topo mdx manca di questo terzo gruppo di cellule (Partridge JCS 2000).

## Materiali e metodi

**Animali:** abbiamo analizzato animali del ceppo mdx (C57Bl/10 ScSn Mdx) a diverse età, corrispondenti alle fasi principali della malattia, e topi controllo (C57Bl/10) di pari età.

Sia per i topi mdx che per i controlli, ogni età è stata valutata in almeno 2 set sperimentali diversi:

- newborn
- 2-3 settimane di vita, esordio della malattia
- 4-5 settimane, picco di mionecrosi
- 8-12 settimane: rigenerazione delle miofibre
- 20 settimane: recupero transitorio

**Colture Cellulari:** Isolamento delle cellule staminali dal tessuto muscolare prelevato dalle zampe anteriori e posteriori di topi tramite dissociazione prima meccanica e poi enzimatica (soluzione con-

tenente collagenasi tipo IX 0.2% e tripsina 0.1%). La sospensione cellulare così ottenuta viene seminata su piastra, incubata a 37°C al 5% CO<sub>2</sub> per 30 minuti 1 ora, poi la stessa sospensione viene trasferita ad una nuova piastra (preplating 1-pp1), reincubata per 2 ore (pp2). Tali passaggi sono ripetuti ogni 24 ore fino al passaggio preplating 6.

Al fine di determinare il potenziale miogenico delle cellule, queste sono state mantenute in terreno proliferativo fino alla confluenza del 60-70%; dopodiché le cellule venivano poste in terreno differenziativo e dopo 10-14 giorni in coltura, vengono contati i miotubi in ogni step di preplating.

Al fine di determinare la capacità delle cellule di differenziare in senso emopoietico, le cellule sono state seminate in sistema metilcellulosa (GIBCO).

Al fine di valutare la capacità di autorinnovamento delle cellule, sono stati isolati cloni da step pp2 e pp5 delle colture normali e di mdx. Le cellule sono seminate a "limited dilution" (da 1 cellula per piastra a 100 cellule per piastra), valutate quotidianamente tramite microscopio a luce rovesciata.

#### Colorazioni immunostochimiche:

Le cellule sono state piastrate su plastica; alcune fissate in etanolo e poi incubate con anticorpi primari quali: anti-platelet endothelial cell adhesion molecule-PECAM (1:100); anti-desmina (1:50); anti-bcl2 (1:50), anti-fibronectina (1:50), anti-slow myosin heavy chain (1:50), anti-CD34 ed anti Stem Cell Antibody (Sca1). Un altro gruppo di cellule è stato fissato in formaldeide al 4% e permeabilizzato con 0.1% Triton X-100 in PBS; successivamente incubate con anticorpi primari: anti-nestina (1:50), anti bIII-tubulina (1:50), anti-neurofilamento (1:50), anti Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP)-Cy3 (1:100).

Dopo l'incubazione con gli anticorpi primari (a temperatura ambiente per 2o-

re), le cellule sono state trattate con anticorpi secondari specifici: FITC conjugated goat anti mouse (1:100, 1:200), TRITC conjugated goat anti mouse (1:100, 1:200), a temperatura ambiente per 1 ora

#### Analisi tramite Western Blot

Per l'analisi biochimica, le proteine sono state estratte sia da piastre contenenti cellule in fase proliferativa sia in fase differenziativa, a diversi preplating. Le proteine estratte sono state separate su gel di poliaccrilamide al 6% e trasferite poi su membrana di nitrocellulosa: Le membrane sono state successivamente incubate con anticorpi monoclonali diretti contro la desmina, la miosina, al beta tubulina ed il neurofilamento.

Selezione di cellule Sca1 positive e negative tramite il sistema MiniMACS di separazione (Miltenyi Biotec) utilizzando anticorpi coniugati a sfere magnetiche al fine di permettere la selezione positiva delle cellule sulla base di adesione alla colonna magnetica.

### **Risultati**

#### Caratterizzazione delle cellule in vitro

le cellule ottenute dal tessuto muscolare di topi controllo ed mdx costituiscono una popolazione eterogenea composta da fibroblasti, adipociti, mioblasti e cellule emopoietiche. Le cellule di derivazione muscolare possono essere "arricchite" tramite la tecnica del preplating in relazione alle loro caratteristiche di adesione.

Il numero totale delle cellule (aderenti e galleggianti) diminuisce in maniera direttamente proporzionale all'aumento dell'età degli animali, sia nei controlli che nei topi mdx.

Cluster di cellule galleggianti, traslucide all'osservazione al microscopio a luce ro-

vescita sono osservate nei passaggi tardivi di preplating (pp5-pp6) dei topi giovani sia controlli che mdx. Il numero delle cellule galleggianti è lievemente maggiore nei newborn e negli mdx di 3 settimane di vita rispetto ai topi controllo di pari età.

i cloni ottenuti da muscolo di topi controllo sia da topi mdx sono in grado di differenziare in senso miogenico e di formare miotubi, dotati di capacità contrattile, sia di differenziare in senso emopoietico se posti in terreno di metilcellulosa. La capacità di formare miotubi però diminuiva all'aumentare dell'età dell'animale e questo è nettamente più marcato nel topo mdx rispetto al controllo.

Tramite l'impiego dell'analisi immunostochimica, è evidente che le cellule delle prime fasi di preplating esprimono una bassa immunopositività per la desmina ed altri markers di iniziale differenziazione miogenica (bcl2-MNF), attorno al 5-15%; mentre i preplating successivi evidenziano un netto arricchimento della componente muscolare.

In relazione a questo fatto, è da segnalare una diminuzione del numero di cellule desmino positive all'aumentare dell'età degli animali, sia controlli che mdx.

Analizzando ogni età presa in considerazione:

topi newborn mdx e controlli: presentano un numero sovrapponibile di cellule staminali di derivazione muscolare, capaci di formare cloni, di differenziare in senso miocentrico e di crescere in condizioni tipiche delle colture mieloidi (metilcellulosa). Le cellule esprimono markers neuronali e quelle esprimono markers miogenici sono in numero sovrapponibile, con una lieve dominanza di quelle miogeniche.

Topi di 2-3 settimane di vita (corrispondente nel topo mdx all'esordio della malattia): le cellule possono formare cloni,

differenziare sia in senso miocenico che mieloide; le cellule esprimono markers monogenici e quelle esprimono markers neuronali sono simili nei 2 gruppi di animali.

Nei topi di 3 mesi di età e di 6 mesi il numero globale delle cellule è nettamente ridotto, permane comunque la capacità di formare cloni, sebbene la capacità di questi di differenziare in senso miogenico e di formare miotubi sia ridotta rispetto a quella delle cellule di topi più giovani. Inoltre le cellule ottenute da topo mdx difficilmente differenziano fino alla formazione di miotubi. L'analisi immunostochimica evidenzia che nel topo mdx le cellule desmino-positivo sono "rimpiazzate" da cellule esprimono markers neuronali (nestina, beta-tubulina, neurofilamento, MAP2).

La riduzione di cellule miogeniche era, nel topo mdx, più marcata nei topi di 2-3 mesi di età rispetto a quelli di 6 mesi, forse in relazione alla fase rigenerativa della malattia.

Nelle colture ottenute da topi controllo, l'espressione di markers miogenici e di markers neurogenici era in equilibrio.

L'analisi tramite Western Blot conferma i dati immunostochimici, in particolar modo, i topi di 2-3 mesi di età (corrispondente nell'mdx, alla fase di rigenerazione delle miofibre) è evidente una marcata diminuzione dell'espressione della desmina e della miosina in rapporto all'mdx più giovane suggerendo una sorta di esaurimento della "riserva miocenica". Contemporaneamente i markers neuronali sono modestamente più rappresentati che nel topo più giovane. Nei topi controllo la diminuzione della componente miocenica è pur evidente, ma non corrisponde ad un aumento dell'espressione della componente neuronale.

Quando le cellule ottenute da topo mdx sono sottoposte a selezione tramite le sfere magnetiche con selezione positiva per

la presenza dell'anticorpo anti Sca1 (nella fase pp5) confermano quanto già descritto da Huard J et al, e cioè che le cellule Sca1 positive presentano una buona capacità di differenziare in senso miocenico. Le nostre cellule Sca1 positive aumentano l'espressione della desmina con l'aumentare dei giorni in coltura (più cellule desmino positive dopo 8 giorni in vitro rispetto a 4 giorni). Le cellule Sca1 positive hanno una scarsa capacità di differenziare in senso neuronale, nel nostro modello sperimentale.

Al contrario le cellule Sca1 negative ottenute da topo mdx newborn esprime in coltura bassi livelli di desmino positività, mentre maggiore è l'espressione di markers neuronali.

Questi dati suggeriscono che:

- anche da selezione clonale, la popolazione di cellule ottenute da muscolo è piuttosto eterogenea; queste cellule possono andare incontro a differenziazione miogenica, ematopoietica, neuronale in vitro
- nel topo mdx è evidente una sorta di "esaurimento" delle cellule di derivazione muscolare commissionate in senso miogenico, più evidente attorno ai 2-3 mesi, fase che corrisponde al tentativo di rigenerazione muscolare fisiologicamente presente nell'animale. Contemporaneamente è presente un modesto incremento dei markers neuronali espressi da tali elementi cellulari.
- La selezione positiva per Sca1 nelle cellule di derivazione muscolare dei topo mdx newborn mostra una chiara predominanza dei markers miocenici in vitro in rapporto alle cellule Sca1 negative. Al contrario queste ultime sembrano esprimere maggiormente markers di natura neuronale.

L'insieme di questi risultati suggerisce che nella popolazione di muscle-derived stem cells ottenute da topo mdx potremmo identificare 2 grossi gruppi di cellu-

le: quelle esprimono lo Stem Cell Antigen 1 (Sca 1 positive) e quelle invece negative per questo marker (Sca 1 negative).

Le cellule Sca 1 positive hanno una buona espressione di markers miogenici in vitro, che aumenta con il tempo in coltura (verosimilmente legata alla progressiva formazione di miotubi). Tale componente miogenica si esaurisce però con l'avanzare dell'età dell'animale, in relazione anche ai fisiologici processi rigenerativi in atto nel muscolo distrofico (in particolar modo attorno ai 2-3 mesi di vita)

Le cellule Sca1 negative invece hanno una bassa e stabile nel tempo espressione di markers miocenici, mentre al componente neurogenica aumenta in maniera significativa all'aumentare dell'età dell'animale.

**MICROTECNOLOGIE AL SERVIZIO DEL PAZIENTE: AUSILI PER L'INTERAZIONE TRA MEDICO E PAZIENTE**

**Cavalleri Matteo**

e-mail: theos@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 6:** Bioingegneria

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale**

Negli ultimi anni sono stati realizzati alcuni sistemi per l'identificazione automatizzata del paziente. Tali sistemi permettono di ottenere molteplici benefici, tra cui la riduzione degli errori nella somministrazione di terapie, la facilitazione e la velocizzazione dell'utilizzo del record clinico elettronico, il miglioramento delle funzioni di sicurezza e di controllo negli accessi alle informazioni riguardanti il paziente, la semplificazione della raccolta dati finalizzata al controllo di gestione. I sistemi fino ad oggi utilizzati si basano principalmente sulle tecnologie a barcode [1] e a transponder passivi [2]. Sistemi realizzati con tecnologia barcode presentano pregi relativamente al loro basso costo, ad una larga diffusione, alla facilità di realizzazione e alla elevata affidabilità di una tecnologia decennale. Di contro si rilevano delle difficoltà di interazione meccanica per soggetti disabili, unitamente ai problemi di praticità e di deteriorabilità. Per quanto riguarda la tecnologia a transponder passivi, si evidenziano i pregi della facilità di utilizzo e del costo ridotto per transponder. Di contro si rileva l'eccessiva onerosità del dispositivo che effettua la lettura del transponder passivo e la significativa emissione di energia elettromagnetica emessa dal dispositivo di lettura, energia che cresce esponenzialmente con il crescere della distanza operativa tra lettore e transponder, e che risulta il più delle volte inaccettabile rispetto alle prescrizioni normative europee per gli ambienti sanitari. [3].

Inoltre tutti i sistemi sino ad oggi realizzati non prevedono garanzie di sicurezza (ad esempio sistemi di non contraffazione) nell'identificazione del paziente. Basandosi sull'esperienza acquisita con le tecnologie wireless nel corso dei progetti di ricerca corrente 2001 "Sistema di Orientamento, Navigazione e Guida all'interno di edifici pubblici" e 2002 "Microtecnologie al servizio del paziente: ausili per l'orientamento in un istituto di

riabilitazione", si ritiene possibile realizzare un ausilio per l'interazione medico-paziente che soddisfi i criteri di sicurezza imposti dalle normative e contestualmente superi i problemi che affliggono i dispositivi esistenti.

**Obiettivi**

Con il presente progetto si propone di realizzare un prototipo di sistema di identificazione del paziente basato su tecnologie wireless in radiofrequenza, avente caratteristiche di facile interazione con l'utente, di portabilità (wearable device) e di elevata sicurezza.

**Materiali e metodi**

Attraverso l'adozione di tecnologie innovative si individueranno soluzioni che siano applicabili a comuni personal computer, evitando la necessità di predisporre costosi ed onerosi impianti ad hoc nell'ambiente (ad esempio antenne radio). In particolare verranno sperimentate microtecnologie wireless a corto raggio per consentire l'identificazione del paziente all'interno di studi medici, ambulatori, locali per l'accettazione, etc..

**Risultati attesi**

- un prototipo del sistema di identificazione
- un brevetto di Invenzione Industriale.

**Ricerche pregresse**

Il Laboratorio di Bioingegneria ha già realizzato in passato diverse apparecchiature originali. Detiene alcuni Brevetti Industriali nel campo delle tecnologie Wireless.

**Bibliografia**

- [1] Method and apparatus for the univocal and permanent connection of containers for medical use to a given patient (EU Patent n.0491900 - US Patent n. 5,508,499)
- [2] Die Folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen (DE Patent n. 197 08841 A1).
- [3] Tan KS, Hinberg I. "Effects of a wireless local area network (LAN) system, a telemetry system, and electrosurgical devices on medical devices in a hospital environment." Biomed Instrum Technol 2000 Mar-Apr;34(2):115-8

**SUPPORT VECTOR MACHINES:  
PREDIZIONE DELL'EFFETTO  
PATOLOGICO DI MUTAZIONI  
PUNTIFORMI**

**Ing. Uberto Pozzoli**  
e-mail: upozzoli@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 6**  
Bioingegneria

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale ed obiettivi**

Numerose patologie sono causate da mutazioni puntiformi la cui identificazione è necessaria per effettuare la diagnosi molecolare. In alcuni casi il gene responsabile della patologia è noto ma è comunque necessario procedere ad uno screening molecolare usualmente condotto analizzando gli esoni codificanti a partire dal DNA genomico del paziente. Nei casi in cui siano presenti uno o più geni candidati lo screening deve essere effettuato su un elevato numero di sequenze genomiche. L'identificazione di una sostituzione nucleotidica necessita inoltre di verifiche sperimentali che ne possano confermare il ruolo patogenetico. Questo si verifica in particolare nel caso di mutazioni di splicing e missenso. Inoltre, nel caso di geni espressi in tessuti poco accessibili il solo materiale biologico a disposizione è il DNA genomico del paziente e non è possibile effettuare un'analisi di espressione.

Le mutazioni puntiformi possono coinvolgere, con effetti patologici, regioni codificanti o regioni non codificanti con funzione regolatoria. L'effetto patogenetico di una sostituzione nucleotidica in una regione codificante dipende dal dominio proteico interessato e dalla sostituzione aminoacidica risultante.

Per quanto riguarda le mutazioni in regioni non codificanti si stima che il 15% di mutazioni che causano patologia nell'uomo alterino il pattern di splicing e molte di queste sono verosimilmente localizzate a livello delle sequenze introniche. Le mutazioni di splicing possono originare effetti diversi che vanno dall'esclusione di uno o più esoni dal trascritto all'attivazione di siti criptici all'inclusione di regioni introniche nel messaggio.

Ci proponiamo quindi di mettere a punto un sistema di predizione che, a partire da un gene di interesse, permetta di valutare quale sia l'effetto di sostituzioni nucleotidiche che interessino regioni im-

plicate nella regolazione dello splicing. A tal fine, mediante metodiche computazionali da noi in parte già sviluppate e applicate (Sironi et al Hum Genet, 2001; Sironi et al FEBS Lett, 2002), è possibile quantificare l'efficienza di uno splice-site valutando le probabili conseguenze di una sua mutazione in relazione alle caratteristiche della sequenza genomica circostante. Intendiamo ulteriormente affinare tali metodiche prendendo in considerazione l'effetto di elementi modulatori esonici o intronici che possano influenzare l'attività dei siti di splicing adiacenti.

La validazione dei modelli predittivi presuppone la messa a punto di sistemi sperimentali in vitro basati su PCR quantitative (Real-time PCR).

Le metodiche più utilizzate attualmente per la ricerca di mutazioni puntiformi sono rappresentate da DHPLC, DGGE, SCCP e sequenziamento diretto; esse consentono l'analisi di sequenze non più lunghe di 1000 bp, limitando quindi l'analisi ad un singolo esone e rendendo necessaria la reiterazione della procedura per ciascun esone codificante.

Intendiamo pertanto mettere a punto uno strumento in grado di indirizzare l'analisi molecolare verso quelle regioni del gene di interesse in cui sia più probabile il verificarsi di una mutazione patologica.

A questo scopo è necessario analizzare ciascun residuo nucleotidico valutando l'effetto di ogni possibile sostituzione sia in termini di variazione aminoacidica che di effetto sul trascritto.

Il primo passo è quello di stimare la probabilità di mutazione di ciascun residuo indipendentemente dall'effetto di tale mutazione. I dati di mutazione disponibili sono tuttavia affetti da una polarizzazione dovuta alla loro natura clinica, in altre parole sono relativi, nella stragrande maggioranza dei casi, a mutazioni con effetto patologico in regioni codificanti.



È dunque necessario correggere le stime tenendo conto di questa polarizzazione. Una volta ottenuta la probabilità di mutazione (mutabilità) è necessario determinarne l'effetto. Nel caso di regioni codificanti valuteremo l'affinità chimica tra il prodotto aminoacidico wild-type e quello mutato.

Per quanto riguarda l'effetto sul trascritto utilizzeremo Support Vector Machines (SVM) per classificarlo relativamente allo splicing. Si tratta di un algoritmo di classificazione che, oltre ad adattarsi ai dati in ingresso, riesce a limitare i problemi derivanti da errori nelle sequenze e dalla enorme dimensione delle stesse. Grazie alla base matematica che supporta questo metodo è possibile 'trasportare' gli input dal loro spazio vettoriale in un altro (tramite funzioni appositamente studiate) dove è più semplice effettuare una classificazione.

Attraverso l'analisi di parametri estratti da una data sequenza genomica (dunque sia mutata che wild-type) lo strumento riesce a identificare gli splice sites.

Prevediamo una validazione in silico analizzando il maggior numero possibile di geni per i quali siano già descritte mutazioni puntiformi patologiche.

Lo step finale di questo progetto è la messa a punto di un sistema integrato e altamente automatizzato che fornisca al clinico/biologo molecolare uno strumento per orientare efficacemente la ricerca di mutazioni puntiformi e la relativa interpretazione diagnostica.

**IMPLEMENTAZIONE IN AMBITO  
RIABILITATIVO PER L'ETÀ EVOLUTIVA E  
GIOVANE ADULTA DEL SISTEMA  
CLASSIFICATIVI ICF E STUDIO DI  
ASSESSMENT DEDICATI**

**Dr.ssa Borri Gabriella**  
e-mail: Borri@pl.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 7**  
Organizzazione dei servizi

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale ed Obiettivi**

**Risultati della prima fase**

Il progetto nel corso del 2002 ha affrontato questi 2 punti:

1. possibilità di implementazione in ambito clinico in un setting riabilitativo su soggetti di varia età e con condizioni diverse,
2. adattamento della classificazione alle peculiarità dell'età evolutiva.

**Attività proposta per il presente anno**

La fase di attuazione del presente anno riguarda:

- il proseguo della partecipazione al gruppo mondiale predisposto dall'OMS per l'adattamento dell'ICF al bambino (età 0-15 anni). La nostra struttura è capofila del gruppo italiano. In questo ambito si è avuto un primo incontro nel presente anno a Washington dal 12 al 16 febbraio corrente mese.
- La formazione di medici e di operatori della riabilitazione all'utilizzo della classificazione generale e dell'adattamento al bambino,
- La predisposizione di strumenti informatici finalizzati alle elaborazioni statistiche,

- La valutazione sulle modalità di applicazione dell'ICF nei flussi in corso di predisposizione in alcune regioni atte a monitorare l'intervento riabilitativo (Veneto) e socio-sanitario (Campania) sulla disabilità,
- La valutazione sulle modalità di utilizzo della classificazione per monitorare gli interventi di assistenza sociale a supporto di persone affette da disabilità croniche,
- L'applicazione di ICD-10 (International Classification of Diseases nella sua decima revisione) e dell'ICF secondo la seguente griglia:

**Risultati attesi nel secondo anno**

- Completamento del processo di revisione adattamento della versione per l'età evolutiva e avvio dei field trials
- Definizione della checklist per l'età evolutiva
- Implementazione dell'ICF in ambito di reportistica ufficiale sanitaria
- Miglioramento del percorso riabilitativo attraverso una stretta correlazione fra I.C.D. - I.C.F. e piano individualizzato di trattamento riabilitativo

Definizione di una procedura informatica di predisposizione di un flusso informativo fra servizi riabilitativi, Aziende USL e Regioni.

| casistica              | Ambito territoriale di applicazione |           |        |          |
|------------------------|-------------------------------------|-----------|--------|----------|
|                        | Veneto                              | Lombardia | Puglia | Campania |
| a) età evolutiva       |                                     |           |        |          |
| Disabilità motorie     | XX                                  | XX        | XX     | XX       |
| Disabilità cognitive   | XX                                  | XX        | XX     | XX       |
| Disabilità relazionali | XX                                  | XX        | XX     | XX       |
| Pluridisabilità        | XX                                  | XX        | XX     | XX       |
| b) età adulta          |                                     |           |        |          |
| Disabilità motorie     | XX                                  | XX        |        |          |
| Disabilità cognitive   | XX                                  | XX        |        |          |
| Disabilità relazionali |                                     |           |        |          |
| Pluridisabilità        | XX                                  | XX        |        |          |

**Obiettivi intermedi del secondo anno**

La ricerca si basa sulla applicazione della classificazione, nelle sue varie componenti (funzioni e struttura del corpo, attività e partecipazione, fattori contestuali ambientali e personali), sia all'inizio che alla fine del trattamento riabilitativo per:

- ✓ verificare l'applicabilità della tassonomia all'ambito riabilitativo ospedaliero ed extra-ospedaliero
- ✓ individuare le migliori strategie di applicazione della tassonomia ICF nei diversi contesti
- ✓ mettere a punto un programma di addestramento degli operatori coinvolti nella applicazione della tassonomia sia all'interno dell'Istituto che all'esterno le modificazioni registrate dalla tassonomia ICF
- ✓ definire di linee di correlazione fra: I.C.D., I.C.F, piano individualizzato di trattamento, necessità di interventi di assistenza integrativa e sociale

RICERCHE  
MINISTERIALI  
FINALIZZATE 2003  
(RAZIONALI)

- Studio della complessità fenotipica delle epilessie attraverso un approccio integrato di genetica, biochimica e farmacogenetica
- Studio della funzione dell'Huntingtina in *Drosophila* e in neuroni di mammifero

**STUDIO DELLA COMPLESSITÀ  
FENOTIPICA DELLE EPILESSIE:  
ATTRAVERSO UN APPROCCIO  
INTEGRATO DI GENETICA, BIOCHIMICA  
E FARMACOGENETICA**

**Prof. Emilio Clementi**  
e-mail: eclementi@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**  
Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Finalizzata

**Periodo di svolgimento**  
Dal 10/12/03 al 09/12/05

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Unità Operative e Collaborazioni**

IRCCS "Eugenio Medea"  
Bosisio Parini (LC)  
NR1 Neuroriabilitazione 1

IRCCS "Stella Maris" - Pisa  
Ospedale Fatebenefratelli e Oftalmico  
Milano

IRCCS "C. Mondino" - Pavia

IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico  
Milano

Università degli Studi di Milano-Bicocca

IRCCS "Eugenio Medea"  
Bosisio Parini (LC)  
Lab. Biologia Molecolare

Università degli Studi Federico II  
Napoli

**Obiettivi**

L'obiettivo generale è studiare gli eventuali fattori ed i co-fattori che, insieme alle mutazioni genetiche già descritte a carico di geni noti, concorrono a determinare la complessità fenotipica osservata nelle sindromi epilettiche famigliari, condizionandone la eventuale resistenza ai farmaci. A questo obiettivo concorre l'identificazione di eventuali nuove mutazioni di geni noti o nuovi geni malattia.

**Motivazione e obiettivo finale del programma**

I meccanismi fisiopatologici alla base delle sindromi epilettiche sono ancora non definiti e le attuali classificazioni sono costruite sulla scorta delle manifestazioni cliniche principali. Dati recenti indicano per molte sindromi epilettiche l'esistenza di mutazioni specifiche in canali di membrana per ioni (canali voltaggio-dipendenti al sodio, potassio, cloro) o in recettori canale (gabaergici e nicotini), o in proteine che portano a lesioni estese, con malformazione, della corteccia cerebrale. Queste osservazioni hanno portato ad una classificazione "alternativa" delle epilessie sulla base del difetto genetico sottostante. Tuttavia, nella maggioranza dei casi, uno stesso difetto genetico può essere in quadri fenotipici anche molto diversi tra loro, anche all'interno della stessa famiglia. Un ulteriore livello di complessità è legato al fatto che molti dei pazienti affetti da sindrome epilettiche (il 30% di quelle su base familiare) presenta farmacoresistenza, non chiaramente correlata alla manifestazione clinica principale, o al difetto nel gene malattia. Le ragioni di questa non corrispondenza tra quadro clinico, background genetico e resistenza ai farmaci non sono note. Una ipotesi ragionevole è che alla complessità fenotipica delle sindromi epilettiche concorrono geni di suscettibilità, cioè geni che, se mutati, portano all'espressione di proteine dalla alterata funzione.

La combinazione degli effetti biologici di queste proteine mutate con quelli dovuti al difetto nel gene malattia potrebbero originare una ampia varietà di alterazioni nella fisiologia cellulare, possibilmente alla base della complessità della presentazione clinica delle sindromi epilettiche. L'obiettivo che ci proponiamo di raggiungere è studiare gli eventuali geni di suscettibilità che, insieme alle mutazioni genetiche già descritte a carico di geni noti, concorrono a determinare la complessità fenotipica osservata nelle sindromi epilettiche famigliari, condizionandone la eventuale resistenza ai farmaci. A questo obiettivo concorre l'identificazione di eventuali nuove mutazioni di geni noti o nuovi geni malattia.

**Criteri ed indicatori per la verifica dei risultati finali raggiunti**

Il criterio che guiderà tutto lo studio e sarà indicatore della bontà dell'approccio seguito sarà l'identificazione di una associazione significativa tra mutazioni a carico di geni noti e non noti, inclusi eventuali geni di suscettibilità, e quadro clinico. Ulteriore criterio sarà la verifica degli effetti biologici delle mutazioni identificate in modelli cellulari in vitro.

**Obiettivi intermedi previsti**

1. Selezione della casistica ed analisi di mutazione e correlazione genotipo-fenotipo
2. Costituzione di biobanche da pazienti con forme selezionate delle patologie in esame
3. Analisi di SNP associati a geni direttamente o indirettamente coinvolti nelle sindromi epilettiche, scelti sulla base delle possibili alterazioni nella funzionalità cellulare ipotizzabili in base sia alla mutazione nel "gene malattia" sia ai dati clinici, inclusa la possibile farmacoresistenza.
4. Realizzazione di modelli cellulari ed animali per la caratterizzazione funzionale delle nuove mutazioni identificate nello studio genetico e clinico descritto in 1 e 2.

### **Criteri e indicatori per la verifica dei risultati intermedi raggiunti**

1. analisi del quadro clinico e dell'eventuale profilo di farmacoresistenza
2. analisi di linkage oppure di esclusione di loci (eventualmente già noti) in base al tipo e dimensione della famiglia stessa ed identificazione di mutazioni.
3. isomorfismo tra quadro clinico-strumentale e gli ipotizzabili effetti cellulari e tissutali di mutazioni in geni specifici.

### **Metodologia**

#### WP1: caratterizzazione della casistica.

La casistica di pazienti affetti dalle seguenti patologie: Epilessie tipo sindrome di West criptogenica; Epilessie tipo "mioclonica severa"; Epilessie genetiche tipo BFNC, BFIC, ADNLE e GEFS; Epilessie familiari non riconducibili a sindromi note; Epilessie sintomatiche associate a malformazioni dello sviluppo corticale su base genetica; Ritardo Mentale familiare (X-linked) sindromico verrà selezionata dalle UO1,2,3,4,5,6.

Per tutti i soggetti reclutati, e per ogni altro membro affetto della famiglia si eseguirà un prelievo di sangue per estrazione, stoccaggio di DNA e per il dosaggio dei neurotrasmettitori plasmatici (glutammato e GABA) mediante HPLC.

La casistica selezionata verrà sottoposta ad analisi di mutazione per i geni responsabili delle forme di epilessia specifiche rispetto alla diagnosi clinica.

Nei pazienti con epilessia familiare non riconducibile ad una forma geneticamente nota verrà condotto uno studio di linkage oppure di esclusione in base alle dimensioni e caratteristiche della famiglia e della forma di epilessia in esame.

#### WP2: Modelli animali e cellulari di epilessia

Si genereranno modelli sperimentali per: i) STK9; ii) KCNQ2; iii) una specifica

mutazione in KCNQ2 da noi identificata, associata ad un fenotipo clinico complesso con variabilità intrafamiliare possibilmente legata ad un'alterata omeostasi del calcio; iv) nuove mutazioni in geni malattia o in altri geni coinvolti in epilessia (identificati come da WP 1), o in geni di suscettibilità (identificati come da WP4). Lo studio delle mutazioni riscontrate si avvarrà di modelli cellulari di espressione eterologa della proteina mutata (ocociti di *X. laevis* microiniettati con il cRNA trascritto in vitro; cellule di linee neuronali trasfettate con il cDNA di interesse; UO7 ed 8). Si studieranno in particolare i seguenti parametri: resistenza alla morte cellulare per apoptosi o eccitotossicità da glutammato, ruolo del nitrossido (UO6 e 7); espressione di geni pro ed antiapoptotici, funzionalità mitocondriale, espressione di MAP chinasi attivate dallo stimolo eccitotossico (UO6); capacità di differenziare verso un fenotipo neuronale; attività ed espressione dei trasportatori per il glutammato e loro regolazione farmacologica (UO6 e 7). Le proprietà funzionali dei canali di voltaggio dipendenti e ligando dipendenti saranno studiate mediante tecniche elettrofisiologiche (voltage-patch-clamp; UO 8) e biochimiche (western blotting ed immunoprecipitazione; UO7). Il ruolo funzionale delle subunità KCNQ2 verrà approfondito in un modello murino di ablazione del gene KCNQ2 disponibile nel laboratorio dell'UO8.

#### WP3: preparazione di una biobanca.

Dal sangue di individui affetti provenienti da famiglie con forme di epilessia interessanti da un punto di vista clinico o genetico si isoleranno cellule linfoblastoidi che verranno immortalizzate con virus di Estein Barr secondo la classica procedura e conservate, dopo espansione, a -135C. Dalle linee così generate verrà preparato RNA per eventuali studi di espressione di geni specifici (UO 7).

#### WP4: analisi per polimorfismi a singola base (SNP).

I geni scelti in base alle caratteristiche indicate nell'obiettivo 5 verranno analizzati per la presenza di SNP utilizzando il sito web <http://www.ncbi.nih.gov/SNP/>. Per ciascuno degli SNP selezionati verrà sintetizzata una coppia di primers con il quale si amplificherà il DNA di pazienti suddivisi in base alle caratteristiche cliniche inclusa la farmacoresistenza (UO7).

### **Trasferibilità dei risultati e dei prodotti**

I risultati generati da questo progetto permetteranno di tradurre in termini funzionali informazioni genetiche, e quindi di legare risultati della ricerca di base con aspettative della medicina clinica. Si otterranno informazioni sul significato funzionale di geni la cui sequenza è nota ma la cui funzione rimane ignota, e, sulla base delle informazioni ottenute in modelli animali e cellulari, sarà possibile verificare la organizzazione funzionale degli stessi processi nell'uomo. La dissezione del meccanismo patogenetico alla base della patologia epilettica, e la verifica del coinvolgimento in queste patologie di alterazioni della eccitabilità neuronale e della morte cellulare programmata rappresenta la base per la possibile formulazione di strategie terapeutiche innovative. In quest'ottica sarà estremamente importante anche lo studio delle basi genetiche della farmacoresistenza.

L'estensiva analisi molecolare su pazienti con epilessia, la possibile identificazione di pattern mutazionali specifici o di nuovi geni-malattia, si tradurrà in una ottimizzazione quali-quantitativa del procedimento diagnostico in questa classe di malattie. La diffusione dei risultati conseguiti avverrà attraverso la pubblicazione su riviste internazionali ed attraverso la comunicazione a congressi scientifici.

### Base di partenza scientifica nazionale o internazionale

Le sindromi epilettiche sono disturbi a varia eziologia, con manifestazioni e prognosi eterogenee, molte delle quali hanno base genetica (1). L'analisi di famiglie con più membri affetti da differenti tipi di epilessia suggerisce pattern di ereditarietà non solo monogenica ma anche oligo- o poligenica. Tra i fattori interessati possono essere coinvolti anche geni di suscettibilità, la cui esistenza è stata recentemente provata.

Mutazioni di recettori gabaergici sono stati identificati in diverse forme di epilessie associate a convulsioni febbrili (GEFS+) (2). Le GEFS+ sono un tipico esempio di patologia complessa caratterizzata dalla compresenza all'interno della stessa famiglia di tipi epilessie sia generalizzate che focali. Gli studi finora condotti indicano che la complessità della patologia può essere correlata ad un'ereditarietà oligogenica essendo state riportate anche mutazioni in subunità di canali al sodio della famiglia SCNA (1).

Un altro gruppo di epilessie genetiche, le convulsioni famigliari neonatali benigne (BFNC), sono associate a mutazioni in subunità di canali al potassio KCNQ2-KCNQ3. I dati di letteratura più recenti dimostrano che anche in questa sindrome, in associazione alle tipiche convulsioni neonatali, si possono osservare altri differenti fenotipi epilettici (3).

Nelle altre forme di epilessia a carico di canali noti finora, quali l'epilessia notturna del lobo frontale (ADNFLE) con trasmissione autosomica dominante, dovuta a mutazioni in geni CHRNA4 e B2, non si nota una estrema variabilità fenotipica. Lo stesso dicasi per le quattro forme più comuni di epilessie generalizzate: epilessie-assenze dell'infanzia e dell'adolescenza, epilessia mioclonica giovanile ed epilessia con crisi di grande male al risveglio, che sono associate a mutazioni nei geni codificanti per i canali al cloro (1).

Anche mutazioni in geni codificanti per proteine che non svolgono funzione di canale possono essere responsabili di quadri epilettici complessi non spiegati dalla singola mutazione.

Nella sindrome di West X-linked sono stati ad ora identificati due geni, STK9 che codifica per una serin-treonin kinasi implicata nella regolazione della plasticità sinaptica neuronale, ed ARX, un gene omeotico che codifica per una proteina implicata nella migrazione neuronale tangenziale. Il quadro è ulteriormente complicato dall'osservazione che mutazioni in ARX sono coinvolte anche nell'epilessia mioclonica associata a spasticità e ritardo mentale, in varie forme di ritardo mentale sindromico e non sindromico, e nelle lissencefalie associate ai genitali ambigui.

Complessità fenotipica compare anche in epilessie secondarie a malformazioni cerebrali di origine genetica, quali lissencefalia ed eterotopia, dovute a mutazioni genetiche in geni che codificano per proteine coinvolte nei fenomeni di migrazione neuronale: LIS1, DCX, FLN1, FCMD e RELN (4).

Infine, la complessità fenotipica potrebbe essere accresciuta anche da alterazioni nei sistemi fisiologici di omeostasi del sistema di neurotrasmissione, come è stato dimostrato in pazienti affetti da epilessie parziali e generalizzate con alterazioni dei livelli plasmatici di neurotrasmettitori tra cui il glutamato. Questi dati sono compatibili con la presunta patogenesi multifattoriale di questa malattia.

La complessità e l'eterogeneità dei fattori coinvolti nella sindrome epilettica, è ulteriormente rafforzata dall'osservazione che il 30% delle epilessie su base familiare mostra farmacoresistenza.

Oltre ai geni per la multidrug resistance anche geni di suscettibilità potrebbero essere implicati in questi fenomeni.

1. Scheffer, I and Berkovic, S.F. Trends Pharmacol. Sci. 24: 428-433, 2003
2. Wallace R. H. et al., Nat. Gen. 28: 49-52, 2001
3. Singh N. A. Nat. Gen. 18: 25-29, 1998
4. Kato M. and Dobyns W. B. Hum. Mol. Gen. 12: R89-R96, 2003

### Articolazione

La ricerca si svilupperà nel corso dei due anni.

La parte clinica del progetto verrà avviata fin dal primo anno e proseguirà poi nel successivo. Consisterà nella selezione di pazienti in base al quadro clinico, neurofisiologico e neuroradiologico al fine di individuare le sottopopolazioni da indirizzare ad un eventuale studio genetico. In particolare verranno selezionati soggetti affetti da epilessie tipo sindrome di West criptogenica; epilessie tipo "mioclonica severa"; epilessie genetiche tipo BFNC, BFIC, ADNFLE e GEFS; epilessie familiari non riconducibili a sindromi note; epilessie sintomatiche associate a malformazioni dello sviluppo corticale su base genetica; ritardo mentale familiare (X-linked) sindromico. In questa fase saranno principalmente coinvolte le UO 1,2,3,4,5,6. Uno stretto confronto tra le diverse UO con compiti clinici risulta prerequisito indispensabile alla successiva riuscita del progetto.

Allo scopo verrà attuato un coordinamento presieduto dall'UO1 in quanto sita nello stesso Istituto dell'UO7 principalmente responsabile della successiva caratterizzazione genetica. Per quest'ultima saranno svolti studi di correlazione genotipo-fenotipo al fine di valutare l'associazione fra le mutazioni identificate e la variabilità fenotipica. Sarà svolta un'attenta caratterizzazione clinica e strumentale dei pazienti studiati in modo da permettere una valutazione del fenotipo e dell'eventuale farmaco-resistenza.

Allo scopo, in tutti i soggetti reclutati si realizzerà analisi di mutazione per i geni responsabili delle forme di epilessia specifiche rispetto alla diagnosi clinica; nei pazienti con epilessia familiare non riconducibile ad una forma geneticamente nota verrà condotto uno studio di linkage oppure di esclusione in base alle dimensioni e caratteristiche della famiglia e della forma di epilessia in esame.

L'analisi genetica sovraesposta verrà condotta dalle UO 2 e 7 sui campioni di sangue inviati dalle UO 1,2,3,4,5,6. Questa analisi genetica, insieme alla valutazione del quadro clinico, permetterà di selezionare quei pazienti dai quali si prepareranno linee cellulari immortalizzate da linfociti. L'organizzazione e la conservazione di questa biobanca avverrà presso l'UO7.

La validazione attraverso modelli cellulari e animali inizierà anch'essa nel primo anno. Durante il primo semestre inizierà lo studio relativo alle caratteristiche funzionali di mutazioni di già identificate in particolare a carico dei canali al potassio. Questo studio si protrarrà per 18 mesi. In particolare programiamo di eseguire un approccio integrato di tecniche di biologia molecolare, elettrofisiologia, biochimica delle proteine, e farmacologia per chiarire perché e con quali meccanismi tali mutazioni sono responsabili della malattia. Inoltre, dal momento che, oltre ad un alterato funzionamento di subunità correttamente processate ed inserite in membrana, mutazioni di canali ionici possono alterare l'espressione in membrana della proteina, interferendo con il complesso meccanismo di ripiegamento, maturazione, assemblaggio e traffico verso la membrana, ci proponiamo di dotarci degli strumenti (anticorpi, cDNAs, costrutti vari, proteine di fusione, ...) necessari studiare il traffico intracellulare delle subunità, così come alterazioni di questo possono essere indotte dalle mutazioni riscontrate.

Lo studio verrà condotto principalmente dall'UO8 in collaborazione con la UO7.

Alterati livelli di neurotrasmettitori, in particolare del glutammato, sono stati dimostrati a livello plasmatico in modelli animali di epilessia ereditaria, in pazienti affetti da epilessie parziali e generalizzate e nei loro familiari di primo grado. Nel secondo semestre del primo anno inizierà lo studio, che si protrarrà per 12 mesi, sulla funzionalità cellulare di glutammato e GABA e della funzionalità dei loro trasportatori da utilizzarsi come possibili indicatori periferici di disfunzione dei relativi sistemi neurotrasmettitoriali a livello centrale. Questi studi verranno condotti principalmente dalla UO6 in collaborazione con la UO7.

Nel secondo anno avverrà lo studio delle mutazioni di nuova identificazione possibilmente emerse dagli studi di correlazione genotipo-fenotipo, ivi inclusi i geni di suscettibilità e quelli eventualmente coinvolti nella farmaco resistenza.

Lo studio avverrà utilizzando una o più linee cellulari di derivazione neuronale. Si studieranno sia aspetti biochimici, che elettrofisiologici come descritto nel WP2. Questi studi verranno condotti in stretta coordinazione nelle UO 6,7,8.

Nei modelli cellulari portatori di mutazioni responsabili di epilessia familiare verranno analizzate inoltre l'attività e l'espressione dei trasportatori di glutammato (la cui presenza è già stata dimostrata dal nostro gruppo in linee di neuroblastoma umano SH-SY5Y), nonché la loro regolazione farmacologica. Verrà inoltre studiata la funzionalità mitocondriale, l'attivazione di pathways pro ed antiapoptotici e di proteine appartenenti alla famiglia delle MAP-kinasi (in particolare p38 e JNK). Tali parametri verranno analizzati sia a livello basale, che dopo esposizione delle cellule a stimoli eccitotossici e/o eccitoprotettivi. Questi studi verranno condotti essenzialmente dall'UO6.

Lo studio del prodotto della proteina mutata nel suo contesto naturale neuronale è un passo di fondamentale importanza per la caratterizzazione delle conseguenze funzionali indotte da mutazioni responsabili di canalopatie neurologiche umane. Pertanto, oltre all'espressione in cellule non-neuronali, ci proponiamo, nel secondo anno, di allestire colture neuronali embrionali o post-natali da specifici ceppi di topi geneticamente-modificati e mancanti dell'espressione costitutiva alcuni dei geni mutati nei quadri sindromici epilettici di interesse genetico clinico. In tali neuroni sprovvisti del gene d'interesse, le proteine mutate potranno essere reintrodotte utilizzando tecniche di espressione eterologa mediante vettori virali o non-virali. Questi studi verranno condotti essenzialmente dall'UO8.

### Output del programma

Il programma prevede di generare i seguenti elementi utili alla comunità scientifica.

1. Pubblicazione di lavori scientifici,
2. un miglior inquadramento clinico delle sindromi epilettiche ed una maggior conoscenza dei meccanismi patogenetici attraverso la definizione di protocolli di analisi sistematica delle sindromi epilettiche,
3. Generazione di una biobanca cellulare e di mRNA da pazienti con sindrome epilettica da utilizzarsi al fine di studi di espressione dei singoli geni coinvolti.



**STUDIO DELLA FUNZIONE  
DELL'HUNTINGTINA IN DROSOPHILA E  
IN NEURONI DI MAMMIFERO**

**Dr. Andrea Daga**

e-mail: daga@unipd.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Finalizzata

**Periodo di svolgimento**

Dal 10/12/03 al 09/12/05

**Polo Scientifico:** Conegliano

**Unità Operative e Collaborazioni**

Università degli Studi di Milano

IRCCS "E. Medea" di Conegliano

**Obiettivi**

Ci si propone di identificare le funzioni e i bersagli molecolari ancora ignoti della htt normale allo scopo di descrivere quali di questi vengono modificati o alterati dalla presenza della mutazione.

**Motivazione e obiettivo finale del programma**

Gli obiettivi di questo progetto sono:

1. comprensione delle funzioni della huntingtina normale
2. un'analisi genomica basata sull'uso di DNA microarrays per l'identificazione di geni che interagiscono con D-htt

**Criteri ed indicatori per la verifica dei risultati finali raggiunti**

Pubblicazioni

Linee cellulari ed animali utilizzabili per lo studio della huntingtina umana e di Drosophila

Identificazione di geni che collaborano alla funzione della huntingtina

**Obiettivi intermedi previsti**

Pubblicazioni e comunicazioni a congressi

Generazione di alleli "loss and gain of function" per il gene huntingtina di Drosophila.

Determinazione della funzione dell'huntingtina di Drosophila

Determinazione della funzione dell'huntingtina di mammifero

Criteri e indicatori per la verifica dei risultati intermedi raggiunti

I risultati intermedi (1° anno di attività) saranno verificati in un incontro tra le unità, nell'ambito del quale saranno presentati i dati sperimentali ottenuti. Tali

dati saranno quantificabili come numero di abstracts da sottomettere a Congressi, eventuali manoscritti in preparazione o già inviati per la pubblicazione, applicazioni per brevetti.

**Metodologia**

Saranno generate Drosophilae transgeniche che sovraesprimono la htt normale e Drosophilae transgeniche nelle quali l'espressione della htt è stata eliminata, e l'analisi molecolare e genetica dei fenotipi osservati negli animali transgenici. La funzione della huntingtina sarà studiata utilizzando le numerose tecniche genetiche e molecolari che la Drosophila offre. In particolare gli obiettivi prefissi sono:

1) la generazione di alleli "loss of function" nel gene htt di Drosophila per capire quali processi cellulari siano danneggiati dalla mancanza della proteina da esso codificata. Questi alleli saranno generati preferenzialmente utilizzando la tecnologia della "RNA interference".

2) la generazione di alleli "gain of function", ovvero l'analisi delle conseguenze dovute alla sovraespressione della huntingtina. Numerosi studi hanno infatti dimostrato come spesso sia possibile interferire con il processo biologico in cui un gene è coinvolto semplicemente producendo in vivo una quantità di prodotto genico molto più elevata del normale. Anche in questo caso, eventuali fenotipi osservati potranno aiutare a collocare la htt in un particolare processo biologico.

Inoltre, la disponibilità dell'intera sequenza del genoma di Drosophila consentirà un'analisi genomica basata sull'uso di DNA microarrays, per scoprire i geni la cui espressione è modificata in conseguenza alle variazioni dell'attività della D-htt causate nell'animale in vivo dalle mutazioni da noi generate.

I geni così identificati possono a buon diritto essere considerati importanti per la

funzione del gene di nostro interesse, ed eventuali omologhi presenti nel genoma umano potrebbero rappresentare nuovi geni candidati alla modulazione del fenotipo Huntington.

Saranno utilizzate linee cellulari di topo normale ottenute immortalizzando cellule primarie prelevate da nucleo striato di cervello di topi wild-type allo stadio embrionale E18; queste cellule hanno quindi due copie di huntingtina normale, ciascuna con 7 ripetizioni CAG tipiche del gene di topo. Sono inoltre disponibili cellule di una linea striatale di ratto, cellule ST14A, che esprimono antigeni e caratteristiche di neuroni striatali nelle quali l'htt sana è presente nella dose allelica normale. Entrambe queste linee cellulari verranno usate come sistema per indagare il ruolo della htt wild-type nel tessuto cerebrale di mammifero, mentre fibroblasti di topo NIH3T3 costituiranno un sistema per il suo ruolo nel tessuto periferico. Mediante tecnica dell'RNA interference si induce in esse degradazione dell'mRNA della htt.

L'avvenuta deplezione del prodotto proteico verrà valutata mediante la tecnica di western blot.

Le cellule che presentano deplezione dell'htt al western blot; (II) l'espressione del gene REST (mRNA) mediante PCR semiquantitativa radioattiva e la distribuzione nucleo/citoplasmatica della proteina corrispondente mediante western blot e immunocitochimica seguita da analisi al microscopio confocale; (III) l'attività della via apoptotica caspasi dipendente mediante TUNEL assay.

Per quanto riguarda il modello cellulare di RNAi in mammifero, da queste cellule verrà estratto l'mRNA totale e usato per ibridare vetrini microchip su cui sono legate tutte le sequenze espresse di topo note e ignote (cDNA). La quantità di trascritto prodotto per ogni singolo gene nelle cellule deplete della huntingtina verrà analizzato e comparato con la quantità corrispondente nella cellula

non trattata mediante analisi statistica. Sarà data particolare attenzione soprattutto ai prodotti genici che risulteranno differenzialmente espressi, in dipendenza della mancanza dell'huntingtina normale, tra mammiferi e drosophila.

### **Trasferibilità dei risultati e dei prodotti**

È noto che i risultati dell'analisi dei microarray sia in Drosophila che nei mammiferi sono in grado di fornire un ampio background di dati utilizzabili come punti di partenza per ulteriori approfondite analisi; questo potrà ampliare le ricerche sulla malattia di Huntington e di conseguenza il materiale di supporto per gli approcci farmacoterapeutici. Inoltre i modelli di Drosophila che verranno prodotti sono innovativi e, poiché è stato dimostrato più volte che il moscerino della frutta rappresenta una tappa evolutiva chiave per lo studio della funzione di un prodotto genico, questi modelli animali potranno essere di grande utilità per tutti gli studi futuri sulla proteina huntingtina.

### **Base di partenza scientifica nazionale o internazionale**

La Corea di Huntington è una malattia neurodegenerativa trasmessa geneticamente come carattere dominante ad insorgenza ritardata e variabile. Il gene responsabile della malattia è noto e produce una proteina ubiquitaria chiamata huntingtina (htt). Nei soggetti affetti da corea di Huntington è presente un'elongazione del tratto poliglutamminico presente nella proteina normale. La htt mutata quindi differisce dalla proteina normale per la lunghezza del tratto poliglutamminico codificato dalla tripletta CAG. Da questo punto di vista la Corea di Huntington condivide lo stesso meccanismo mutazionale rilevato in altre 8 malattie neurodegenerative (SCA 1, 2, 3, 6, 7, 17, DPRLA, SBMA) pur presentando

un fenotipo specifico e distintivo. Ciò che distingue le diverse malattie da espansione di CAG è la proteina nella quale è presente l'espansione. La funzione normale delle proteine implicate nelle malattie da espansione di CAG è per lo più ignota: questo pone un ostacolo importante al chiarimento dei meccanismi patogenetici e allo studio di possibili strategie terapeutiche (La Spada AR & Taylor JP, Neuron 38: 681-684, 2003).

La conseguenza della mutazione nella htt è la degenerazione dei neuroni striatali che proiettano al globo pallido laterale e alla parte reticolata della substantia nigra.

La dominanza genetica della malattia e evidenze sperimentali indicano che la malattia è verosimilmente provocata da una "gain of function" da parte della proteina mutata. Recenti studi suggeriscono tuttavia che anche la modifica della funzione della htt normale, come la perdita della funzione neuroprotettiva, possa costituire un meccanismo patogenetico importante. Precedenti studi sulla htt normale hanno dimostrato che una possibile funzione fisiologica dell'htt è promuovere la sopravvivenza cellulare (Rigamonti et al., 2000 e 2001). Inoltre la htt normale supporterebbe la produzione di un BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor), un fattore neurotrofico essenziale per la sopravvivenza dello striato (Zuccato et al., 2001).

Dato che spesso la ricerca della funzione di prodotti genici è difficile negli animali superiori, in questo progetto useremo un modello animale di indagine più semplice, la Drosophila Melanogaster, che servirà da riferimento per studi che successivamente verranno condotti in modelli murini di patologia o nel paziente. La Drosophila è stata largamente utilizzata come modello per lo studio di malattie neurodegenerative. In particolare, è stato osservato che in Drosophila l'espressione di poliglutammina e di htt contenente un numero patologico di re-

sidui glutaminici può causare degenerazione neuronale e che questa degenerazione presenta caratteristiche istopatologiche analoghe a quelle di modelli di mammifero di Corea di Huntington. Inoltre, il modello in *Drosophila* di Corea di Huntington è stato sfruttato con successo per identificare geni che possono influenzare positivamente o negativamente la neurodegenerazione causata da poliglutamina.

Il modello animale in *Drosophila* potrebbe ora essere sfruttato per approfondire il ruolo fisiologico della htt normale, e per identificare le molecole coinvolte nelle vie metaboliche nelle quali htt è attiva. Lo sviluppo contemporaneo di simili studi in cellule striatali umane permetterebbe poi di poter disegnare con maggior precisione i parallelismi tra funzione svolta dalla htt nel moscerino e nei mammiferi.

### Articolazione

Il progetto proposto prevede la collaborazione di 2 Unità Operative, entrambe con una notevole esperienza e ampie competenze in biologia molecolare e genetica, in particolare nella creazione ed analisi di modelli animali di malattie genetiche umane. L'Unità Cattaneo, inoltre, rappresenta uno dei gruppi di ricerca più conosciuti a livello internazionale per quanto riguarda gli studi sull'huntingtina.

Ruolo di ogni Unità Operativa nella realizzazione del progetto:

IRCCS "E. Medea" Polo di Conegliano: il contributo di questa U.O. sarà la generazione di alleli "gain of function e loss of function" per l'huntingtina di *Drosophila*; l'analisi molecolare e genetica dei fenotipi prodotti da tali alleli.

U.O. Cattaneo: il contributo di questa U.O. sarà: lo studio delle conseguenze della modulazione della espressione di htt in cellule di *Drosophila* e in linea striatale murina mediante soppressione (RNAi) o sovraespressione; caratterizzazione dei modelli cellulari e animali a livello morfo-fisiologico e biochimico-molecolare e identificazione dei bersagli molecolari dell'huntingtina normale nei modelli animali e cellulari prodotti.

La comparazione dei risultati ottenuti con i due approcci permetterà una visione in prospettiva filogenetica della funzione della htt e delle vie metaboliche nelle quali essa gioca un ruolo chiave.

### Output del programma

- 1) Linee transgeniche di *Drosophila* con livelli modulati di espressione di D-htt
- 2) Linee cellulari murine striatali con livelli modulati di espressione di htt
- 3) Anticorpi anti D-htt
- 4) Geni identificati come interagenti con D-htt

RICERCHE  
MINISTERIALI  
MALATTIE  
NEURODEGENERATIVE

EX-ARTICOLO 56 LEGGE  
FINANZ. 2003  
(RAZIONALI)

**Unità Operative IRCCS “E. Medea”  
- in ricerche Capofila altri Enti**

- La riabilitazione del bambino con malattie neurovegetative - Capofila IRCCS Bambin Gesù - U.O. Medea Polo Scientifico di San Vito al Tagliamento - Responsabile dott.ssa Monica Cazzagon
- Il ruolo della diagnosi precoce nell'evoluzione del disturbo cognitivo delle demenze e nella valutazione della risposta ai trattamenti: strategia integrata finalizzata alla validazione di protocolli innovativi diagnostico-terapeutici - U.O. Medea - Polo Scientifico di Bosisio Parini - Capofila IRCCS S. Lucia Responsabile prof. Carlo Ferrarese
- Studio multidisciplinare in alcune malattie neurodegenerative con demenza: diagnosi precoce ed evoluzione clinica, neuroimaging, trattamenti terapeutici farmacologici e validazione dei percorsi riabilitativi motori e cognitivi, ricerche eziopatogenetiche biologico-molecolari nell'uomo e in modelli animali - Capofila IRCCS Don Gnocchi - U.O. Medea - Polo Scientifico di BosisioParini - Responsabile prof. Carlo Ferrarese

**LA RIABILITAZIONE DI BAMBINI CON MALATTIE NEURODEGENERATIVE (IN PARTICOLARE SINDROMI ATASSICHE E DISTONICHE):**

**PROTOCOLLI DI VALUTAZIONE E RIEDUCAZIONE FUNZIONALE PER REINSERIMENTO SOCIALE**

**Ente Capofila:** Irccs Bambin Gesù  
Roma

**Responsabile del progetto**

Dr. Di Rosa Giuseppe

**Unità Operativa**

Irccs Eugenio Medea  
Polo di Pesian di Prato

Dr.ssa Monica Cazzagon  
e-mail: monica.cazzagon@pp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**

Riabilitazione neuromotoria  
e neuropsicologia funzionale

**Tipo di Ricerca**

Malattie Neurodegenerative  
ex art 56 legge finanziaria 2003

**Periodo di svolgimento:** 2005 - 2007

**Polo scientifico**

San Vito al Tagliamento (Pn)

**Obiettivo finale del contributo al programma dell'U.O. IRCCS "E. Medea"**

**Obiettivo finale del contributo del programma**

Revisione e analisi della letteratura scientifica relativa alle procedure di valutazione e di trattamento dei disturbi della stabilità (equilibrio) posturale nei soggetti in età evolutiva con quadri di alterazione funzionale o strutturale del S.N.C.

Definizione di profili posturografici del controllo posturale in stazione eretta differenziati per sesso e per età dai 3 ai 12 anni con scansioni annuali per ottenere delle curve normative confrontabili con quelle riportate in letteratura.

Stesura di un protocollo di valutazione comparativa clinico funzionale e posturografica del ruolo svolto dal disturbo del sistema oculomozione visione e dell'interazione visu-vestibolare nel contribuire a determinare il disturbo dell'equilibrio caratteristico delle forme atassiche.

**Criteri e indicatori per la verifica dei risultati finali raggiunti**

Punti 2 e 3:

- Verifica della coerenza statistica tra dati clinici, funzionali e strumentali sia nei bambini sani che affetti da Sindromi atassiche

**Obiettivi intermedi previsti**

**Obiettivi**

Reclutamento e valutazione neuropsicologica di pazienti DS e di controlli di pari età e grado di ritardo mentale.

Analisi degli aplotipi mitocondriali e del genotipo ApoE, valutazione del danno del DNA mitocondriale, del trasporto di glutammato, studio di markers di stress ossidativo, di difesa andiossidante e di infiammazione in plasma, linfociti e colture di fibroblasti dei pazienti.

Studio della relazione tra i predetti parametri biologici, i profili neuropsicologici e la risposta ai trattamenti.

**Criteri e indicatori per la verifica dei risultati intermedi raggiunti**

- Capacità di reclutamento, accuratezza diagnostica e gestione della casistica
- Validazione della Dementia Scale of Down Syndrome per la valutazione del deterioramento cognitivo in pazienti con preesistente ritardo mentale
- Ricerca di alterazioni biochimiche su un'ampia casistica di pazienti
- Dimostrazione di correlazioni e rapporti di causalità tra i vari meccanismi biologici.

**IL RUOLO DELLA DIAGNOSI PRECLINICA NELL'EVOLUZIONE DEL DISTURBO COGNITIVO DELLE DEMENZE E NELLA VALUTAZIONE DELLA RISPOSTA AI TRATTAMENTI:  
INDIVIDUAZIONE DI UNA STRATEGIA INTEGRATA FINALIZZATA ALLA VALIDAZIONE DI PROTOCOLLI INNOVATIVI DIAGNOSTICO-TERAPEUTICI**

**Ente Capofila:** Irccs S. Lucia - Roma

**Responsabile del progetto**  
Prof. Carlo Caltagirone

**Unità Operativa**  
IRCCS "E. Medea"  
Prof. Carlo Ferrarese  
e-mail: carlo.ferrarese@unimib.it

**Linea di Ricerca n. 5**  
Neurobiologia

**Tipo di Ricerca**  
Malattie Neurodegenerative  
ex art 56 legge finanziaria 2003

**Periodo di svolgimento:** 2004 - 2006

**Polo scientifico:** Bosisio Parini

### **Obiettivo finale del contributo al programma dell'U.O. IRCCS "E. Medea"**

Tutti i soggetti Down (DS), a partire dalla terza-quarta decade di vita, presentano gli stessi marker neuropatologici della malattia di Alzheimer (AD) e nella maggior parte dei casi sviluppano demenza. Ne consegue che la sindrome di Down può costituire un utile modello per studiare i meccanismi patogenetici dell'Alzheimer in una condizione pre-clinica.

Su queste basi, obiettivi principali della nostra unità saranno: 1) studio del profilo clinico-neuropsicologico, neuroradiologico, genetico e biochimico di soggetti DS e confronto con quello di altre forme precliniche (MCI) e cliniche di demenza su base degenerativa (in particolare l'AD), allo scopo di identificare fattori predittivi dello sviluppo di demenza; 2) studio di markers biologici, in relazione ad evoluzione clinica e risposta al trattamento in tali pazienti.

### **Criteri e indicatori per la verifica dei risultati finali raggiunti**

Ricerca dell'incidenza nel campione DS di alterazioni cognitive tipiche dell'AD.

Ricerca di correlazioni tra markers biochimici periferici, profilo neuropsicologico, neuroradiologico e genetico.

Studio dell'assetto biochimico/neuropsicologico prima e dopo trattamento con farmaci antiossidanti.

Comunicazioni a congressi internazionali e pubblicazioni su riviste indicizzate.

### **Obiettivi intermedi previsti**

#### **Obiettivi**

Reclutamento e valutazione neuropsicologica di pazienti DS e di controlli di pari età e grado di ritardo mentale.

Analisi degli aplotipi mitocondriali e del genotipo ApoE, valutazione del danno del DNA mitocondriale, del trasporto di glutammato, studio di markers di stress ossidativo, di difesa antiossidante e di infiammazione in plasma, linfociti e colture di fibroblasti dei pazienti. Studio della relazione tra i predetti parametri biologici, i profili neuropsicologici e la risposta ai trattamenti.

### **Criteri e indicatori per la verifica dei risultati intermedi raggiunti**

- Capacità di reclutamento, accuratezza diagnostica e gestione della casistica
- Validazione della Dementia Scale of Down Syndrome per la valutazione del deterioramento cognitivo in pazienti con preesistente ritardo mentale
- Ricerca di alterazioni biochimiche su un'ampia casistica di pazienti
- Dimostrazione di correlazioni e rapporti di causalità tra i vari meccanismi biologici.

**STUDIO MULTIDISCIPLINARE IN ALCUNE MALATTIE NEURODEGENERATIVE CON DEMENZA: DIAGNOSI PRECOCE ED EVOLUZIONE CLINICA, NEUROIMAGING, TRATTAMENTI TERAPEUTICI FARMACOLOGICI E VALIDAZIONE DI PERCORSI RIABILITATIVI MOTORI E COGNITIVI, RICERCHE EZIOPATOGENETICHE BIOLOGICO-MOLECOLARI NELL'UOMO E IN MODELLI ANIMALI**

**Ente Capofila:** Irccs Don Gnocchi di Milano

**Responsabile del progetto**  
prof. Raffaello Nemni

**Unità Operativa**  
Irccs Eugenio Medea  
Prof. Carlo Ferrarese  
e-mail: carlo.ferrarese@unimib.it

**Linea di Ricerca n. 5**  
Neurobiologia

**Tipo di Ricerca**  
Malattie Neurodegenerative  
ex art 56 legge finanziaria 2003

**Periodo di svolgimento:** 2004 - 2006

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

### **Obiettivo finale del contributo al programma dell'U.O. IRCCS "E. Medea"**

Lo studio mirerà ad individuare nuovi markers biologici che permettano la diagnosi precoce di malattia, confermando nei pazienti le alterazioni funzionali e molecolari del sistema glutammatergico (trasportatori di glutammato) che conducono al fenomeno eccitotossico e alla conseguente degenerazione neuronale. In questi pazienti i fondamentali meccanismi biochimici e molecolari di danno cellulare saranno verificati in tessuti periferici facilmente reperibili (linfociti e piastrine); in essi i processi ossidativi, eccitotossici, basali e dopo somministrazione in vitro di glutammato e beta-amiloide, i meccanismi apoptotici e di danno mitocondriale saranno studiati anche in relazione ai sottotipi clinici, alla quantificazione del deterioramento cognitivo, ai dati di neuroimaging funzionale e della risposta terapeutica. Differenti vie di traduzione del segnale (p38, JNK, ERK 1/2 e AKT) saranno indagate nei linfociti o nei fibroblasti dei pazienti al fine di individuare specifici targets terapeutici per le differenti neuropatologie. A tale scopo saranno indagate anche eventuali correlazioni tra le differenti tipologie di demenza e il release di citochine (i.e. IL4, IL6, TGF- $\beta$ ,...) sia a livello basale sia dopo la stimolazione con LPS. Queste indagini vertranno inoltre ad indagare il rapporto, sempre più emergente, tra infiammazione e demenza.

### **Criteri e indicatori per la verifica dei risultati finali raggiunti**

Identificazione di markers biomolecolari di malattia e stretta integrazione tra studi biomolecolari e valutazioni cliniche. Evidenza, mediante l'analisi delle vie di traduzione del segnale, di fattori associati alla patologia che potrà permettere la messa a punto di nuovi metodi di diagnosi o di predittività d'interesse anche per le industrie sanitarie nazionali.

### **Obiettivi intermedi previsti**

#### **Obiettivi**

Capacità di reclutamento e selezionamento della casistica. Conferma delle valutazioni biochimiche inerenti la funzionalità dei trasportatori di glutammato e relative analisi molecolari. Studi molecolari e biochimici di patterns di traduzione del segnale per differenziale le demenze prese in esame. Identificazione di modelli e markers periferici per le diverse patologie studiate, utilizzabili come nuovi targets terapeutici e per la messa a punto di metodi diagnostici e prognostici.

### **Criteri e indicatori per la verifica dei risultati intermedi raggiunti**

Capacità di reclutamento di una diversificata casistica, accuratezza diagnostica e gestione di pazienti reclutati. Conferma delle alterazioni biochimiche su una significativa casistica di pazienti.

Studio biochimico e molecolare di MPA-Kinase, in condizioni basali e dopo esposizione di glutammato e beta-amiloide. Dimostrazione di correlazioni e rapporti di causalità tra i vari meccanismi biologici. Individuazione di markers periferici.

## RICERCHE MINISTERIALI CORRENTI 2004 (RAZIONALI)

- Caratterizzazione genetica delle epilessie idiopatiche: studio di un'ampia casistica afferente all'Istituto
- Disordini oculomotori nel Cerebral Visual Impairment (C.V.I.): proposta di un criterio classificatorio con valore prospettico in un campione di 100 soggetti affetti da CVI
- Leucoencefalopatie genetiche: studio clinico-neuroradiologico e genetico
- Studio dello sviluppo della specializzazione emisferica e delle competenze comunicative in soggetti nati pretermine
- La percezione nella Sindrome di Williams: dai processi ai correlati neurofunzionali (Fase 1: sperimentazione di un protocollo di valutazione originale con prove computerizzate)
- Applicazione di materiali a memoria di forma per ortesi in neuroriabilitazione
- Protocolli di valutazione e trattamento riabilitativo nelle patologie reumatiche croniche del bambino
- Lesioni cerebellari e turbe cognitivo-comportamentali: studio nei tumori della fossa cranica posteriore in età evolutiva
- Plasticità neuronale nei soggetti con cerebrolesioni acquisite: pattern di attivazione cerebrale alla Risonanza Magnetica Funzionale in pazienti con differente outcome cognitivo dopo trauma cranico
- Variabilità fenotipica inter - e intra-familiare nell'Osteogenesi Imperfecta: identificazione di loci modificatori, correlazione genotipo-fenotipo e valutazione di potenziali target molecolari per un approccio farmacologico alla terapia
- Induzione dell'attività osteoblastica in vitro ed in vivo di soggetti con osteogenesi imperfetta con fratture complesse o pseudoartrosi mediante l'utilizzo di matrici di supporto a base PCL ed acido ialuronico
- Basi genetiche dell'Autismo e correlazione con la dimensione clinico funzionale: un modello di intervento per la salute mentale
- Impulsività come tratto psico-biologico trans-diagnostico: studio dei determinanti genetici serotoninergici
- Disturbo dell'attenzione selettiva nella dislessia evolutiva: un'ipotesi colinergica
- L'attaccamento in un campione di bambini maltrattati
- Studio delle competenze comunicative pragmatiche in pazienti con Agenesia del corpo calloso
- Valutazione della pragmatica linguistica nei bambini con SLI
- Effetti del trattamento riabilitativo nei bambini affetti da disfasia con o senza anomalie parossistiche nel sonno N-REM
- Caratterizzazione strutturale, tramite NMR, dell'interazione in vitro tra Calmodulina e KCNQ2, un canale al potassio mutato nelle epilessie famigliari benigne
- Utilizzo del nitrossido come mezzo farmacologico per ottimizzare le terapie cellulari delle distrofie muscolari
- Stress ossidativo e difese antiossidanti in cellule periferiche di pazienti con Sindrome di Down e malattia di Alzheimer
- Analisi mediante modello animale (*Drosophila melanogaster*) della funzione dei geni spastina (SPG4) e atlastina (SPG3a)
- Meccanismo patogenetico del danno cellulare indotto da mutazioni puntiformi in geni strutturati del mtDNA: uno studio in vitro
- Studio della tossicità del beta amiloide nelle cellule neuronali: ruolo del nitrossido d'azoto (NO), di ceramide e di p 75 nell'induzione della morte neuronale in patologie neurodegenerative



- Cinetiche di rimozione degli introni del gene DMD: rilevanza per meccanismi fisiologici e patologici di splicing
- Valutazione del reclutamento fisiologico di cellule staminali circolanti da parte del tessuto muscolare
- Telemonitoraggio di pazienti domiciliari con patologie critiche (T-DoPa)
- Implementazione di algoritmi Support Vector Machines per la predizione dell'effetto patologico di mutazioni puntiformi
- Sviluppo e sperimentazione sul campo di un adattamento per l'età evolutiva della classificazione dell'ICF

Creazione di strategie di intervento e di protocolli internazionali comuni nella Riabilitazione delle Disabilità Neuropsichiche Complesse dell'Età Evolutiva

**CARATTERIZZAZIONE GENETICA DELLE  
EPILESSIE IDIOPATICHE:  
STUDIO DI UN'AMPIA CASISTICA  
AFFERENTE ALL'ISTITUTO**

**Dr. Renato Borgatti**  
e-mail: borgatti@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 1**  
Neuropatologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Collaborazioni**

IRCCS Stella Maris - Pisa

IRCCS Mondino - Pavia

Università INSUBRIA - Varese

Dipartimento di Biochimica dell'Università Brescia

La presente ricerca rappresenta il proseguo della ricerca corrente 2003 dal titolo "Caratterizzazione genetica delle epilessie idiopatiche: studio di un'ampia casistica afferente all'Istituto"

Nel corso della precedente ricerca sono state individuate 25 famiglie interessanti dal punto di vista clinico per la ricorrenza di epilessia. In particolare tra le famiglie selezionate ci si è concentrati sullo studio di due famiglie con convulsioni benigne neonatali famigliari (BFNC) che associavano alle tipiche crisi neonatali altri tipi di epilessia (una encefalopatie epilettica farmacoresistente) o altre manifestazioni neurologiche (convulsioni febbrili e crisi di emicrania con aura). Mentre lo studio genetico funzionale di una delle due famiglie è stato concluso ed è oggetto di pubblicazione (Borgatti et al. *Neurology* 2004) per l'altra famiglia lo studio sarà completato nel corso di questo secondo anno di ricerca.

Verranno inoltre studiate una serie di famiglie dove ricorre in più membri una epilessia ad esordio precoce classificabile come Sindrome di West. Per ognuna di queste famiglie (attualmente ne sono state reclutate 5) verranno ricercate possibili mutazioni a carico dei geni STK9 e ARX.

- Mutazioni del gene ARX sono state identificate in 9 famiglie con RM (sindromico e aspecifico) e diverse forme di epilessia, come gli spasmi infantili, le crisi miocloniche e distonie. Due mutazioni ricorrenti, presenti in sette famiglie, risultano dall'espansione dei tratti di polialanina della proteina ARX. Inoltre sono state identificate una "misense mutation" all'interno dei domini di ARX, e una "truncation mutation". Rimane comunque difficile da spiegare la variabilità fenotipica associata con la mutazione ARX (RM da lieve a profondo, spasmi infantili, epilessia mioclonica e distonia periferica) anche se la delezione sembra avere effetti più gravi rispetto alle due muta-

zioni poliA, con spasmi infantili più precoci, crisi miocloniche, grave RM e grave disabilità neurologica.

- Il gene STK9 è un nuovo locus per ISSX, ed è il secondo gene implicato negli spasmi infantili. Il gene STK9, presente in diversi tessuti tra cui encefalo fetale ed adulto, codifica una protein-kinasi, della cascata delle MAP kinasi, importanti regolatori della plasticità sinaptica neuronale. Mutazione di questo gene sono state descritte in due pazienti con identico fenotipo (spasmi infantili gravi ad esordio precoce, grave arresto di sviluppo, ipsaritmia e grave ritardo mentale), suggerendo che la perdita della proteina funzionale STK9 causa grave ISSX e che il STK9 è il secondo locus per le WS/ISSX x-linked

Inoltre con l'obiettivo di testare come possibili "geni malattia" alcuni geni di recente identificazione che codificano per proteine coinvolte nel processo di migrazione neuronale nel nostro laboratorio abbiamo isolato tramite esperimenti mediante la tecnica del "doppio ibrido" 10 cloni possibili interattori di doublecortin.

In questo primo anno di ricerca sono stati studiati i primi due cloni, ARA9 e ABP620, precedentemente identificati. Di ciascuno di essi è stata clonata la sequenza codificante completa in due tipi di vettore di espressione che portano come TAG per l'identificazione con anticorpi l'epitopo MYC e l'epitopo HA (emoagglutinina). Con entrambe le proteine portanti l'epitopo MJC e l'epitopo HA all'NH2 terminale sono stati eseguiti esperimenti di colocalizzazione con la proteina doublecortin e di immunoprecipitazione in cellule COS.

I risultati ottenuti indicano che la co-espressione di DCX con ciascuno dei due interattori (separatamente) seguita da analisi di localizzazione è caratterizzata da un alto grado di co-localizzazione di DCX e ABP620, soprattutto per quanto riguarda il citoscheletro.

Al contrario, per ARA9 si osserva solo una parziale co-localizzazione con la proteina DCX, limitata alla periferia cellulare. Esperimenti di coimmunoprecipitazione eseguiti con entrambe le proteine confermano i risultati ottenuti a livello cellulare. I dati di immunoprecipitazione ottenuti e la co-localizzazione subcellulare tra DCX ed i due interattori permette di ipotizzare un coinvolgimento dei due interattori nella migrazione neuronale e nella determinazione di altre forme di lisencefalie per le quali non sono state ancora identificate mutazioni.

Nel prossimo anno esperimenti di coespressione e colocalizzazione verranno inoltre effettuati anche in altre linee cellulari, ad esempio di origine neuronale (SHSY-5Y). Verrà definita la struttura genomica dei due geni corrispondenti agli interattori sopradescritti e verrà condotto uno screening di mutazioni sul DNA dei pazienti mediante sequenziamento e DHPLC.

A questo proposito continua la individuazione e classificazione di pazienti portatori di malformazioni dello sviluppo corticale. Dei 173 soggetti sin qui individuati 81 presentano un quadro clinico classificabile come difetto di migrazione e per 42 le cause attualmente note (genetiche e non) sono state testate ed escluse. Quest'ultimo gruppo di pazienti può essere pertanto considerato il gruppo dal quale successivamente individuare i pazienti sui quali testare "geni candidati" eventualmente individuati al termine della presente ricerca.

### Trasferibilità

Questo progetto è stato ideato con l'obiettivo di individuare nuovi geni responsabili di malformazioni dello sviluppo corticale. La loro identificazione può migliorare le nostre conoscenze rispetto ai meccanismi che regolano nell'uomo lo sviluppo e la migrazione dei neuroni e consentire in soggetti affetti di chiarire il ruolo di possibili meccanismi patogenetico

I risultati attesi permetteranno di affinare le metodologie di inquadramento genetico per le patologie prese in esame contribuendo così ad indirizzare un corretto counselling genetico. Inoltre consentiranno di migliorare i criteri diagnostici e relativa classificazione (attualmente costruita solo su indicatori clinici).

Infine queste metodologie potranno poi essere utilizzate nell'ambito delle procedure diagnostiche e prognostiche riconosciute dal Servizio Sanitario Nazionale.

### N.5 pubblicazioni degli ultimi 5 anni inerenti il tema

Gleeson JG., Minnerath SR., Allen KM., Luo RF, Hong SE., Berg MJ, Kuzniecky R., Reitnauer PJ., Borgatti R., Mira AP., Guerrini R., Holmes GL, Rooney CM, Berkovich S., Sheffer I., Cooper EC., Ricci S., Cusmai R., Crawford TO., Leroy R., Anderman E., Whelless JW., Dobyns WB., Ross ME., Walsh CA. Characterization of mutations in the gene doublecortin in patients with double cortex syndrome. *Annals of Neurology* 1999;45(2):146-153

Borgatti R., Triulzi F., Zucca C., Piccinelli P., Balottin U., Carozzo R., Guerrini R. Bilateral Perisylvian Polymicrogyria in three generations. *Neurology* 1999; 52: 1910-1913

Guerreiro MM, Anderman 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, Anderman E. Familial Perisylvian Polymicrogyria (FPP): a new familial syndrome of cortical maldevelopment. *Ann Neurol* 2000;48:39-48

Borgatti R, Zucca C, Piccinelli P, Radice L, Tofani A, Benti R, Triulzi F: Unilateral Periventricular Nodular Heterotopia Associated With Diffuse Areas Of Cerebral Functional Abnormalities. *Journal of Child Neurology* 2000; 15: 622-626

Piccinelli P, Borgatti R, Perucca E, Tofani A, Donati G, Balottin U: Frontal Nonconvulsive Status Epilepticus Associated With High-Dose Tiagabine Therapy In A Child With Familial Bilateral Perisylvian Polymicrogyria. *Epilepsia* 2000 41(11):1485-1488

**DISORDINI OCULOMOTORI NEL  
CEREBRAL VISUAL IMPAIRMENT  
(C.V.I.): PROPOSTA DI UN CRITERIO  
CLASSIFICATORIO CON VALORE  
PROSPETTICO IN UN CAMPIONE DI 100  
SOGGETTI AFFETTI DA CVI**

**Dr. Roberto Salati**  
e-mail: salati@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 1**  
Neuropatologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Introduzione**

Il termine CVI circoscrive il danno visivo nel soggetto cerebropatico al solo aspetto sensoriale, senza fare alcun riferimento alla presenza di anomalie oculomotorie. Tuttavia in età evolutiva esiste una stretta interdipendenza tra danno visivo ed anomalie oculomotorie. Nella prima parte dello studio abbiamo selezionato un campione di 128 soggetti studiati dal punto di vista neurologico e neuroradiologico. Nella seconda parte verrà applicato un protocollo di studio originale per valutare i disturbi oculomotori associati al Cerebral Visual Impairment.

**Soggetti**

Sono stati selezionati 128 soggetti (55 Femmine e 73 Maschi) affetti da CVI all'interno della casistica di pazienti affetti al Centro Regionale di Iprovisione dell'IRCCS E. Medea di Bosisio Parini. L'età della prima valutazione è compresa tra 3 e 216 mesi (età media: 53,3 mesi). 49 soggetti (38%) sono nati a termine e 79 (62%) sono pretermine (37 settimane) con età gestazionale media di 31,8 settimane (range 24-37). Il peso neonatale medio è di 2422,2 g (range 790-4640g). Dei 128 pazienti arruolati nello studio, 109 (85%) presentano una paralisi cerebrale infantile classificata secondo i criteri di Hagberg: 85 (78,7%) come tetraparesi spastica, 12 (11,1%) come diplegia spastica, 5 (4,6%) come emiparesi spastica, 1 (0,9%) come tetraparesi distonica, 3 (2,7%) come tetraparesi mista e 4 (3,7%) come diplegia atassica; i restanti 19 soggetti presentano un quadro di ritardo psicomotorio.

Per 72 soggetti (56%) è stata posta diagnosi di epilessia sintomatica: nel 57% generalizzata (41 soggetti) e nel 43% parziale (31 soggetti).

La valutazione psicometrica ha evidenziato un livello cognitivo gravemente deficitario nella maggior parte del nostro campione: solo 14 soggetti (11%) presentano un QI tra 50 e 75 e solo 2 (1,5%) >75.

L'indagine neuroradiologica (RM encefalo) documenta in tutti i pazienti la presenza di quadri lesionali o malformativi che coinvolgono le radiazioni ottiche, la corteccia calcarina e/o le aree associative.

**Metodi**

La metodica consisterà nell'applicazione di un protocollo durante la visita oculistica che i pazienti effettuano presso il Servizio di Oculistica. Per le particolarità del disturbo studiato, lo studio della motilità oculare avverrà mediante filmato, in modo da poter essere studiato a parte.

I parametri inseriti nel protocollo saranno:

- mantenimento della fissazione
- scanning dell'ambiente
- movimenti saccadici intenzionali diretti al target: (fenomeno dell'avoiding).
- movimenti di inseguimento (smooth pursuit)
- strabismo
- nistagmo
- deviazioni parossistiche dello sguardo (paroxysmal ocular deviation).

**Finalità della ricerca:**

- Elaborare un criterio classificatorio dei disordini oculomotori nel CVI.
  - proporre un protocollo diagnostico che comprenda i disturbi summenzionati e che permetta lo studio dell'evoluitività di questi disturbi.
- Ribadiamo che un tale strumento è del tutto assente nella letteratura internazionale.

**LEUCOENCEFALOPATIE GENETICHE:  
STUDIO CLINICO-NEURORADIOLOGICO  
E GENETICO**

**Dr.ssa Maja Di Rocco**  
e-mail: medea@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 1**  
Neuropatologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Premessa**

Nell'ultimo decennio la possibilità di effettuare in modo diffuso e, talvolta, ripetuto nel tempo studi neuroradiologici nei bambini affetti da encefalopatie ad eziologia non nota, ha incrementato in modo considerevole la conoscenza della patologia della sostanza bianca. È stato così possibile sia identificare nuove malattie neurodegenerative, sia caratterizzare patologie genetiche non progressive della sostanza bianca. Peraltro, a tutt'oggi, circa il 50% dei pazienti con leucoencefalopatie rimane senza diagnosi (Dev Med Child Neurol 2001 43: 705-712.)

È noto che pazienti con sindrome 18q- presentano alterazioni neuroradiologiche della sostanza bianca (Am J Med Genet 1996,67:172-8 ;AJNR 1996 17: 1843-8) ed esistono evidenze che queste alterazioni debbano essere correlate ad aploinsufficienza del gene che codifica per una proteina "myelin basic protein" (MBP) che gioca un ruolo essenziale nella formazione della mielina nel SNC (Am J Med Genet 1997 74:422-31). In modelli animali (long evans shaker rats) mutazioni del gene MBP determinano un quadro di dismielinizzazione associato a sintomatologia neurologica (atassia, epilessia) (Neuroscience Letters 2002 330:17-20) mentre non sono mai state descritte mutazioni del gene MBP nell'uomo.

**Obiettivo**

Il progetto si pone diversi obiettivi: "in primis" la rivalutazione clinica e neuroradiologica di tutti i soggetti afferiti nel periodo 2000/2003 all'IRCCS Medea nei quali sia stata documentata una leucoencefalopatia ad eziologia sconosciuta al fine di identificare gruppi omogenei di pazienti e famiglie informative in cui procedere con ulteriori indagini biochimiche e molecolari. In particolare il progetto è mirato a selezionare casi con alterazioni neuroradiologiche simili a quelle descritte nei pazienti con sindrome 18q- ; nei quali effettuare l'analisi molecolare del gene MBP.

**Articolazione del progetto**

Si prevede di arruolare nello studio circa 120 pazienti nei quali è già stata effettuata una indagine RMN e documentata una leucoencefalopatia.

Tutte le indagini neuroradiologiche verranno rivalutate col fine di definire la localizzazione e l'estensione delle alterazioni della sostanza bianca sovratentoriale e la presenza di alterazioni infratentoriali. Verranno inoltre valutati : le alterazioni della sostanza grigia, la presenza o meno di un corpo calloso assottigliato, il coinvolgimento del cervelletto. Nel caso di RMN seriate verrà definita l'evoluitività o meno delle lesioni. In base ai dati della RMN dell'encefalo i pazienti verranno distinti in gruppi omogenei, secondo la classificazione neuroradiologica proposta da van der Knaap (Radiology 1999 213:121-133)

La rivalutazione clinica prevedrà la ricostruzione dell'albero genealogico per 3 generazioni, l'anamnesi patologica pre e post-natale, l'età d'insorgenza della sintomatologia neurologica ed il decorso clinico. Verranno inoltre acquisiti i dati relativi all'esame obiettivo neurologico, alla severità del ritardo mentale , agli esami elettrofisiologici (EEG, VNC, PEV, ABR), agli esami biochimici e alle analisi citogenetiche - e/o molecolari - già effettuate.

L'analisi molecolare del gene MBP verrà effettuata su un gruppo selezionato di casi che presentino caratteristiche neuroradiologiche compatibili con i quadri associati a delezione in 18q.

**STUDIO DELLO SVILUPPO DELLA  
SPECIALIZZAZIONE EMISFERICA  
DELLE COMPETENZE COMUNICATIVE IN  
SOGGETTI NATI PRETERMINE**

**Dr. Rosario Montiroso**  
e-mail: rosario@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 1**  
Neuropatologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Collaborazioni**

Patologia Neonatale - Ospedale "Manzoni" di Lecco e Ospedale "Buzzi" di Milano;

Facoltà di Psicologia, Università Cattolica di Milano;

Perception Laboratory School of Psychology, University of St Andrews, Scotland

Prof. Edward Tronick - Department of Society, Human Development, and Health Contact Information Boston

**Background**

La presente ricerca rappresenta il proseguimento dello studio svolto nel 2003 i cui risultati hanno permesso di documentare la presenza di asimmetrie emisferiche in bambini nati pretermine di età corretta compresa tra i 7 e 12 mesi. I dati ottenuti confermano l'ipotesi di una precoce specializzazione emisferica per quanto riguarda il linguaggio e l'espressione emozionale. In linea con lo studio di Holowka e Petitto (2002) nel corso della lallazione è stata rilevata un'asimmetria buccale destra compatibile con una maggiore attivazione dell'emisfero sinistro per le competenze linguistiche. Parallelamente durante il sorriso si è osservata un'asimmetria buccale sinistra che rifletterebbe un maggiore coinvolgimento dell'emisfero destro in associazione ai processi emozionali. Inoltre sono state rilevate differenze tra i soggetti nati pretermine e i quelli nati a termine. Tali osservazioni suggeriscono una caratterizzazione neurofunzionale distinta dei bambini prematuri rispetto ai soggetti di controllo in termini di funzionalità emisferica. Le differenze potrebbero essere dovute ad un diverso processo maturativo del SNC di questi soggetti anche in assenza di segni clinici associati (Huppi et al., 1996). Ciò rimanda alla necessità di indagare l'andamento della presenza di asimmetrie emisferiche nei soggetti pretermine facendo riferimento in modo più stringente al momento evolutivo in cui si effettuano le osservazioni. Poiché la RC2003 (vedi relazione) ha rappresentato uno studio pilota, nel corso del quale è stato necessario tra l'altro implementare uno strumento semiautomatico per l'analisi dei movimenti buccali, costituito da un software appositamente sviluppato presso il nostro Servizio di Ingegneria Clinica, occorrono ulteriori conferme ai risultati già ottenuti.

Inoltre, poiché lo studio delle asimmetrie funzionali di carattere precognitivo è connesso alle modalità intersoggettive

adottate dal bambino nella relazione con l'adulto di riferimento (Trevarthen, 1996), ai fini di uno studio approfondito delle competenze comunicative dei bambini nati pretermine appare indicato considerare tali aspetti ampliando il protocollo di indagine

**Obiettivi**

- verificare se la caratterizzazione neurofunzionale emisferica riscontrata nei soggetti pretermine è associata al grado di prematurità;
- indagare se esiste un andamento evolutivo specifico dell'asimmetria emisferica nei pretermine attraverso un confronto più stringente con soggetti di controllo suddivisi per età su base circa mensile;
- analizzare la competenza espressiva-comunicativa dei soggetti pretermine tramite un'osservazione strutturata dell'interazione madre-bambino (paradigma Still-Face).

**Soggetti**

Grazie alla collaborazione già attivata con l'Unità Operativa di Patologia Neonatale dell'Ospedale "Manzoni" di Lecco sarà possibile reclutare:

40 bambini prematuri (età gestazionale < 37° settimana) suddivisi per sesso e di età corretta compresa tra i 7 e 12 mesi, di cui:

- a) 20 soggetti a basso rischio biologico (età gestazionale > 32° settimana e peso appropriato per l'età gestazionale);
- b) 20 soggetti ad alto rischio biologico (età gestazionale < 32° settimana o peso inadeguato rispetto all'età).

Tutti i bambini dovranno presentare nella norma le seguenti indagini cliniche: esame neurologico neonatale, ecografia cerebrale, fondo dell'occhio.

Il gruppo di controllo sarà costituito da 40 bambini nati a termine, sani, suddivisi per sesso e di età compresa tra i 7 e 12 mesi.

## Metodo

La procedura sperimentale relativa allo studio delle asimmetrie emisferiche è stata descritta in dettaglio nella relazione finale Ricerca Corrente 2004. Per quanto riguarda l'analisi delle competenze comunicative ed espressivo-emozionali in relazione alle modalità intersoggettive adottate dal bambino si applicherà il paradigma Still-Face. La procedura Still-Face, che è stata ampiamente validata dalla ricerca sperimentale (Adamson e Frick, 2003) prevede la video registrazione della diade madre-bambino durante tre diverse fasi della durata di due minuti ciascuna. Nel corso della prima e della terza fase, definite rispettivamente *Play* e *Reunion*, la madre viene istruita ad interagire con il bambino come fa abitualmente a casa. Durante la fase intermedia, definita *Still*, alla madre viene data la consegna di guardare il bambino rimanendo immobile e con un'espressione neutra, senza sorridere, parlare o toccare il bambino. Uno degli scopi principali di questa consegna è produrre una condizione controllata di stress relazionale che permette di verificare la risposta emozionale del bambino.

## Bibliografia

- Adamson L.B., Frick J.E., (2003) “The Still-Face: A history of a shared experimental paradigm”, *Infancy*, 4(4), 451-473.
- Holowka S., Petitto L.A. (2002) “Left hemisphere cerebral specialization for babies while babbling”, *Science*, 297, 1515.
- Huppi P.S., Schuknecht B., Boesch C., Bossi E., Felblinger J., Fusch C., Herschkowitz N. (1996) “Structural and neurobehavioral delay in postnatal brain development of preterm infants”, *Pediatr Res* 39(5), 895-901.

**LA PERCEZIONE NELLA SINDROME DI WILLIAMS: DAI PROCESSI AI CORRELATI NEUROFUNZIONALI (FASE 1. SPERIMENTAZIONE DI UN PROTOCOLLO DI VALUTAZIONE ORIGINALE CON PROVE COMPUTERIZZATE)**

**Dr.ssa Chiara Gagliardi**  
e-mail: gagliard@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**  
Neuropatologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale ed obiettivi**

La sindrome di Williams (incidenza 1/20000 nati) costituisce un modello per lo studio delle relazioni genotipo fenotipo molto utilizzato a livello internazionale.

Numerosi gruppi hanno in corso studi sui diversi aspetti clinici, cognitivi, genetici e neuroanatomici. Presso il nostro Istituto è in corso un follow up di almeno 60 soggetti, seguiti costantemente da anni; a fianco degli aspetti clinici sono stati condotti disegni di ricerca, con collaborazioni nazionali ed internazionali. La prosecuzione degli studi nella linea di ricerca impostata consente pertanto sia l'implementazione di una considerevole massa di dati già raccolti che la impostazione di studi di follow up longitudinale che sono di grande utilità clinica e poco rappresentati in letteratura. La attivazione di collaborazioni anche internazionali è necessaria anche in considerazione della rarità della Sindrome: solo un ampliamento anche numerico delle casistiche consente di ottenere dati significativi.

Gli ultimi studi presenti in letteratura possono essere riportati all'interno di alcune linee comuni:

- definizione/descrizione delle modalità di funzionamento cognitivo e di organizzazione dei singoli processi: studi prevalentemente di tipo psicologico e cognitivo, con caso controllo, sia con altre popolazioni patologiche che con la popolazione generale, in prevalenza trasversali. Rari studi longitudinali.
- descrizione delle caratteristiche cliniche (per apparato): studi di incidenza e più raramente di andamento diacronico di patologie. Studi in prevalenza trasversali
- ricerca di correlazioni genotipo/fenotipo in ambito cognitivo con l'obiettivo di individuare i geni determinanti all'interno della regione deleta. Sono condotti basandosi in prevalenza su

soggetti con delezioni particolari; gli studi su popolazione con delezione tipica e su correlazioni di tipo clinico, condotti nell'ultimo decennio, non sono risultati particolarmente informativi

- Studio morfoanatomico cerebrale (MRI ed alcuni casi autoptici) e neurofunzionale (EP e in un singolo lavoro fMRI con indagine per le funzioni uditive) con lo scopo di individuare diversità di organizzazione strutturale che funzionale
- Linee di intervento riabilitativo (rari lavori, in prevalenza single case)

Emergono progressivamente dati che orientano verso una alterazione nella organizzazione delle strutture a partire dalla vita embrionale, con ricaduta sullo sviluppo e sulla evoluzione e con una traiettoria evolutiva anomala. All'interno di questa cornice vengono ad essere progressivamente portati i dati cognitivi, comportamentali e clinici che progressivamente vengono specificati. Aperto resta tuttora il problema della funzione e del ruolo dei singoli geni presenti nella regione.

Si propone pertanto un progetto di ricerca con l'obiettivo di:

- Definizione delle strategie cognitive utilizzate in ambito percettivo dai soggetti SW: per singoli elementi (featured) vs configurali. Individuazione dei processi e loro confronto con la organizzazione nei soggetti normodotati.
- Individuazione di modalità di attivazione anomale delle strutture cerebrali in compiti percettivi: studio delle correlazioni struttura funzione in ambito percettivo. Studio in fMRI di casi SW selezionati e confrontati con casi controllo.
- Individuazione di coinvolgimento del sistema dopaminergico nella determinazione del quadro clinico: blink rates. Studio con caso controllo (normodotati ed altre patologie)



Il progetto si articola su due anni:

nella prima fase (I anno), verranno somministrati i tests sperimentali cognitivi a tutti i soggetti SW reclutati; verranno inoltre individuati i soggetti normodotati come casi controllo. Verrà condotto lo studio del blink rate sulla intera popolazione.

Nella seconda fase (II anno) verrà condotto lo studio con fMRI e verranno completate le analisi statistiche sui dati raccolti.

#### **Stadi operativi:**

- messa a punto di un protocollo originale di valutazione per l'età evolutiva;
- messa a punto di software dedicato (sia per la somministrazione dei tests che per l'analisi dei dati).
- somministrazione del protocollo a pazienti (per classi omogenee di patologia) e a soggetti controllo (matching per età mentale ed età cronologica)
- successivo (2° anno) studio con metodiche di imaging neurofunzionali dei processi indagati

#### **Materiali e Metodi**

- Casistica e criteri di inclusione:
  - soggetti controllo :
    - anamnesi negativa
    - età > 4 anni
  - soggetti con sindrome di Williams:
    - età cronologica e età mentale > 4 anni
    - assenza di danno neuromotorio di entità tale da impedire la prova
    - assenza di disturbi percettivi specifici
    - determinazione età mentale
- prove individuate:
  - blinking rates (spontaneo o provocato)
  - Tests sperimentali mirati ad evidenziare strategie in ambito percettivo (featured vs configural) nell'analisi e riconoscimento di volti ed espressioni espresse dai volti.;
  - Tests sperimentali per attenzione visiva
- modalità di somministrazione:
  - materiale standard
  - prove computerizzate

## APPLICAZIONE DI MATERIALI A MEMORIA DI FORMA PER ORTESI IN NEURORIABILITAZIONE

**Dr.ssa Anna Turconi**  
e-mail: turconi@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**  
Riabilitazione neuromotoria e  
Neuropsicologia funzionale

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosio Parini

**Collaborazioni**  
Centri di competenza Regione  
Campania

### Razionale

Il settore dei dispositivi ortesici da utilizzare in riabilitazione per ovviare a deficit di funzione, conosce una crescita molto lenta e solo episodicamente si ha un significativo trasferimento di tecnologie. La mancanza di informazioni e competenze relativamente alle più recenti acquisizioni della ricerca sui materiali innovativi rende spesso frustrante la ricerca da parte del clinico di soluzioni più efficienti per i propri pazienti.

Un limite del settore non adeguatamente affrontato è la mancanza di elementi attuatori che possano parzialmente reintegrare le funzionalità perdute o aiutare nel processo del loro recupero.

Se infatti i componenti di tipo strutturale hanno beneficiato dell'impiego di "nuovi" materiali (leghe di alluminio e titanio) per l'alleggerimento dei dispositivi poco o nulla è stato fatto per consentirne la movimentazione.

I componenti di tipo strutturale presentano ulteriori limitazioni per la loro rigidità che se in parte viene sfruttata per compensare parte della funzione persa, dall'altra determina ulteriori limitazioni poiché la catena cinetica a cui vengono applicate tali ortesi deve sopportare un vincolo aggiuntivo.

Tipico esempio sono le ortesi per il controllo della caduta del piede durante la fase di oscillazione del passo, che con qualsiasi modalità di presa all'articolazione tibio-tarsica posteriore, laterale, anteriore o anterolaterale con i materiali in uso (plastica, fibra di carbonio) stabilizzano il piede in posizione neutra. Tali ortesi sono le più diffuse in ambito riabilitativo poiché il mancato controllo del piede è la più frequente menomazione da ovviare per consentire il ripristino della deambulazione nei pazienti con lesioni del sistema nervoso centrale.

Il compenso tipicamente assicurato da queste tradizionali ortesi induce una riduzione del difetto di clearance del pie-

de, riducendo l'inefficienza dinamica conseguente agli scompensi sul piano frontale e la riduzione della lunghezza del passo, ma introduce un vincolo rigido alla caviglia che diviene elemento limitante la progressione e la propulsione in fase di appoggio.

Viene infatti ad essere bloccata la fisiologica traslazione anteriore della tibia in fase iniziale e centrale di appoggio, e la propulsione generata dalla plantiflessione in fase terminale di appoggio.

L'utilizzo di materiali innovativi a memoria di forma di varia natura è una prospettiva estremamente interessante di innovazione applicativa proprio perché va a soddisfare una sentita esigenza di dinamicità delle ortesi per il piede, totalmente disattesa allo stato attuale.

La pseudoelasticità e/o il recupero di forma di questi nuovi materiali consentirebbe di restituire capacità di controllo in fase di oscillazione, associata a reale funzionale facilitazione della progressione e propulsione in fase di appoggio. Inoltre la adattabilità dei materiali a memoria di forma permetterebbe altresì di individualizzare forma e funzione delle ortesi in rapporto alle problematiche dinamiche funzionali del singolo paziente.

Se il problema è molto sentito per il controllo del piede, altrettanto e forse ancor più rilevante è la necessità di ortesi innovative per difetti di funzione attiva della mano.

In questo caso ci si trova di fronte ad ortesi che hanno caratteristiche di assoluta staticità strutturale e quindi sono poco efficaci anche per mantenere la mobilità passiva di un sistema multisegmentario ad elasticità variabile qual'è la mano. Inoltre quando vengono proposte ortesi con funzioni attuative l'utilizzo di stimolazione elettrica direttamente applicata a livello muscolare o di motori elettrici rende tali ortesi o poco tollerate, o scarsamente utilizzabili oltre che povere in termini di risultato funzionale.

Sommare quindi per un segmento funzionale complesso ed essenziale qual è la mano le caratteristiche dei materiali a memoria di forma alla possibilità di sinergico utilizzo di microattuatori programmabili quali i nanomuscoli, avrebbe un effetto dirimpente in termini innovativi su una vastissima popolazione di pazienti, quantificabile in diverse centinaia di migliaia di persone. Si pensi che solo per eventi vascolari acuti ogni anno si stima nella sola Italia in circa 50.000 persone il numero di nuovi pazienti con rilevanti problematiche a livello dell'arto superiore ed in particolare della mano.

La mancanza di comunicazione fra mondo dell'innovazione tecnologica ed in particolare dei nuovi materiali, e clinica della riabilitazione ha generato questo pesante ritardo di evoluzione del settore. Alla povertà di proposte industriali, si contrappone però una grande richiesta di utilizzo dell'innovazione tecnologica che per essere fruibile deve vedere scendere in campo sinergicamente e contestualmente tecnologia, tecnici, medici e pazienti per progettare e testare recupero di funzioni altrimenti completamente ed inesorabilmente perse.

### **Materiale e metodi**

Verranno reclutati 20 pazienti di cui 10 adulti e 10 bambini affetti da patologie con disabilità elettive a carico dell'arto superiore o dell'arto/o arti inferiori con difficoltà nel cammino (tipicamente pazienti emiplegici).

I pazienti verranno sottoposti ad esame clinico accurato.

In seguito effettueranno delle valutazioni funzionali utilizzando delle ortesi tradizionali in attività della vita quotidiana che implicano l'utilizzo degli arti inferiori o delle mani (cammino, alimentazione, presa).

Le valutazioni funzionali saranno costituite da scale funzionali e di autonomia (FIM, WeeFIM, Scala di Melbourne, GMFM).

In seguito verranno effettuate valutazioni strumentali (gait analysis, analisi dei movimenti manuali, consumo di ossigeno).

I pazienti verranno poi dotati di ortesi innovative progettate su misura e secondo le necessità del singolo soggetto e costruite con materiali a memoria di forma.

Seguirà un periodo di training dei pazienti all'uso di queste nuove ortesi.

Al termine i pazienti verranno ritestati con le medesime prove somministrate in precedenza per valutare i possibili vantaggi attesi in maggior efficacia, confort e minor dispendio energetico.

**PROTOCOLLI DI VALUTAZIONE E TRATTAMENTO RIABILITATIVO NELLE PATOLOGIE REUMATICHE CRONICHE DEL BAMBINO**

**Dr. Enrico Trevisi**

e-mail: irccs@cn.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**

Riabilitazione neuromotoria e Neuropsicologia funzionale

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Conegliano

Il trattamento riabilitativo motorio (cinesiterapia, terapia occupazionale, uso di ortesi ed ausili) nelle patologie reumatiche croniche giovanili ha trovato negli ultimi anni grande diffusione nella comune pratica clinica.

Scopo del lavoro fino ad ora svolto è stato quello di verificare e dimostrare l'efficacia di tale trattamento.

A tal fine abbiamo valutato circa 60 pazienti, parte dei quali sono stati sottoposti al trattamento riabilitativo e parte hanno svolto funzione di controllo.

I dati così ottenuti sono stati pubblicati ed esposti a vari convegni.

In sintesi il risultato di tale lavoro è stata la dimostrazione anche statisticamente significativa dell'efficacia del trattamento riabilitativo.

Come sempre accade all'acquisizione di nuove conoscenze si è accompagnata la nascita di nuovi dubbi e di nuove curiosità.

In particolare il quesito principale è diventato quale tipo di trattamento risulti più efficace fra i vari proponibili.

La letteratura a questo proposito è molto povera e anche gli atteggiamenti clinici che abbiamo avuto modo di osservare in alcuni centri europei sono spesso marcatamente diversi gli uni dagli altri.

A ciò aggiungiamo l'osservazione, ricavata dalla letteratura e da noi stessi ottenuta attraverso la valutazione del consumo energetico, di una imperfetta performance cardiorespiratoria di questi pazienti.

Ne consegue l'intenzione di proseguire lo studio per valutare e confrontare le varie metodologie riabilitative in primo luogo differenziando due linee principali di trattamento caratterizzate dalla presenza o meno negli atti riabilitativi di un lavoro di condizionamento aerobio ed eventualmente individuando con il proseguire della ricerca ulteriori sottogruppi di trattamento da testare.

**Materiali e metodi**

Valutazione di un gruppo di pazienti (20-30) attraverso la somministrazione dei consueti test clinici, di innovativi esami strumentali quali la valutazione del consumo energetico e la termografia.

Inizio al trattamento riabilitativo suddividendo i pazienti in 2 gruppi il primo dei quali verrà sottoposto a mobilizzazione passiva intensiva, il secondo a trattamento di mobilizzazione attivo e condizionamento aerobio.

Rivalutazione dei due gruppi a termine del trattamento e a tre mesi di distanza.

**LESIONI CEREBELLARI E TURBE  
COGNITIVO-COMPORTAMENTALI:  
STUDIO NEI TUMORI DELLA FOSSA  
CRANICA POSTERIORE IN ETÀ  
EVOLUTIVA**

**Dr.ssa Poggi Geraldina**  
e-mail: gpoggi@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**  
Riabilitazione Neuromotoria e  
Neuropsicologia funzionale

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Collaborazioni**

Istituto Nazionale dei Tumori di Milano

**Razionale**

I tumori della fossa cranica posteriore rappresentano i più comuni tumori cerebrali maligni dell'età evolutiva, con incidenza seconda solo alla leucemia. Le percentuali di sopravvivenza di questi pazienti sono aumentate progressivamente negli ultimi 20 anni e, grazie ai nuovi protocolli oncologici, anche l'outcome dei pazienti è in costante miglioramento. Nonostante questi miglioramenti, sono ancora frequenti gli esiti a breve e a lungo termine che contribuiscono a rendere difficoltosa la ripresa delle attività scolastiche, lavorative e la vita relazionale. In particolare, come molti studi dimostrano, lo sviluppo di problemi cognitivi e comportamentali contribuisce in modo significativo nella determinazione di un outcome sfavorevole.

I pazienti che hanno subito interventi per tumori della fossa cranica posteriore presentano frequentemente problemi neuropsicologici caratterizzati da diminuzione del livello intellettuale complessivo, presenza di turbe di tipo mnemonico, linguistico, attentivo, delle funzioni esecutive e visuo-motorie con conseguenti difficoltà di apprendimento. I principali fattori di rischio sono rappresentati dal tipo di trattamenti subiti, in particolar modo dalla radioterapia, dall'età più giovane ai trattamenti e dal tempo intercorso dalla diagnosi alla valutazione. Questi problemi sono spesso associati a problemi di tipo emotivo-psicologico principalmente caratterizzati da isolamento, chiusura relazionale, ansia e depressione che nell'insieme determinano difficoltà di adattamento e di tipo relazionale.

**Obiettivi**

I risultati ottenuti con i progetti di ricerca degli anni 2001-2002-2003 hanno permesso di identificare i principali disturbi neuropsicologici e comportamentali dei pazienti in età evolutiva con esiti di tumore cerebrale della fossa cranica posteriore e di studiarne le correlazioni con l'età alla diagnosi, la sede del tumore ed i protocolli di terapia effettuati. Con la prosecuzione della ricerca nell'anno 2004 ci si propone di aumentare ulteriormente il numero dei pazienti valutati e il numero dei controlli per meglio definire l'outcome e le correlazioni con i tipi di trattamenti oncologici effettuati.

Considerata, infatti, la eterogeneità della diagnosi e quindi la difficoltà ad individuare gruppi omogenei per diagnosi e trattamenti effettuati l'aumento del numero dei pazienti coinvolti nella ricerca risulta fondamentale. Ci si propone, inoltre, di proseguire lo studio avviato nel 2003 relativo ai trattamenti riabilitativi in pazienti post-tumoral e post-traumatici: anche se i risultati ottenuti dal punto di vista clinico sono incoraggianti, per effettuare uno studio che convalidi tale efficacia è necessario ampliare ancora il numero dei pazienti studiati.

In ambito psicologico si avvierà uno studio relativo ai vissuti emotivi dei genitori, analizzando in particolar modo i cambiamenti che inevitabilmente si verificano all'interno del contesto familiare dopo la diagnosi di tumore cerebrale.

**PLASTICITÀ NEURONALE NEI SOGGETTI  
CON CEREBROLESIONI ACQUISITE:  
PATTERN DI ATTIVAZIONE CEREBRALE  
ALLA RISONANZA MAGNETICA  
FUNZIONALE IN PAZIENTI CON  
DIFFERENTE OUTCOME COGNITIVO  
DOPO TRAUMA CRANICO**

**Dr.ssa Alessandra Bardoni**  
e-mail: bardoni@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**  
Riabilitazione neuromotoria e  
Neuropsicologia funzionale

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Background del progetto**

Il trauma cranico è una condizione patologica caratterizzata da complessi esiti neurologici che coinvolgono le capacità motorie, cognitive e comportamentali ed è pertanto una affezione acquisita del Sistema Nervoso potenzialmente disabilitante. Il grado di recupero a distanza e dopo riabilitazione neurologica in soggetti con trauma cranico non sembra essere legato solamente alla sede ed all'estensione della lesione focale ma anche ad un differente pattern di attivazione corticale che si instaura grazie ai fisiologici meccanismi di plasticità neuronale propri di ciascun individuo. L'interpretazione biochimica di tali meccanismi di recupero risulta di più facile comprensione riguardo gli aspetti motori mentre presenta una maggiore complessità relativamente alle funzioni cognitive.

Il trauma cranico, indipendentemente dalla sua tipologia, determina lesioni cerebrali coinvolgenti sempre i lobi frontali e temporali cui si associa un quadro di danno assonale diffuso con l'insorgenza di una sindrome da disconnessione con conseguente compromissione di aree cerebrali deputate alle attività integrative e alle vie associative. Ne consegue la compromissione dei processi attentivi, elaborativi e di memoria, base dello sviluppo cognitivo, di qualsiasi apprendimento e azione finalizzata.

Dall'integrazione delle abilità selettivamente compromesse nel trauma cranico deriva la cosiddetta "memoria di lavoro" (working memory) che è una funzione cognitiva complessa la cui compromissione determina l'incapacità di gestione nelle attività della vita quotidiana con conseguente marcata disabilità.

Negli ultimi anni sono numerosi gli studi di attivazione cerebrale (esecuzione di compiti di memoria di lavoro) condotti su soggetti sani, mediante l'utilizzo della Risonanza Magnetica Funzionale (fRMN), una tecnica nuova di neuroimmagine sicura e non invasiva che permette, accanto ad una buona definizione

ne del danno tessutale, il monitoraggio dei cambiamenti metabolici e riorganizzativi del SNC a seguito di una lesione. Tale tecnica 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: la conseguente riduzione della concentrazione di desossiemoglobina nelle venule a valle dei capillari porta 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. Nell'ambito delle cerebrolesioni acquisite l'impiego di tale tecnica ha riguardato prevalentemente l'età adulta e casistiche numericamente limitate. Studi su pazienti con esiti di trauma cranico hanno documentato i processi di riorganizzazione funzionale nelle aree cerebrali risparmiate dalla lesione, mostrando un pattern di attivazione esteso a più aree corticali e evidenziando una attivazione anche di aree controlaterali, fisiologicamente non coinvolte nel processo cognitivo in esame. Non esistono al momento attuale studi in letteratura riguardo l'interpretazione dei dati di Risonanza Magnetica Nucleare Funzionale in relazione al profilo cognitivo a distanza dal trauma cranico. Scopo dello studio che proponiamo è quello di verificare se esiste una correlazione significativa tra il profilo cognitivo, in termini di capacità attentive, mnestiche ed operative, e il pattern di attivazione corticale visibile alla fRMN in pazienti con esiti di trauma cranico moderato o grave con un quadro neuroradiologico di danno assonale diffuso.

L'elaborazione di tali dati potrebbe fornire indicazioni per la comprensione dei meccanismi di plasticità neuronale utili ai fini del chiarimento dei processi di recupero clinico e per la stesura di linee guida di programmi riabilitativi per i pazienti che hanno subito trauma cranico.

## Obiettivi principali

Gli obiettivi principali dello studio che proponiamo possono essere pertanto identificati nei seguenti punti:

- identificazione di pattern di attivazione cerebrale nei soggetti con trauma cranico e in un campione congruo di soggetti sani.
- analisi delle aree di attivazione alla fRMN istituendo correlazioni con parametri clinici e neuropsicologici.
- confronto con i dati di letteratura riguardo ai pazienti con trauma cranico
- valutazione dei percorsi di attivazione alternativi capaci di modificare le singole competenze cognitive.
- rilevazione di parametri funzionali utili per la stesura e la conduzione del programma riabilitativo

possibilità di mettere a punto un programma riabilitativo mirato e di verificare le modalità di riorganizzazione cerebrale nello stesso paziente fin dalla fase subacuta.

## Metodologie

In una casistica ampia di pazienti con esiti di trauma cranico moderato o severo (circa 30 soggetti) verranno selezionati 6 pazienti con le seguenti caratteristiche:

- età superiore ai 14 anni
- anamnesi negativa per precedenti malattie neurologiche, ritardo intellettivo, problemi psicologici o comportamentali
- fase stabilizzata degli esiti (almeno dopo un anno dall'evento)
- quadro neuroradiologico di danno assonale diffuso.
- alla valutazione cognitiva  $QI > 70$  e deficit neuropsicologici (attenzione, memoria, funzioni esecutive) di grado variabile
- assenza di lesioni midollari e di un grave deficit motorio o sensoriale

- non in trattamento farmacologico con farmaci noti per interazioni con le capacità cognitive

Verranno inoltre valutati, con i medesimi protocolli, un numero congruo di soggetti sani, con età comparabile al campione in studio, da utilizzare come controllo.

I pazienti e i soggetti di controllo verranno sottoposti ad una valutazione multidisciplinare e all'applicazione di una fRMN.

### Valutazione multidisciplinare:

- Anamnesi e visita neurologica
- Visita ORL e esame audioimpedenzometrico
- Visita oculistica e ortottica
- Valutazione psicometrica con tests standardizzati (livello cognitivo)
- Valutazione neuropsicologica standardizzata (attenzione, memoria e funzioni esecutive)
- Rilettura della Risonanza Magnetica Nucleare standardizzata.

### Applicazione fRMN:

Valutazione neuroradiologica dei pazienti selezionati mediante fMRI con test motori, sensoriali, cognitivi. Come protocollo specifico per l'indagine di fMRI i soggetti eseguiranno due compiti motori alternati, di cui uno altamente stereotipato (movimenti delle dita della mano destra in ordine stereotipato) e uno con importanti richieste attenzionali (movimenti delle dita in ordine randomizzato) e di working memory. Il confronto di simili compiti rivela, in soggetti normali, l'attivazione dei circuiti attenzionali e di controllo della memoria (es. regioni prefrontali, giro del cingolo, regioni parietali posteriori). Una volta eseguito un esame MRI strutturale standard, la scansione fMRI, implica una permanenza nello scanner per 10 minuti circa. Grazie alla sequenza di acquisizione echo-planare (TR 3000; TE 60 msec;

Flip angle  $90^\circ$ ) è infatti possibile acquisire un intero volume cerebrale in 3 secondi, e quindi un largo numero di volumi cerebrali (160), tale da permettere inferenze statistiche nel singolo soggetto

## Durata della ricerca

12 mesi, con la possibilità di una prosecuzione per la verifica dell'efficacia di trattamenti riabilitativi in ambito cognitivo.

## Bibliografia

- Ogawa S, Lee TM, Kay AR, et al.: Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. Proc Natl Acad Sci USA 1990,87:9868-9872.
- Rovaris M, Filippi M. Magnetic Resonance techniques to monitor disease evolution and treatment trial outcomes in multiple sclerosis. Curr Opin Neurol, 1999, 12;337-44
  - Christodoulou C, DeLuca J, Ricker JH, et al. Functional Magnetic Resonance imaging of working memory impairment after traumatic brain injury. J Neurol Neurosurg Psych 2001; 71:161-168.
  - Wilkinson JD, Romanowski CA et al. Motor functional MRI for pre-operative and intraoperative neurosurgical guidance. Br J Radiol 2003; 76 (902):98-103
  - J. D. Teasdale, B. H. Dritschel, M. J. Taylor, L. Proctor, C. A. Lloyd, I. Nimmo-Smith, and A. D. Baddeley, "Stimulus-independent thought depends on central executive resources.," Memory & Cognition, vol. 23, pp. 551-9, 1995

**VARIABILITÀ FENOTIPICA INTER- E INTRA- FAMILIARE NELL'OSTEOGENESI IMPERFECTA: IDENTIFICAZIONE DI LOCI MODIFICATORI, CORRELAZIONE GENOTIPO-FENOTIPO E VALUTAZIONE DI POTENZIALI TARGET MOLECOLARI PER UN APPROCCIO FARMACOLOGICO ALLA TERAPIA**

**Dr. Paolo Fraschini**

e-mail: frasc@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**

Riabilitazione neuromotoria e Neuropsicologia funzionale

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo scientifico:** Bosisio Parini

**Collaborazioni**

Centri di competenza regionale

L'osteogenesi imperfetta (O.I.) è una sindrome ereditaria caratterizzata da alterazioni qualitative e quantitative del collagene di tipo I, la più diffusa proteina strutturale dell'organismo, responsabile della resistenza dell'osso e di tutte le strutture di sostegno. Ne consegue una displasia del tessuto connettivo la cui espressione principale è una particolare fragilità ossea, che si rende evidente con fratture ricorrenti, tendenza a deformazioni della colonna vertebrale e delle ossa lunghe, ritardo di chiusura della fontanella cranica. Le mutazioni responsabili dell'O.I. possono colpire un gene localizzato sul cromosoma 17, che codifica le informazioni per la produzione delle catene  $\alpha 1$  del collagene I; in altri casi è interessato un gene sito sul cromosoma 7 e codificante le catene  $\alpha 2$  del collagene I. Vengono così prodotte catene  $\alpha 1$  o  $\alpha 2$  difettose o in quantità inferiore al normale; ne deriva un collagene meno resistente del normale e di conseguenza una aumentata fragilità ossea. L'elevata variabilità clinica della sindrome è dovuta principalmente al tipo di mutazione presente.

Si possono distinguere:

- mutazioni che provocano una ridotta sintesi del collagene I, caratteristiche dell'O.I. di tipo IA
- mutazioni strutturali che comportano alterazioni della struttura delle catene  $\alpha 1$  e  $\alpha 2$ , responsabili di tutti gli altri tipi di O.I.

La correlazione tra modificazioni genetiche e quadro fenotipico dell'O.I. è complessa poiché l'evoluzione naturale della malattia per le caratteristiche specifiche della stessa è condizionato dalla casualità degli eventi traumatici che può comportare significative differenze morfologiche e funzionali anche tra soggetti con lo stesso patrimonio genetico.

La colonna risente comunque in minima misura degli eventi traumatici rispetto alle ossa lunghe, pertanto un'analisi delle modificazioni indotte dallo sviluppo staturale, da ormoni o da farmaci

trova a questo livello un marker di maggiore significatività statistica e può essere analizzata sia mediante radiografie del profilo laterale della vertebra sia mediante una densitometria ossea (DEXA) ma anche indirettamente con una densitometria ad ultrasuoni distale eseguiti a livello delle falangi della mano.

Il trattamento con farmaci diretti a ridurre il catabolismo osseo si è dimostrato negli ultimi anni particolarmente efficace nel trattamento di soggetti con O.I. sia nella fascia adulta sia nella fascia pediatrica, come rilevato dall'esame densitometrico osseo., dalla riduzione del numero di fratture e delle deformità vertebrali, tuttavia un certo numero di pazienti, indipendentemente dalla gravità del deficit genetico non ha ottenuto risultati significativi pur con tempi e dosaggi adeguati.

Precedentemente all'utilizzo dei bisfosfonati ai fini di incrementare la fase osteogenetica è stata effettuata una sperimentazione con ormone della crescita che ha dato alcuni risultati positivi particolarmente nelle forme a minore gravità.

Non vi sono attualmente studi controllati sull'associazione di tale ormone con i bisfosfonati.

L'attività fisica particolarmente nel soggetto in accrescimento appare importante per determinare il livello di picco di massa ossea, per cui l'attività fisica risulta particolarmente importante a tale fine prima dei 20 anni. Il rapporto tra massa ossea e attività fisica può essere verosimilmente ridotto nell'osteogenesi imperfetta per la ricorrenza di fratture nonché per il timore di fratturarsi.

Negli ultimi 3 anni sono stati pubblicati alcuni lavori diretti allo studio dei polimorfismi per geni correlabili all'osteoporosi in particolare per i recettori della vitamina D (VDR), del collagene tipo IA1 (COLIA1) e dei recettori della calcitonina (CTR) in gruppi di donne ed uomini oltre i 45 anni. Appare interessante valutare i pazienti con O.I. per tali polimorfismi.



## Materiali e metodi

Dopo l'approvazione da parte del nostro comitato etico sono stati reclutati 20 pazienti affetti da osteogenesi imperfetta sia per deficit quantitativo che qualitativo del collagene. I pazienti afferivano alla nostra osservazione per un periodo medio di tre/sei settimane per valutazioni cliniche e per trattamento riabilitativo.

## Valutazione dei livelli di motricità

Realizzata mediante scala di valutazione standardizzata delle posture e delle sequenze motorie dalla posizione supina alla seduta, alla statica eretta, al cammino (Gross Motor Function Measure) G.M.F.M.

Valutazione delle autonomie della vita quotidiana mediante scala WeeFIM (Functional Independence Measure for children).

## Valutazione della morfologia vertebrale

Teleradiografia del rachide in carico nella posizione eretta o seduta nelle proiezioni antero-posteriore e laterale: misurazione mediante griglie millimetriche delle deformità dei corpi vertebrali sui piani laterali. Il test viene eseguito annualmente.

## Densitometria ossea

Misurazione della densità ossea a livello vertebrale mediante assorbimetria a raggi X in doppia energia. L'esposizione alle radiazioni è minima e la procedura è di rapida esecuzione. Il test viene eseguito annualmente.

Densitometria ad ultrasuoni distale eseguiti a livello delle falangi della mano, innocua di basso costo e con significativa correlabilità al rischio fratture, l'esame fornisce inoltre indicazioni sull'elasticità dell'osso. Il test viene eseguito ogni 6 mesi.

## Marker biochimici del ricambio osseo

Sono stati valutati gli elettroliti plasmatici specifici (Ca, P), la calcitonina espressa in pg/m, l'osteocalcina espressa in ng/mL, il propeptide C terminale espresso in ng/m ed i Pylilinks-D urinari espressi in nmolDPD/mmol creatinina, tali valori verranno testati ogni 6 mesi per complessive 4 valutazioni di follow-up per singolo paziente.

## Valutazioni genetiche

Dalle valutazioni iniziali proposte per la prima parte della ricerca sono state selezionate quelle che dai recenti dati di letteratura potevano avere maggiore significatività per cui dai prelievi effettuati e conservati sono in corso le estrazioni genetiche per i recettori della vitamina D (VDR), del collagene tipo IA1 (COLIA1) e dei recettori della calcitonina (CTR).

## Stato attuale della ricerca

Il gruppo di 20 pazienti affetti da osteogenesi imperfetta era di età compresa tra i 18 mesi ed i 19 anni.

12 pazienti erano prepuberi.

Il follow-up è stato di 9 mesi, avendo per alcuni pazienti informazioni anche precedenti a tale periodo.

I pazienti hanno eseguito le valutazioni di protocollo ed il trattamento farmacologico con neridronato.

Tutti i pazienti hanno impostato un trattamento riabilitativo, tuttavia per la complessità della patologia e le diversità individuali alcuni soggetti hanno presentato significativa riduzione delle capacità motorie.

I test evidenziano che alcuni pazienti hanno valori bassi nei punteggi della GMFM che comportano bassi livelli di attività motoria e di conseguenza anche se non linearmente di riduzione delle autonomie nelle attività quotidiane WeeFIM.

Le valutazioni biochimiche non evidenziano anomalie specifiche degli elettroliti in particolare calcio e fosforo, mentre la calcitonina, l'osteocalcina, il propeptide C terminale ed i Pylilinks-D urinari presentano modificazioni dalla norma

Il propeptide C terminale tende ad innalzarsi per situazioni di incrementato riassorbimento osseo: nei nostri pazienti con migliore livello di motricità ad eccezione del soggetto più piccolo i valori erano relativamente bassi anche se spesso superiori alla norma. ( $p < 0,01$ )

Viceversa l'osteocalcina, indice di deposizione ossea mostrava significativi innalzamenti in alcuni pazienti con migliori livelli di motricità.

I dati preliminari ottenuti dalla densitometria ossea ad ultrasuoni eseguita nei pazienti trattati con bisfosfonati mostrano sia migliori livelli di densità ossea relativa e/o migliori livelli di UBPI (ultrasound bone profile index) correlabile all'elasticità ossea ed al rischio di frattura, in soggetti attivi rispetto a soggetti sedentari.

Il quadro morfologico vertebrale è stato accuratamente inquadrato e verrà verificato a distanza di un anno per quantificare specifiche ed attese modificazioni.

I test genetici sono in corso di attuazione e verranno successivamente correlati ai dati clinici raccolti e a quanto osservato nella popolazione normale con osteoporosi senile.

- Frascini P. Il trattamento rieducativo nell'osteogenesi imperfetta - Saggi, anno XV, 1989, 1, 53-64

- Frascini P., Brambilla D. - "Audiological findings in children affected by Osteogenesis imperfecta" Atti 6th International conference on "Osteogenesis imperfecta" 19-21 September 1996 - Zeist (NL).

- Fraschini P. "Osteogenesis Imperfecta Disability and Rehabilitation". 7th International conference on osteogenesis imperfecta. Montreal (Canada) 29/8 - 2/9 1999.
- E. Antoniazzi, M. Mottes, P. Fraschini, P.C. Brunelli, L. Tatò - Osteogenesis Imperfecta - Practical Treatment Guidelines Pediatric Drugs 2000 Nov-Dec, 2(6):465-488.
- M. Mottes, A. Sangalli, and P.F. Pignatti - "Haplotype analysis of collagen type I genes in the general population and in Osteogenesis Imperfecta families." *Am J Med Genetics* 45:217-222, 1993.
- A. Forlino, F. Zolezzi, M. Valli, P.F. Pignatti, G. Cetta, P.C. Brunelli, M. Mottes "Severe (type III) osteogenesis imperfecta due to glycine substitutions in the central domain of the collagen triple helix. *Human Molecular Genetics* (1994) 3: 2201-2206
- M. Mottes, A. Superti-Furga, P.F. Pignatti. "Genetica molecolare ed implicazioni cliniche nell'Osteogenesi Imperfetta, prospettive in pediatria": (1995) 25: 75-82
- S. Mirandola, P.F. Pignatti, M. Mottes. "Three novel polymorphic sequence variants in the type I collagen gene COL1A1, the main disease locus for Osteogenesis Imperfecta". *Molecular and Cellular Probes* (2000) 14: 329-332.
- S. Mirandola, A. Sangalli, M. Mottes. "Rapid and efficient genotype analysis of the COL1A1 Sp1 binding site dimorphism, a genetic marker for bone mineral density." *Molecular and Cellular Probes* 16:73-75, 2002.
- Forlino A, Marini JC. Osteogenesis imperfecta: prospects for molecular therapeutics. *Mol Genet Metab.* 2000 Sep-Oct;71(1-2):225-32. Review.
- Forlino A, Porter FD, Lee EJ, Westphal H, Marini JC. Use of the Cre/lox recombination system to develop a non-lethal knock-in murine model for osteogenesis imperfecta with an alpha1(I) G349C substitution. Variability in phenotype in BrlIV mice. *J Biol Chem.* 1999 Dec 31;274(53):37923-31.
- Forlino A, Keene DR, Schmidt K, Marini An alpha2(I) glycine to aspartate substitution is responsible for the presence of a kink in type I collagen in a lethal case of osteogenesis imperfecta. *Matrix Biol.* 1998 Dec;17(8-9):575-84.
- Sarafova AP, Choi H, Forlino A, Gajko A, Cabral WA, Tosi L, Reing CM, Marini JC. Three novel type I collagen mutations in osteogenesis imperfecta type IV probands are associated with discrepancies between electrophoretic migration of osteoblast and fibroblast collagen. *Hum Mutat.* 1998;11(5):395-403.
- Forlino A, D'amato E, Valli M, Camera G, Hopkins E, Marini JC, Cetta G, Coviello DA. Phenotypic comparison of an osteogenesis imperfecta type IV proband with a de novo alpha2(I)Gly922 -> Ser substitution in type I collagen and an unrelated patient with an identical mutation. *Biochem Mol Med.* 1997 Oct;62(1):26-35.
- Tato L, Savage MO, Antoniazzi F, Buzi F, Di Maio S, Oostdijk W, Pasquino AM, Raiola G, Saenger P, Tonini G, Voorhoeve PG. Optimal therapy of pubertal disorders in precocious/early puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2001 Jul;14 Suppl 2:985-95. Review
- Zamboni G, Antoniazzi F, Tato L. Insulin-like growth factor binding protein-3 proteolysis and growth of athyreotic infants in the first weeks of life. *Acta Paediatr.* 2000 Sep;89(9):1050-5.
- Antoniazzi F, Arrigo T, Cisternino M, Galluzzi F, Bertelloni S, Pasquino AM, Borrelli P, Osio D, Mengarda F, De Luca F, Tato L. End results in central precocious puberty with GnRH analog treatment: the data of the Italian Study-Group for Physiopathology of Puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2000 Jul;13 Suppl 1:773-80.
- Arrigo T, Cisternino M, Galluzzi F, Bertelloni S, Pasquino AM, Antoniazzi F, Borrelli P, Crisafulli G, Wasniewska M, De Luca F. When to stop GnRH analog therapy: the experience of the Italian Study Group for Physiopathology of Puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2000 Jul;13 Suppl 1:759-64.
- Antoniazzi F, Bertoldo F, Lauriola S, Sirpresi S, Gasperi E, Zamboni G, Tato L. Prevention of bone demineralization by calcium supplementation in precocious puberty during gonadotropin-releasing hormone agonist treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Jun;84(6):1992-6.
- A. Forlino, F. Zolezzi, M. Valli, P.F. Pignatti, G. Cetta, P.C. Brunelli, M. Mottes "Severe (type III) osteogenesis imperfecta due to glycine substitutions in the central domain of the collagen triple helix. *Human Molecular Genetics* (1994) 3: 2201-2206.

**INDUZIONE DELL'ATTIVITÀ  
OSTEOBLASTICA IN VITRO ED IN VIVO  
DI SOGGETTI CON OSTEOGENESI  
IMPERFETTA CON FRATTURE  
COMPLESSE O PSEUDOARTROSI  
MEDIANTE L'UTILIZZO DI MATRICI DI  
SUPPORTO A BASE PCL ED ACIDO  
HYALURONICO**

**Dr. Paolo Fraschini**

e-mail: frasch@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 2**

Riabilitazione Neuromotoria e  
Neuropsicologia funzionale

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo scientifico:** Bosisio Parini

**Collaborazioni**

Centri di competenza Regione  
Campania

**Razionale**

L'attività osteoblastica è riferita normale nell'osteogenesi imperfetta (O.I.) ma la matrice connettivale prodotta è quantitativamente o qualitativamente deficitaria. I tempi di riconsolidazione per fratture composte non appaiono diversi dalla norma, ma frequentemente sono presenti consolidazioni viziose e rischio di fratture subentranti sullo stesso livello.

I bisfosfonati migliorano la densità ossea inibendo l'attività degli osteoclasti e a livello strutturale incrementando lo spessore della corticale ossea, senza effetto sulla componente trabecolare o spongiosa che viceversa può percentualmente ridursi.

La componente trabecolare appare particolarmente importante per le caratteristiche elastiche dell'osso e comporta una migliore resistenza alle sollecitazioni vibratorie. La conformazione strutturale della spongiosa è particolarmente correlata al carico e alle attività dinamiche a cui è fisiologicamente sottoposto l'osso.

L'effetto dei bisfosfonati sulla struttura ossea è stato studiato anche in età pediatrica e sembra comportare una riduzione media del numero di fratture, migliorando in alcuni casi la componente strutturale vertebrale con significativo incremento dell'altezza dei corpi vertebrali, particolarmente evidente in alcuni casi trattati, tuttavia in alcuni pazienti, particolarmente a livello delle ossa lunghe la struttura ossea appare modificata in direzione opposta con quadri di osteopetrosi, ispessimento della corticale e riduzione della trabecolare, con conseguente aumento della rigidità ossea e rischio di fratture e prolungamento dei tempi di consolidazione.

Precedentemente all'utilizzo dei bisfosfonati ai fini di incrementare la fase osteogenetica è stata effettuata una sperimentazione con ormone della crescita che ha dato alcuni risultati positivi particolarmente nelle forme a minore gravità.

Non vi sono attualmente studi controllati sull'associazione di tale ormone con i bisfosfonati, una sperimentazione in tal senso è in progetto all'interno del comitato scientifico dell'O.I. di cui siamo parte.

In alcuni pazienti la ripetizione della frattura sulla stessa sede, che risulta più fragile dopo una prima frattura, pone l'indicazione dopo i 3 anni di età del paziente ad un trattamento chirurgico.

La riduzione dell'attività fisica conseguente a fratture ripetute può portare a consolidazioni viziose e a quadri di pseudoartrosi, ovvero alla formazione di tessuto fibroso anziché osseo sui monconi di frattura con conseguente instabilità funzionale.

L'intervento chirurgico particolarmente a livello delle ossa lunghe degli arti inferiori con l'applicazione di mezzi di sintesi all'interno dell'osso richiede due o più osteotomie che comportano un accorciamento dell'arto creando comunque uno scompensamento funzionale quando monolaterale, situazione frequente nelle forme tipo I e IV (di gravità minore ed intermedia).

Il trattamento chirurgico in tali patologie non viene realizzato in fase di urgenza, dove la trazione o un gesso tradizionale rappresentano l'approccio più frequente, ma utilizzando strumentazioni su misura per il paziente: è frequente la necessità di correggere dapprima un lato (es. femore e/o tibia sn) e dopo 3 mesi l'altro lato. In tal caso si può prospettare di intervenire dapprima sul lato meno compromesso e successivamente su quello più deformato.

Durante il primo intervento è possibile asportare frammenti ossei nell'area di osteotomia, sottoporli in vitro ad un trattamento che ne faciliti la crescita e se efficace reimpiantarli sull'altro lato al fine di ridurre la dismetria o trattare eventuali pseudoartrosi presenti.

A tale fine possono essere utilizzate matrici di gel a base di acido ialuronico (sostanza normalmente presente nei connettivi e già ampiamente utilizzata in clinica) su cui far crescere cellule della linea osteoblastica prelevate dal paziente in presenza di fattori stimolanti la crescita ossea.

Affinché le cellule prelevate mantengano la loro caratteristica di differenziazione verso la linea osteoblastica e non verso quella più aspecifica fibroblastica è indispensabile che una serie di fattori bioumorali e biomeccanici agiscano sul tessuto in coltura e su quello successivamente impiantato.

Particolarmente nel soggetto in età di crescita l'attività fisica ed il carico meccanico appaiono fondamentali a tale scopo, sostanze quali l'ormone della crescita possono facilitarlo, mentre i difosfonati possono evitare la distruzione della struttura ossea già formata.

In ambito di ricerca in vitro vi sono risultati positivi realizzati dal gruppo del CNR di Napoli in collaborazione con il Rizzoli di Bologna, esperienze simili sono già in corso anche in altri gruppi di ricerca internazionale con iniziali sperimentazioni sia sull'animale che sull'uomo.

L'utilizzo di supporti per cellule staminali della linea connettivale è già entrato nella pratica clinica per lesioni della cartilagine.

I sostituti ossei attualmente in studio prevedono l'uso di materiali di origine naturale, semisintetica, sintetica, in grado di permettere la rigenerazione del tessuto osseo (osteococonduttività) o, nella migliore delle ipotesi, di stimolarla (osteoinduzione). Nel trattamento di casi clinici in cui non è disponibile sufficiente osso autologo per l'autotrapianto, uno dei materiali di origine naturale attualmente in uso è osso eterologo privato della componente cellulare, sterilizzato, processato per ottenere l'opportuna for-

ma. L'osteococonduttività della struttura tridimensionale naturalmente porosa, ottimale per la necessaria vascolarizzazione, e la presenza nella matrice extracellulare organica di fattori di crescita osteogenici (Ops, BMPs), rilasciati nell'organismo ospite dopo l'impianto, favoriscono il processo di osteointegrazione.

I problemi che possono generarsi dall'uso di tali sostituti sono riconducibili principalmente all'origine eterologa dell'osso (infezioni, reazioni immunitarie, rigetto); inoltre la difficoltà di posizionamento e integrazione dovuti a scarsa modellabilità dell'impianto possono ugualmente comprometterne l'esito.

Una risposta a tali problematiche è stata data dalla progettazione e produzione di materiali sintetici e semisintetici, facilmente modellabili e reperibili; tuttavia la lunga procedura di preparazione e la mancanza di osteointegrazione permanente osservata in vivo hanno spinto i ricercatori a progettare impianti polimerici totalmente biodegradabili, organizzati in strutture tridimensionali porose, per migliorare l'osteococonduzione, favorire la vascolarizzazione, e, quindi, la rigenerazione ossea.

È possibile usare polimeri naturali, come il collagene e l'acido ialuronico, chimicamente o fisicamente modificati per renderne le proprietà più rispondenti a quelle richieste per le differenti applicazioni.

La scoperta e l'isolamento di vari fattori osteogenici hanno permesso la messa a punto di sistemi in cui il supporto biodegradabile (spugne, idrogeli iniettabili, sospensioni composte per lo più da collagene occasionalmente combinato con acido ialuronico) funge da veicolo temporaneo per il rilascio controllato di tali sostanze: il processo rigenerativo è indotto nell'organismo ospite che sofferisce alla naturale degradazione dell'impianto con la progressiva formazione di nuovo tessuto.

Per il trattamento di lesioni, danni di modeste dimensioni, sostituzioni di zone di osso con anatomia non particolarmente complicata, è possibile ricorrere a sostituti cellulari in cui il materiale costituisce lo scaffold per la deposizione di cellule, da reimpiantare/impiantare nel paziente.

La progettazione di tali sostituti prevede la scelta sia del tipo di cellule da coltivare sia del materiale da adottare. Le cellule possono essere cellule adulte, già differenziate (osteoblasti/osteociti, condrociti) oppure cellule progenitrici (midollo osseo, perioste, pericondrio) che, rispetto alle prime hanno il vantaggio di avere una velocità di duplicazione più elevata ma lo svantaggio di potersi, in alcuni casi, differenziare in modo indesiderato generando un tessuto non richiesto.

I materiali devono possedere come necessarie caratteristiche: compatibilità sia con la linea cellulare prescelta sia con l'ospite; proprietà meccaniche simili all'osso da sostituire; biodegradabilità controllata in modo tale da consentire continuità fra impianto e osso durante la rigenerazione del tessuto.

A seconda delle applicazioni sono disponibili materiali soffici, di origine sintetica, semisintetica, naturale, e materiali duri, come metalli o ceramici; inoltre è possibile ottenere scaffold di durezza intermedia utilizzando materiali composti.

Tra i materiali testati per l'ingegneria dei tessuti si ricordano: acido polilattico (PLA); acido poliglicolico (PGA); policaprolattone (PCL) molecole naturali modificate e non, come collagene o acido ialuronico; materiali duri come metalli o ceramici, tra cui differenti formulazioni di tricalciofosfato (TCP), idrossiapatiti naturali e sintetiche; combinazioni di idrossiapatite-TCP.

## Materiali e metodi

La sperimentazione prevede lo studio di soggetti con osteogenesi imperfetta da deficit quantitativo e qualitativo del collagene in cui è programmato un intervento a due tempi sugli arti inferiori.

Il campione sarà composto da 2 soggetti per ogni gruppo in età prepubere, in trattamento con bisfosfonati, terapia normalmente applicata nella maggior parte dei pazienti affetti da O.I.

I pazienti effettueranno una preparazione pre-chirurgica con training di tre mesi composto da esercizi attivi di rinforzo degli estensori lombari, nuoto, training di cammino su tappetino roulant se deambulanti o attività sportiva in carrozzina su pista di atletica, nuoto 3 volte la settimana.

Tutti i pazienti verranno valutati mediante:

Scala di valutazione funzionale motoria G.M.F.M.

Test di forza manuale (grip test) con apparecchiatura standardizzata.

Valutazione delle autonomie mediante scala WeeFIM

Studio del consumo di ossigeno.

Densitometria ad ultrasuoni delle dita all'ingresso ed ogni 3 mesi

Valutazione dei cataboliti urinari del collagene (piridinolino) all'ingresso ed ogni 3 mesi

Valutazione dei marker di deposizione ossea (osteocalcina) all'ingresso ed ogni 3 mesi

Studio radiografico di una vertebra e di un osso lungo target all'ingresso a 6 mesi e ad 1 anno.

Densitometria ossea DEXA dei livelli lombari e femorali all'ingresso e ad 1 anno.

Prelievo di un frammento osseo in sede di trattamento chirurgico. Il trattamento chirurgico verrà eseguito presso il Reparto di Ortopedia Pediatrica di Bre-

scia (responsabile P.C. Brunelli) che fa parte dell'equipe multidisciplinare dell'Associazione O.I. Italiana

Le cellule del paziente verranno utilizzate solo per tale scopo e non conservate per altri fini.

L'innesto di un impianto protesico può però comportare problematiche di natura diversa, compresa la perdita di funzionalità della protesi stessa.

La causa fondamentale che dal punto di vista biomeccanico può compromettere la stabilità a lungo termine di una protesi, per esempio di una protesi d'anca, o chiodi intramidollari è il diverso comportamento meccanico che compete al tessuto osseo ed alla protesi.

La densità e la conformazione dei tessuti di un femore naturale nonché la sua organizzazione interna sono il risultato di un continuo rimodellamento cellulare.

In un sistema osso-protesi i carichi vengono trasferiti attraverso la protesi, all'osso nelle sue estremità. Tale fenomeno è noto come "stress-shielding" (protezione da stress) e comporta come effetto il riassorbimento osseo delle zone meno sollecitate. Infatti le ridotte sollecitazioni dell'osso protesizzato, confrontate con le normali condizioni di carico precedenti all'impianto della protesi causa, secondo la legge di Wolff, un riadattamento osseo caratterizzato dalla perdita di massa sia in termini di maggiore porosità sia come assottigliamento, e formazione di osso in eccesso alle due estremità della protesi

Per evitare o quanto meno ridurre le fenomenologie descritte, si può analizzare la possibilità di utilizzare polimeri come rivestimento di sistemi protesici per applicazioni ortopediche.

In accordo con l'obiettivo di chirurghi ed ortopedici, cioè al fine di ottimizzare la riparazione ossea in termini temporali, qualitativi e pratici, questo lavoro consiste nella ricerca delle migliori condizioni biomeccaniche che diano luogo alla pratica di endoprotesi.

In particolare, il progetto consiste nel ricoprire chiodi intramidollari con polimeri biodegradabili che abbiano una duplice funzionalità:

- stabilizzazione della protesi
- rilascio di farmaci e/o growth factors
- scaffolds per la crescita di osteoblasti

I materiali candidati per tale applicazione sono PCL (policaprolattone), miscele di PCL ed polimeri naturali (es. agarosio) e compositi costituiti da PCL e Fosfati di Calcio.

Il vantaggio di utilizzare il PCL consiste, indipendentemente dalla elevata biocompatibilità ed ottimale biodegradabilità, è la facile processabilità che può avvenire a temperatura ambiente mediante solventi ed allo stato fuso con temperature che non superano i 60°C.

L'ottimizzazione del materiale per il rivestimento di chiodi e/o protesi avverrà mediante la caratterizzazione chimica fisica delle diverse composizioni, la definizione di tecnologie per la preparazione di rivestimenti e scaffolds, la caratterizzazione meccanica. Cinetica di assorbimento d'acqua e rilascio farmaci.

Il quadro verrà poi analizzato nella sua mediante Rx seriate.

## Ambiti di applicazione

Sebbene l'osteogenesi imperfetta sia malattia relativamente rara (>1:10.000 nati) nell'ambito del gruppo Italiano vengono attualmente seguiti più di 200 pazienti affetti, inoltre la patologia essendo ormai ben definita in ambito di deficit genetico e biochimico appare un valido modello applicativo per altre situazioni di ritardata, alterata o insufficiente consolidazione ossea, nonché in tutti i casi in cui è necessaria l'asportazione di parti ossee per patologie neoplastiche o traumatiche complesse.

I tempi di realizzazione di tale progetto vanno da 1 a 2 anni.

## Bibliografia

- Antoniazzi F, Mottes M, Fraschini P, Brunelli P. C., Tatò L.: Osteogenesis Imperfecta Practical Treatment Guidelines Pediatric Drugs 2000 Nov-Dec;2(6):465-488
- Ciapetti G, Ambrosio L, Savarino L, Granchi D, Cenni E, Baldini N, Pagani S, Guizzardi S, Causa F, Giunti A. Osteoblast growth and function in porous poly varepsilon -caprolactone matrices for bone repair: a preliminary study. *Biomaterials*. 2003 Sep; 24(21): 3815-24.
- Davies JH, Gregory JW. Radiographic long bone appearance in a child administered cyclical pamidronate. *Arch Dis Child*. 2003 Oct;88(10):854
- Forlino A, Porter FD, Lee EJ, Westphal H, Marini JC 1999 Use of the Cre/lox recombination system to develop a non-lethal knock-in murine model for osteogenesis imperfecta with an 1(I) G349C substitution. Variability in phenotype in BrtlIV mice. *J Biol Chem* 274: 3792337931
- Grissom LE, Harcke HT. Radiographic features of bisphosphonate therapy in pediatric patients. *Pediatr Radiol*. 2003 Apr;33(4): 226-9. Epub 2003 Feb 15.
- Kalajzic, J. Terzic, Z. Rumboldt, K. Mack, A. Naprta, F. Ledgard, G. Gronowicz, S. H. Clark, and D. W. Rowe. Osteoblastic Response to the Defective Matrix in the Osteogenesis Imperfecta Murine (oim) Mouse *Endocrinology*, May 1, 2002; 143(5): 1594 - 1601.
- M. Peacock, C. H. Turner, M. J. Econs, and T. Foroud. Genetics of Osteoporosis. *Endocr. Rev.*, June 1, 2002; 23(3): 303 - 326.
- Marini J.C. Do bisphosphonates make children's bones better or brittle? *N Engl J Med*. 2003 Jul 31;349(5):423-6.
- Montpetit K, Plotkin H, Rauch F, Bilo-deau N, Cloutier S, Rabzel M, Glorieux FH. Rapid increase in grip force after start of pamidronate therapy in children and adolescents with severe osteogenesis imperfecta. *Pediatrics*. 2003 May; 111(5 Pt 1):e601-3.
- Zeitlin L, Rauch F, Plotkin H, Glorieux FH. Height and weight development during four years of therapy with cyclical intravenous pamidronate in children and adolescents with osteogenesis imperfecta types I, III, and IV. *Pediatrics*. 2003 May;111(5 Pt 1):1030-6.

**BASI GENETICHE DELL'AUTISMO E  
CORRELAZIONE CON LA DIMENSIONE  
CLINICO-FUNZIONALE; UN MODELLO DI  
INTERVENTO PER LA SALUTE MENTALE**

**Dr.ssa Maria Nobile**  
e-mail: mnobile@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 3**

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Background del progetto**

L'autismo è un disturbo Generalizzato dello Sviluppo caratterizzato da un pattern di ritardi/atipie a carico dello sviluppo sociale, comunicativo verbale e non verbale e da forme limitate, ripetitive e stereotipate del comportamento, degli interessi e delle attività (A.P.A. 1995). L'autismo ha un esordio nei primi anni di vita, alterando i normali processi evolutivi e di sviluppo cognitivo. Accanto alle forme francamente autistiche nelle classificazioni diagnostiche (DSM-IV, ICD-10) vengono descritti quadri clinici frustrati definiti "non altrimenti specificati" che rappresentano uno "Spettro" abbastanza ampio del disturbo stesso specie nella prima infanzia (Autism Disorders Spectrun ADS).

Il disturbo autistico, ed ancor di più i disturbi dello spettro autistico, risultano essere eterogenei sia nella presentazione clinica, che nella modalità di sviluppo, strettamente associata al funzionamento cognitivo. Mentre fino a 10 anni fa la prevalenza del disturbo era stimata intorno a 2-4 su 10000, gli ultimi studi suggeriscono una prevalenza fino a 6/1000 con un tasso stimato di 1 su 500 nati se si considerano i disturbi dello spettro autistico (Prior M 2003).

Diversi studi familiari, sui fratelli e sui gemelli dimostrano come la componente genetica sia un fattore importante di suscettibilità alla malattia. (Fonbonne et al 1999, Bailey et al 1996, Rutter et al 1990). Il tasso di concordanza per la malattia tra gemelli omozigoti è stimato attorno al 64%, per i gemelli eterozigoti al 9% ed il rischio di avere la stessa malattia è tra il 3-4% per un bambino che abbia un fratello affetto da autismo, circa 75 volte maggiore della popolazione generale. L'ereditabilità, cioè la quota di varianza del disturbo spiegata da fattori genetici è stimata tra 80% e 90% (Folstein SE and Rosen-Sheidley B 2001). Come in altre malattie complesse, l'ipotesi genetica prevede che la malattia dipenda

dall'effetto combinato di diversi loci, posti su cromosomi differenti ed interagenti tra loro e con l'ambiente. Il numero minimo stimato dei geni coinvolti va da 2-10 a > 10-15 a dimostrazione dell'eterogeneità genetica. Ciascun gene avrebbe un ruolo eziologico "parziale" nel determinare il fenotipo (geni ad effetto "minore"): livelli di gravità fenotipica diversa, sino a giungere alla malattia conclamata, dipenderebbero dagli effetti complessi della interazione tra loci. la suscettibilità all'autismo comporterebbe anche la suscettibilità a manifestazioni di forme più lievi di ADS o "sottosoglia". Questo modello fornisce una base biologica all'ipotesi clinica di spettro del disturbo autistico e spiega la vasta gamma di espressioni fenotipiche che si rilevano nella pratica clinica.

Per identificare i geni coinvolti nella suscettibilità all'ADS sono state utilizzate differenti strategie, dalla citogenetica alla biologia molecolare, inclusi studi di linkage estesi all'intero genoma e studi di associazione con geni candidati.

Tra i risultati più significativi l'identificazione di un primo gene per l'Autismo in 7q [che premetterebbe di distinguere tra forme di Autismo con e senza associati disturbi del linguaggio (Collaborative Linkage Study on Autism 2001). e la identificazione sul cromosoma 15q11-13 (area coinvolta anche nelle Sindromi di Prader Willi e di Angelman) di un locus responsabile per il comportamento ripetitivo e stereotipo nell'Autismo (Shao et al 2003). Altre regioni cromosomiche di interesse si trovano in 2q, 6q, 7q, 10q e 16q (IMGSAC 1998, Philippe et al 1999, Risch et al 1999, Ashley-Koch et al 1999, Persico et al 2001, Buxbaum et al 2001).

Sono state recentemente descritte mutazioni a carico dei geni NLGN3 e NLGN4, entrambi sul cromosoma X, in casi familiari di autismo (Jamain et al 2003). Questi geni sono candidati ideali per un'analisi di mutazione nei soggetti della nostra casistica.

Le indagini relative ad altri geni candidati suggeriscono un possibile ruolo di Reelin, FMR1, FMR2; Triptofano Idrossilasi, Recettore Dopaminergico DRD3, promotore per il trasportatore della serotonina (5HTTLPR) e c-HRAS (Herault et al 1993.), e per il gene GABRB3 localizzato all'interno della regione deleta nella sindrome di Angelman e Prader-Willi in 15q11-q13, anche se tuttora mancano evidenze definitive.

Il problema attuale è, quindi, l'esistenza di un disturbo eterogeneo sul piano clinico e genetico con importanti ripercussioni sull'intervento riabilitativo e quindi sulla prognosi dei pazienti autistici.

### Obiettivi principali

L'obiettivo finale del progetto è un miglioramento della conoscenza dell'eziologia dell'Autismo e delle patologie ad esso correlate.

La comprensione delle basi biologiche della malattia, il raffinamento della identificazione del fenotipo e la conoscenza delle loro interrelazioni reciproche sono premesse indispensabili per ricostruire su nuove basi i percorsi diagnostici/identificativi della patologia e proporre migliori strategie di intervento e terapia.

Il raggiungimento di tale scopo è conseguibile attraverso:

- l'identificazione di una popolazione di pazienti autistici omogenea sul piano nosografico e di profilo funzionale;
- lo studio dell'associazione genetica dell'Autismo e dei diversi profili funzionali con possibili geni candidati ed in un secondo tempo con le regioni cromosomiche identificate come sede di possibili loci di suscettibilità alla malattia (7q31, 16p, 15q11-13, 2q, 6q21 e 10q).

Sarà quindi possibile valutare l'impatto dei geni candidati o delle regioni cromosomiche a rischio non solo con diagnosi categoriali ma anche con profili funzionali e valutare l'interazione tra i diversi loci di suscettibilità alla malattia nel determinare fenotipi funzionali differenti.

### Materiali e Metodi

Il campione clinico deriva dalla popolazione dei pazienti seguiti attualmente seguiti dalla Unità di Psicopatologia NR2 dell'Istituto Scientifico E. Medea.

Il disegno sperimentale prevede che il campione sia raccolto secondo metodologie complementari, sia con uno schema caso-controllo tradizionale (Risch and Botstein, 2003) e con uno schema TDT (Transmission Disequilibrium Test) dove il "caso" è il paziente affetto ed il "controllo" è rappresentato dai cromosomi non trasmessi della coppia genitoriale (Spielman RS et al 1993)

Particolare attenzione verrà inoltre dedicata alla raccolta di famiglie con più di un soggetto affetto (MULTIPLEX).

### Diagnosi clinica

Verrà seguito un percorso di diagnosi clinica secondo le linee guide suggerite dalla *Child Neurology Society e dalla American Academy of Neurology (1999)*. La diagnosi sarà posta utilizzando i criteri diagnostici del DSM-IV e dell'ICD-10.

#### Definizione del fenotipo funzionale:

- Valutazione neuropsichiatria: Childhood Autism Rating Scale (CARS) (Schopler et al., 1988); l'Autistic Diagnostic Observation Schedule (ADOS - G) (Lord et al 1999). Queste scale saranno somministrate da clinici esperti e specificamente addestrati all'uso di queste scale ed autorizzati dagli Autori delle stesse.
- Per la valutazione del funzionamento cognitivo globale saranno utilizzati i seguenti strumenti in base alle caratteristiche del paziente: Leiter, Griffith, Stanford Binet (1964), Scale Weschler: WPPSI (1973) e WISC-R (1986);
- Valutazione del profilo di sviluppo neuropsicologico: -valutazione linguistica con esame del linguaggio recettivo/espressivo e analisi della pragmatica della comunicazione; -prove di sviluppo e organizzazione motoria; valutazione psico-educative: somministra-

zione della Scala Vineland per il livello adattivo (Sparrow et al., 1984) e PEP-R; analisi delle funzioni esecutive e Nepsy.

### Indagine genetica

In seguito a consenso informato raccolto dai genitori del paziente, in accordo ai criteri internazionalmente riconosciuti, verranno prelevati 5-10 ml di sangue venoso dal paziente e dalla coppia genitoriale o da un soggetto di controllo, nel caso i genitori non vogliano o non possano partecipare allo studio.

Riuscire a definire l'architettura genetica di un tratto genetico complesso (come l'autismo ed i disturbi dello spettro autistico) e identificare le singole componenti del tratto e scomporle negli elementi base risulta essere un'operazione difficile. Nell'attualità la metodologia più appropriata per questo genere di indagini prevede di utilizzare un approccio di Associazione genetica, tramite tecniche e strategie definite di Linkage Disequilibrium (Risch & Botstein, 2003), particolarmente sensibile nella rilevazione di suscettibilità genetica ai disordini multifattoriali.

Verranno quindi esplorate le seguenti associazioni:

- con geni già identificati quali: NLGN3, NLGN4 e un gene candidato il Trasportatore della Serotonina.
- Verranno analizzate le sequenze genomiche alla ricerca di nuovi geni candidati nelle regioni critiche in 2q, 7q, 15q

Grazie a tecniche e metodologie bioinformatiche, verranno selezionate delle sub-regioni cromosomiche critiche, dove verrà indagata la presenza di polimorfismi significativi (SNP o Polimorfismi a Singoli Nucleotidi) e degli aplo tipi da essi derivabili di cui sarà possibile verificare l'associazione genetica. A seguito di un dato di associazione positiva, sarà possibile l'identificazione di quegli specifici polimorfismi che sono responsabili della componente eziopatogenetica relativa al gene coinvolto.



**IMPULSIVITÀ COME TRATTO PSICOBIOLOGICO TRANS-DIAGNOSTICO: STUDIO DEI DETERMINANTI GENETICI SEROTONINERGICI**

**Dr.ssa Maria Nobile**

e-mail: mnobile@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 3**

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale**

L'impulsività è stata frequentemente descritta come tratto associato in misura più o meno grave alla psicopatologia (ADHD, ansia, depressione, disturbo borderline di personalità, disturbi del comportamento alimentare etc.) risultando essere una dimensione transnosologica. Tuttavia essa è stata caratterizzata in modi diversi a seconda del disturbo in cui è stata studiata: nell'ADHD come tendenza a "sparare" le risposte prima che le domande vengano terminate, nella depressione come tentativi di suicidio, nel disturbo borderline di personalità come tendenza all'acting out e all'assunzione di condotte a rischio etc. Infine, uno stile di risposta impulsivo è stato anche evidenziato in alunni con disturbo specifico di comprensione della lettura. A fronte della complessità di tale dimensione, Barratt e Patton (1983) hanno proposto una definizione dell'impulsività inclusiva delle diverse espressioni, cognitive e comportamentali, osservate, e cioè come la tendenza a rispondere rapidamente e ad agire senza riflettere o pianificare e ad assumere condotte a rischio (risk-taking) e, più in generale, come scarsa capacità controllo e autoregolazione delle risposte.

La presenza di tante differenti descrizioni dell'impulsività ha comportato lo sviluppo di diversi strumenti di misura tra cui questionari, auto- o etero-somministrati e test cognitivi spesso tra loro non correlati. Barratt e colleghi hanno infatti evidenziato che, mentre i questionari che misurano l'impulsività sono in genere tra loro correlati, gli altri tipi di test che misurano l'impulsività, come ad es. il Matching Familiar Figure Test di Kagan (1966) in genere non correlano con questionari che descrivono una dimensione comportamentale. Per questo motivo, per ottenere una completa descrizione dell'impulsività nella psicopatologia nelle sue diverse manifestazioni, è importante utilizzare sia questionari che test cognitivi.

Tra i questionari specifici nel misurare l'impulsività nei bambini vengono utilizzati: la Scala globale del comportamento Esternalizzato della Child Behavior Check-List (Achenbach), le scale "Restless/Impulsive" e "Hyperactive/impulsive" della scala "Conners' Parent Rating Scale".

Studi recenti suggeriscono l'importanza del fattore età e sesso nell'espressione clinica della Depressione in età evolutiva con comportamenti più esternalizzati caratterizzati da irrequietezza motoria, impulsività, comportamenti aggressivi ed oppositivi nei maschi piccoli e maggiore tendenza a comportamenti internalizzati di ritiro sociale ed ansia nelle adolescenti. Questo può essere legato a fattori biologici e culturali.

Una certa relazione tra iperattività/impulsività e depressione è derivabile anche dalla osservazione clinica che bambini ADHD spesso crescendo manifestano un Disturbo dell'Umore.

I test neuropsicologici che misurano l'impulsività valutano in generale: la velocità di risposta (l'impulsività si caratterizza per tempi brevi accompagnati da un alto numero di errori) e la capacità di inibire l'esecuzione di risposte prepotenti, sia motorie che verbali. Tra le misure più utilizzate ci sono la rapidità della risposta nel Matching Familiar Figure Test (MFFT-Kagan) e nel test della Torre di Londra, il numero di errori al Continuous Performance Test (CPT) e il numero di percorsi corretti al test Walk don't walk (Batteria TaeCh-Robertson) (inibizione risposta motoria) e lo Stroop (inibizione verbale).

La capacità di autoregolazione, e quindi il controllo esercitato sulla risposta, è un'importantissima funzione esecutiva alla base di qualsiasi attività di problem solving sia cognitivo che interpersonale. Come tutte le funzioni esecutive, anche la funzione inibitoria è coordinata a livello del lobo frontale.

Gli studi che hanno esplorato le manifestazioni neuropsicologiche dei depressi, descrivono prevalentemente la presenza di significative difficoltà attentive e rigidità del pensiero, misurato attraverso WCST (Merriam et al. 1999; Channon, 1996; Fossati e al. 2001) e prove di fluenza verbale (Fossati, 2003). Gli studi relativi alla impulsività, utilizzando strumenti comuni alla ricerca su bambini ADHD, sono pochi e recenti e non sempre chiari. In particolare, Palladino et al (1997) trovano una relazione tra stile impulsivo di risposta, misurato attraverso gli indici di accuratezza e di velocità di risposta al test MF20 e percezione soggettiva di disagio emotivo, valutata attraverso il CDI. Tale studio è stato svolto su un campione non clinico di bambini. La relazione tra impulsività/irrequietezza sul piano neuropsicologico e depressione è suggerita dall'osservazione clinica di una discreta probabilità (%) dei bambini con diagnosi di ADHD di manifestare in preadolescenza un Disturbo dell'umore (Achenbach).

Questo studio suggerisce quindi un'analogia tra l'impulsività espressa da depressi ed ADHD in età evolutiva, con prestazioni caratterizzate da tempi di risposta brevi ed elevato numero di falsi allarmi al test MF20. Resta tuttavia dubbio come questo stile di risposta impulsivo possa conciliarsi con l'osservazione clinica nei pazienti depressi di rallentamento psicomotorio ed indecisione.

Un'altra analogia tra pazienti depressi ed ADHD riguarda le difficoltà attentive e la riluttanza ad affrontare compiti non automatizzati che richiedono sforzo mentale. Le difficoltà attentive osservate in entrambi i gruppi clinici si riferiscono a prove di attenzione selettiva, le quali comportano l'attivazione del giro cingolato anteriore (Ravnikilde et al. 2002).

La manifestazione comportamentale dell'impulsività avviene quindi sotto forme diverse negli individui sani o affetti da patologie psichiatriche (es nella de-

pressione sotto forma di condotte suicide, nell'ADHD sotto forma di scelte impulsive), anche se, in accordo a recenti studi la disfunzione neuropsicologica e/o neurobiologica sottostante appare essere condivisa da tutti questi soggetti (Swann et al 2002). In particolare, sia all'impulsività che all'aggressività nelle varie categorie diagnostiche sembra, infatti, essere sottesa una comune origine psicobiologica: una disfunzione del sistema serotoninergico (Lesch et al 2000). Questo è un sistema ad alto controllo genetico: ricordiamo il gene regolatore del trasportatore della serotonina, la triptofano Idrossilasi e la Mono amino ossidasi ed i geni codificanti per i recettori serotoninergici: 5HT1A, 5HT2.

### Obiettivo

Questo studio si propone in primo luogo di fornire una descrizione dei comportamenti impulsivi e di irrequietezza riscontrati in bambini ed adolescenti depressi ed in secondo luogo di precisare la relazione tra questi comportamenti esternalizzati e lo stile di risposta e le difficoltà attentive in un gruppo di bambini ed adolescenti depressi confrontati con un gruppo di controllo.

In secondo luogo si propone di valutare la quota di impulsività nel corso del Disturbo da Deficit di Attenzione e Iperattività sia da un punto di vista comportamentale che neuropsicologico.

Ed infine si propone di investigare la possibile correlazione tra il profilo comportamentale e neuropsicologico rilevato nei diversi disturbi (ADHD e Depressione) e l'assetto genetico di alcuni marcatori genetici del sistema serotoninergico.

### Bibliografia essenziale

- Moeller F, Barratt ES, Dougherty DM, Schmitz JM, Swann AC: Psychiatric Aspects of Impulsivity. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 1783-1793
- Swann AC, Bjork JM, Moeller FG, Dougherty DM: Two Models of Impulsivity: Relationship to Personality Traits and Psychopathology. *Biol Psychiatry* 2002; 51: 988-994.
- Lesch KP, Merschdorf U: Impulsivity, Aggression and Serotonin: a molecular psychobiological perspective. *Behav Sci Law* 2000

**DISTURBO DELL'ATTENZIONE  
SELETTIVA NELLA DISLESSIA  
EVOLUTIVA: UN'IPOTESI COLINERGICA**

**Dr. Andrea Facoetti**  
e-mail: afacchetti@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 3**  
Psicopatologia dello sviluppo, del  
linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

Sebbene la Dislessia Evolutiva (DE) sia comunemente considerata una disfunzione linguistica, precisamente fonologica (Ramus, 2003), recenti evidenze sperimentali sembrano indicare che i deficit fonologici possano essere causati da primari disturbi multi-modalità (e.g., visivi e uditivi) dell'attenzione selettiva (Hari & Renvall, 2001).

La nostra ipotesi prevede che una disfunzione dell'attenzione selettiva sia il "cuore" della DE (Facoetti et al., 2003). Infatti, l'abilità di focalizzare rapidamente l'attenzione, aumentando l'elaborazione del "segnale" e riducendo l'elaborazione del "rumore", è la funzione cruciale implicata nella procedura seriale di apprendimento della lettura (i.e., via sub-lessicale) (Cestnick & Coltheart, 1999).

Nel sistema nervoso centrale la funzione di attenzione selettiva spaziale è associata ad aree del lobo parietale posteriore e della giunzione parieto-temporale (Corbetta et al. 2000), che ricevono proiezioni di tipo colinergico dalle aree del Basal forebrain. Studi su scimmie rhesus sembrano confermare che un tono colinergico reso deficitario a livello della corteccia intraparietale determina alterazioni dell'attenzione selettiva spaziale (Davidson & Marrocco 2000).

Recentemente la letteratura ha riportato che in individui adulti, non dementi, l'allele  $\epsilon 4$  del locus APOE, allele che conferisce un elevato rischio di morbidità per la malattia di Alzheimer, sembra condizionare alterazioni specifiche dell'attenzione selettiva (Greenwood et al. 2000).

Studi in pazienti con Alzheimer e studi in vitro suggeriscono un legame tra il tono colinergico centrale e APOE, nel senso che sembra che l'allele  $\epsilon 3$  potenzi gli effetti protettivi degli agenti neurotrofici nei neuroni colinergici, anche se non sono a disposizione dati conclusivi.

**Obiettivo**

L'obiettivo della ricerca è verificare se nei dislessici varianti genetiche a livello di geni candidati del sistema colinergico o l'allele  $\epsilon 4$  per l'APOE, sono in linkage disequilibrium con il deficit dell'attenzione selettiva, specificamente alterata nei dislessici.

La ricerca proposta rappresenta anche una novità in termini di studio puramente neuropsicologico. Nessuna ricerca in ambito neuroscientifico ha infatti studiato sia la componente spaziale che quella temporale dell'attenzione selettiva nel medesimo campione di soggetti con DE.

La procedura sperimentale prevede un campione di circa 150 soggetti con dislessia evolutiva; il bambino dislessico deve svolgere un test sperimentale di attenzione spaziale (45 minuti) durante i quali deve rispondere ad una serie di stimoli visivi e successivamente ad una serie di stimoli uditivi con un agito. Verranno somministrate delle prove neuropsicologiche sulle capacità di lettura e calcolo, che completano l'indagine clinica di routine svolta in Istituto Scientifico (45 minuti). Si raccoglie la saliva per l'analisi del dna al bambino ed ai genitori. Infine il genitore ed il bambino (se di età compresa tra gli 11-18 anni) compilano dei questionari sul comportamento. La collaborazione può estendersi anche ad ogni fratello di età compresa tra i 7 e i 18 anni per l'approfondimento delle componenti ereditarie; la valutazione del fratello includerà una batteria di tests neuropsicologici sulla capacità di lettura, il test dell'attenzione spaziale e la compilazione dei questionari sul comportamento da parte del bambino (se di età compresa tra gli 11-18 anni) e dei genitori. Infine verrà raccolto un campione di saliva. Verrà reclutato inoltre un campione di volontari sani (circa 20 bambini). La valutazione del volontario sano includerà una batteria di tests neuropsicologici sulle capaci-

tà di lettura e di calcolo, il test dell'attenzione spaziale e la compilazione dei questionari sul comportamento da parte del bambino (se di età compresa tra gli 11-18 anni) e dei genitori. Infine verrà raccolto un campione di saliva.

Il paziente viene reclutato tra i bambini dislessici che vengono ricoverati in Istituto Scientifico (circa 4/mese) oppure tra coloro che stanno frequentando la Riabilitazione (con diagnosi già confermata) (circa 2/mese); inoltre verranno ricontattati i dislessici (145) che hanno in passato partecipato alla ricerca corrente 2001 "STUDIO DI LINKAGE TRA FENOTIPI QUANTITATIVI DELLA DISLESSIA E GENI CANDIDATI" proponendo loro la partecipazione all'attuale (si prevedono circa 3/mese). In questo modo il reclutamento dovrebbe essere di circa 9 dislessici al mese, fino a garantire un campione di circa 150 dislessici entro i due anni. Il numero di fratelli reclutati non ha un limite minimo né massimo. Verrà reclutato inoltre un campione di volontari sani (circa 20 bambini) in una scuola elementare (ancora non precisabile) per il controllo della metodica sull'attenzione spaziale.

Geni candidati per il sistema colinergico e l'APOE verranno tipizzati per ogni soggetto del campione e per i genitori biologici. Si valuterà se esiste una correlazione tra varianti alleliche di geni candidati e misure quantitative dell'attenzione selettiva nei dislessici e se queste sono tra loro in linkage disequilibrium.

### Geni candidati

Geni che codificano per

1. i recettori per l'acetilcolina di tipo nicotinic: CHRNA7 CHRNA3 CHRNA4 CHRN2
2. l'enzima acetilcolintransferase (ChAT) CHAT
3. il trasportatore vescicolare dell'acetilcolina (VAcHT) SLC18A3
4. APOE

### Reference

- Cestnick, L., & Coltheart, M. (1999). The relationship between language-processing and visual-processing deficit in developmental dyslexia. *Cognition*, 71, 231-255.
- Corbetta M., Kincade JM, Ollinger JM, Mc Avoy MP, Shulman G. (2000). Voluntary orienting is dissociated from target detection in human posterior parietal cortex, *Nature Neuroscience* 3, 292-297
- Davidson MC and Marrocco RT (2000). Local infusion of scopolamine into intraparietal cortex slows covert orienting in rhesus monkeys. *J Neurophysiol* 83:1536-1549
- Facchetti, A., Lorusso, M.L., Paganoni, P., Cattaneo, C., Galli, R., Umiltà, C., & Mascetti, G.G. (2003d). Auditory and visual automatic attention deficits in developmental dyslexia. *Cognitive Brain Research*, 16, 185-191.
- Greenwood PM, Sunderland T, Friz JL, and Parasurman R (2000). Genetics and visual attention: selective deficits in healthy adult carriers of the E4 allele of the apolipoprotein E gene. *PNAS* 97, 11661-11666
- Hari, R., & Renvall, H. (2001). Impaired processing of rapid stimulus sequences in dyslexia. *Trends in Cognitive Sciences*, 5, 525-532.
- Posner, M.I. (1980). Orienting of Attention. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 32, 3-25.
- Ramus, F. (2003). Developmental dyslexia: Specific phonological deficit or general sensorimotor dysfunction? *Current Opinion of Neurobiology*, 13, 212-218.
- Shapiro, K. (2001). *The limits of attention: temporal constraints on human information processing*. Oxford University Press.

**L'ATTACAMENTO IN UN CAMPIONE DI BAMBINI MALTRATTATI****Dr.ssa Alessandra Frigerio**

e-mail: frigerio@bo.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 3**

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente**Periodo di svolgimento:** 2004**Polo Scientifico:** Bosisio Parini**Collaborazioni**

University College subdepartment of clinical and health psychology

**Background**

«Il comportamento di attaccamento è quella forma di comportamento che si manifesta in una persona che consegue o mantiene una prossimità nei confronti di un'altra, chiaramente identificata, ritenuta in grado di affrontare il mondo in modo adeguato. Questo comportamento diventa evidente ogni volta che la persona è spaventata, affaticata o malata, e si attenua quando si ricevono conforto e cure» (Bowlby, 1988).

L'attaccamento del bambino all'adulto che si prende cura di lui può essere sicuro, quando egli ha la possibilità di contare sulla presenza di un caregiver disponibile e in grado di rispondere ai suoi bisogni, oppure insicuro quando ciò non si verifica perché il caregiver è assente o presente in modo intermittente (attaccamento evitante/ansioso-resistente). Più recentemente è stato individuato da Mary Main (1990) un altro stile di attaccamento, denominato disorganizzato, in base al quale le risposte comportamentali del bambino di fronte alla figura di accudimento appaiono inspiegabilmente disorganizzate, conflittuali e inesplicabili (es. congelamento, stereotipie..).

Gli studi che hanno analizzato l'attaccamento come fattore di rischio psicopatologico hanno trovato un'associazione tra questo pattern di attaccamento e la presenza di comportamenti sia externalizzanti che internalizzanti (Lyons-Ruth, 1996), sintomi dissociativi (Carlson, 1998), condotte antisociali (Troy & Sroufe 1987).

Il pattern di attaccamento disorganizzato sembra essere l'effetto diretto di comportamenti spaventanti o di traumi, o l'effetto secondario di caregivers spaventati che non hanno risolto le loro esperienze di trauma o di perdita (Main & Hesse, 1990). I dati sperimentali sostengono questo tipo di ipotesi; sono state infatti trovate associazioni tra attaccamento disorganizzato e maltrattamen-

to, esperienze genitoriali di lutto non risolto, abuso d'alcool e di droghe.

Recentemente è stata inoltre trovata un'associazione tra polimorfismi (48bp e 521 C/T promoter) del gene per il recettore D4 (DRD4) e l'attaccamento disorganizzato in campioni di bambini non a rischio (Lakatos et al., 2000; 2002; 2003), mentre mancano studi di questo tipo su campioni ad alto rischio.

**Obiettivi**

L'obiettivo generale di questo studio è di approfondire gli antecedenti e i correlati cognitivi ed emotivi dell'attaccamento disorganizzato. In particolare, lo studio si pone i seguenti obiettivi specifici: 1) valutare l'interazione Gene (DRD4) X Ambiente (Maltrattamento) sull'attaccamento; 2) analizzare l'associazione tra patterns di attaccamento (con particolare attenzione a quello D), funzionamento cognitivo (attenzione) e sviluppo emotivo.

**Metodologia**

1. Campione: Il campione sarà costituito da 30 bambini vittime di maltrattamento e/o trascuratezza, temporaneamente accolti in Comunità di Pronto Intervento per Madri e Figli, di età compresa tra i 12 e i 18 mesi e 30 soggetti di controllo (appaiati per sesso, età e, possibilmente, livello socioeconomico).
2. Strumenti: L'attaccamento nella prima infanzia verrà studiato attraverso una procedura strutturata di osservazione, definita Strange Situation (Ainsworth et al., 1978), progettata in modo da determinare l'attivazione graduale e di intensità crescente dei pattern di attaccamento nel bambino. Tale procedura comporta un livello di stress moderato, della durata di circa 20 minuti, costituito da sette brevi episodi di separazione e riunione con la

madre. La valutazione del funzionamento cognitivo ed emotivo verrà effettuata attraverso procedure strutturate di laboratorio, come ad esempio "The Laboratory Temperament Assessment Battery" (Goldsmith & Rothbart, 1996) per l'analisi di alcune emozioni di base (paura, rabbia, gioia).

Il prelievo del materiale biologico, considerata l'età dei partecipanti, verrà effettuato attraverso l'asportazione di cellule epiteliali boccali tramite delle apposite spatoline (per una descrizione della procedura di estrazione del DNA si veda Lakatos et al., 2000). Le genotipizzazioni verranno effettuate "in cieco" da un biologo non a conoscenza dei pattern di attaccamento.

### Prodotti attesi

La valutazione delle componenti ambientali e genetiche dell'attaccamento madre-bambino può fornire un importante e significativo contributo in merito alla formazione del legame di attaccamento, con particolare attenzione a quello disorganizzato. L'approfondimento di tale pattern di attaccamento, che risulta essere dalla letteratura sull'argomento un fattore predittivo di psicopatologia, potrà avere notevoli implicazioni cliniche nell'intervento sui bambini ad alto rischio psicosociale.

Il progetto di ricerca è strutturato in modo da prevedere, oltre alle ordinarie comunicazioni circa l'avanzamento dei lavori e dei risultati raggiunti, dati che saranno la base per pubblicazioni in riviste internazionali "peer reviewed" e citate nei Current Contents. In considerazione dei tempi di attuazione del programma, tre anni, e dei tempi intercorrenti tra la sottomissione di un lavoro scientifico e la sua comparsa sulla stampa scientifica internazionale (media: 1 anno), si può ritenere che i primi dati possano vedere la pubblicazione a 3 anni dall'inizio della ricerca.

### Bibliografia

- Ainsworth MDS, Blehar MC., Waters E., Wall S. (1978). Pattern of attachment: A psychological study of the strange situation. Hillsdale, NJ: Erlbaum
- Bowlby (1988) A secure base. New York. Basic Books
- Carlson EA (1998). A prospective longitudinal study of disorganized/dioriented attachment. *Child Development*, 69, 1970-1979
- Goldsmith HH., Rothbart MK. (1996) The Laboratory Temperament Assessment Battery (LAB-TAB): Locomotor version 3.0. Technical manual, Department of psychology, University of Wisconsin, Madison, WI.
- Lakatos K., Toth I, Nemoda Z., Ney K., Sasvary-Szekely M., Gervai J. (2000). Dopamine D4 receptor (DRD4) gene polymorphism is associated with attachment disorganization in infants. *Molecular Psychiatry*, 5, 633-637
- Lakatos K. Nemoda Z., Toth I, Ronay Z., Ney K., Sasvary-Szekely M., Gervai J (2002). Further evidence for the role of the dopamine D4 receptor, (DRD4) gene in attachment disorganization: interaction of the exon III 48-bp repeat and the 521 C/T promoter polymorphisms. *Molecular Psychiatry*, 7, 27-31
- Lakatos K, Nemoda Z, Birkas E, Ronai Z, Kovacs E, Ney K, Toth I, Sasvari-Szekely M, Gervai J (2003): Association of D4 dopamine receptor gene and serotonin transporter promoter polymorphisms with infants' response to novelty. *Molecular Psychiatry* 8: 90-7.
- Lyons Ruth K (1996). Attachment relationships among children with aggressive behaviour problems: the role of disorganized early attachment patterns. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 64, 64-73
- Main M & Hesse E (1990). Parents' unresolved traumatic experiences are related to infant disorganized attachment status: Is frightened and/or frightening paternal behaviour the linking mechanism? In MT Greenberg, D. Cicchetti & EM Cummings (Eds), *Attachment in the preschool years: Theory, research and intervention* (pp.121-160). Chicago: University of Chicago Press.
- Main M & Solomon J (1990). Procedures for identifying infants as disorganized/disoriented during the Ainsworth strange situations. In MT Greenberg, D. Cicchetti & EM Cummings (Eds), *Attachment in the preschool years: Theory, research and intervention* (pp.121-160). Chicago: University of Chicago Press.
- Troy M & Sroufe LA (1987). Victimization among pre-schoolers: Role of attachment relationship history. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 26, 166-172.

**STUDIO DELLE COMPETENZE  
COMUNICATIVE PRAGMATICHE IN  
PAZIENTI CON AGENESIA DEL CORPO  
CALLOSO**

**Prof. Franco Fabbro**  
e-mail: [fabbro@sv.lnf.it](mailto:fabbro@sv.lnf.it)

**Linea di Ricerca n. 3**  
Psicopatologia dello sviluppo, del  
linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:**  
San Vito al Tagliamento

**Razionale**

Il coinvolgimento delle strutture di connessione callosali nelle funzioni psichiche superiori ha visto di recente un rinnovarsi dell'interesse nei ricercatori. Specificamente, il contributo del corpo calloso allo sviluppo delle abilità linguistiche è sempre più chiamato in causa.

Alcuni studi mostrano che bambini con disturbi specifici di linguaggio, così pure con dislessia presentano dei deficit nella trasmissione callosale, siano essi rilevati nella modalità tattile, visuo-motoria o attraverso compiti di lettura tachistoscopica lateralizzata (Fabbro, Pesenti, Facchetti, Bonanomi, Libera, Lorusso, 2001; Fabbro, Tavano, Libera, 2002; Markee, Brown, Moore, Theberge, 1996; Moore, Brown, Markee, Theberge, Zvi, 1996; Wenekes, Njiokiktjien, 1991). In generale vi è accordo nell'interpretare questi dati come indici del ruolo che il corpo calloso svolgerebbe nei processi linguistici.

Quest'ipotesi verrebbe corroborata dalla scoperta di disturbi di linguaggio in soggetti con agenesia del corpo calloso. Tuttavia, i dati a questo riguardo non sono di univoca interpretazione. Dalla seconda metà degli anni '70 ai primi anni '90, una serie di studi ha evidenziato, da un lato, specifici deficit linguistici in pazienti con agenesia, in particolare di tipo fonologico (Dennis, 1981; Jeeves e Temple 1987; Temple e Ilsey, 1993; Temple, Jeeves, Villarroya, 1989; Temple, Jeeves, Villarroya, 1990). Altri autori mettevano in evidenza piuttosto la caduta a livello morfosintattico (Sanders, 1989; Sorensen, 1997), altri ancora ponevano maggiore enfasi su difficoltà di tipo pragmatico (Dennis, 1981). D'altro canto, autorevoli ricercatori sostenevano che i quadri di agenesia, confrontati con quelli dei pazienti commissurotomizzati, presentassero una totale assenza non solo di deficit linguistici (Sauerwin, Lassonde, 1994) ma anche di deficit di trasferimento callosale (Lassonde et al. 1981; Lassonde, Sauerwein, Chicoine, Geoffroy, 1991).

Mentre è stato confermato il fatto che i sintomi da disconnessione interemisferica sono meno intensi negli individui con mancanza congenita del corpo calloso rispetto ai quadri operati chirurgicamente, il postulato della sostanziale integrità delle funzioni psichiche, sia linguistiche sia di comunicazione interemisferica negli individui con agenesia è stata soppiantata da una fioritura di contributi empirici e teorici avvenuta nell'ultima decade.

Nello specifico, si riporta la rimarchevole lentezza nel trasferimento callosale interemisferico, mentre l'accuratezza, sarebbe relativamente risparmiata rispetto ai controlli, benché di qualità subottimale (Aglioti et al., 1998; Geffen et al. 1994).

Risulta, pertanto, interessante chiedersi se nei casi di agenesia il parziale recupero funzionale ascrivuto all'alto grado di plasticità neurologica, non comporti un costo sostanziale in termini evolutivi ampi. Ci si chiede, cioè, «se il recupero non implichi modalità di elaborazione dell'informazione "subottimali", che sono veramente buone, ma mai buone abbastanza come nelle forme di organizzazione neuronale che emergerebbero in circostanza di sviluppo normali» (Reilly, Bates, Marchman, 1998, p. 338). Pare dunque rilevante indagare quali conseguenze a lungo termine abbia la lentezza nella comunicazione interemisferica sullo sviluppo delle abilità linguistiche, che sono fortemente lateralizzate negli individui con sviluppo tipico.

Crescente attenzione è stata recentemente dedicata allo studio delle abilità pragmatiche di comunicazione nei pazienti con agenesia. Brown e Paul (2000) e Stickles, Schilmoeller e Schilmoeller (2002) riportano spiccate difficoltà nella comprensione pragmatica in tre casi di agenesia, uno dei quali, G., è stato seguito per ben 23 anni. Stickles et al. (2002) riportano che G. mostrava spesso difficoltà d'accesso lessicale e nu-

merose parafasie semantiche e verbali. Brown et al. (2000) descrivono prestazioni inadeguate nell'interpretazione di proverbi e una peculiare "omissione" del riferimento agli stati mentali in compiti di descrizione di storie figurate. Gli autori, che non approfondiscono l'eventuale presenza di deficit nelle teorie della mente associate a tale particolare omissione, riportano l'impatto di un linguaggio tanto concreto nella comunicazione e nelle relazioni interpersonali dei loro pazienti. Paul, Van Lancker Sidtis, Schieffer, Dietrich, Brown (2003) studiano 10 pazienti con agenesia e con normale QI, relativamente alle abilità linguistiche di tipo pragmatico e trovano che i pazienti non hanno difficoltà con la comprensione del significato letterale delle parole, ma cadono nell'interpretazione di proverbi. Inoltre, questi autori riscontrano specifiche difficoltà nell'analisi degli aspetti non segmentali della comunicazione (contorni intonazionali).

A questo proposito, è da osservare come deficit di tipo pragmatico, legati alla capacità di riconoscere il significato di espressioni figurate, metaforiche, o ironiche e di controllare e riconoscere la prosodia che connota il significato psicologico delle espressioni verbali, sono tipicamente riscontrati in pazienti con lesioni destre (Joannette et al., 2003, Reilly, Bates, Marchman, 1998). Il contributo dell'emisfero destro al processamento di informazioni linguistiche "sottili" come quelle appena descritte dovrebbe risultare particolarmente difficile nell'agenesia callosale, proprio perché l'integrazione fra i due emisferi non è altrettanto efficiente che nei soggetti senza danni cerebrali.

In aggiunta a ciò, vi è un dato evolutivo strettamente legato al quadro delle strutture comunicative linguistiche sin qui delineato. Si consideri che le abilità linguistiche di tipo pragmatico sono tradizionalmente studiate in rapporto alle

abilità narrative, come mostra uno special issue in *Brain e Language* del 1998 (vol. 61). In tale linea, si pone enfasi sul fatto che, nei bambini con percorso di sviluppo tipico, le competenze morfo-sintattiche sono per lo più completamente acquisite entro il primo ciclo della scuola elementare, mentre le abilità narrative seguitano a svilupparsi fino all'età adulta, specie per quanto riguarda la componente valutativa della narrazione (Labov, et al. in Dennis, 1998) e la capacità di inferire e descrivere con esplicitzza gli stati mentali dei protagonisti delle storie. Tali abilità cominciano ad essere padroneggiate tra i 7 e 10 anni di età. Mentre l'influenza dei processi di alfabetizzazione su questo accelerarsi dello sviluppo pragmatico è assolutamente plausibile e spesso indagato (Stein e Glenn, 1979), assai meno si sa del contributo dello sviluppo delle strutture neurologiche che consentono l'integrazione interemisferica. Tra queste strutture vi è, ovviamente, il corpo calloso, che termina i processi di mielinizzazione proprio intorno ai 10 anni.

Oggetto del presente studio è a) la valutazione delle abilità comunicative pragmatiche in un campione di pazienti con agenesia del corpo calloso; b) l'approfondimento delle relazioni tra tali abilità pragmatiche e le altre competenze di tipo linguistico (a livello fonologico, lessicale, sintattico e semantico); c) la costruzione di un quadro "dinamico" dell'evolversi delle competenze linguistiche attraverso un disegno di ricerca di tipo longitudinale.

### Materiali e metodi

**Campione.** Il campione selezionato nel presente studio è costituito da otto pazienti con le seguenti caratteristiche: a) agenesia del corpo calloso, completa o parziale, non associata ad altre malformazioni; b) livello di funzionamento intellettivo almeno ai bassi limiti della nor-

ma (QI tot. > 70). Tale campione è stato precedentemente testato nel corso di due ricerche correnti del 1997 e 2003 (Agenesia del corpo calloso isolata o associata ad altre malformazioni, Responsabile: R. Borgatti; Disturbi di Linguaggio nelle agenesie del corpo calloso, Responsabile: F. Fabbro).

**Procedura.** Gli otto pazienti precedentemente esaminati verranno sottoposti alla seguente serie di prove: 1) prove cliniche sulle abilità linguistiche; 2) prove di comprensione pragmatica di proverbi e metafore, prove di comprensione e produzione di differenti andamenti prosodici delle medesime espressioni linguistiche; 3) prove di produzione verbale di tipo descrittivo e narrativo; 4) prove sulle teorie della mente, di primo e secondo ordine.

1) TEST CLINICI DELLE ABILITÀ LINGUISTICHE. I pazienti saranno testati con una batteria per la valutazione del linguaggio come follow-up a distanza di alcuni anni. Per i pazienti tra i 4 e 12 anni si eseguirà la batteria messa a punto da Fabbro (1999), mentre per i pazienti maggiori di 12 anni di età verrà somministrata la batteria di Paradis (1987).

2) TEST DI COMPrensione E PRODUZIONE PRAGMATICA. Sarà somministrato il test di Joannette et al. (1990). Lo stesso test sarà proposto a dei controlli, appaiati a ciascun paziente per età, preferenza manuale e livello socio-economico.

3) PRODUZIONE LINGUISTICA. Si condurrà un'analisi accurata dell'eloquio cosiddetto "spontaneo" (elicitato con una traccia d'intervista semistrutturata e con domande aperte), e dell'eloquio narrativo sia elicitato in un compito aperto di descrizione di storie figurate (la Storia del Nido, tratta da Paradis, 1987, che dispone di recenti norme italiane, relativamente alla complessità linguistica, Tavano et al., in preparazione), sia elicitato in un compito aperto di tipo prettamente narrativo (il racconto di una nota



fiaba). Dei protocolli verbali si studieranno estensivamente produttività e complessità linguistica, frequenza e tipologia di errori morfo-sintattici, frequenza e tipologia delle componenti valutative, ossia il riferimento a stati mentali (valutazione del lessico mentalistico), ricchezza delle componenti narrative spontaneamente individuate nelle storie ed esplicitate nella narrazione (per il protocollo di codifica si farà principalmente riferimento ai lavori, già citati, di Reilly et al., 1998 e Tavano et al., 2004).

4) Test sulle teorie della mente di primo e secondo livello. Ai pazienti saranno somministrate le prove di comprensione delle teorie della mente proposte da Happè (1984).

### Obiettivi della Ricerca

Documentata nel precedente (si veda la relazione finale della ricerca corrente 2003) studio una forte associazione di disturbi di linguaggio e deficit di trasmissione interemisferica nell'agenesia del corpo calloso, si vuole approfondire:

- la persistenza di difficoltà linguistiche nel corso dello sviluppo e la natura di queste continuità. Ci si chiede, cioè, se in alcune abilità linguistiche si può assistere ad un recupero più marcato rispetto ad altre, o se esse restano egualmente compromesse rispetto ai controlli di pari età;
- la presenza di deficit di tipo pragmatico nei pazienti con agenesia del corpo calloso che presentano disturbi specifici di linguaggio e la natura di tale correlazione;
- la presenza o assenza di deficit di tipo pragmatico, rilevate con la batteria pragmatica e con l'analisi dei protocolli spontanei, nei pazienti con agenesia che non presentano uno specifico disturbo di linguaggio. Si ipotizza, infatti, che tali difficoltà comunicative siano meno facilmente riconoscibili

li nelle prove strutturate e sperimentali tradizionalmente adottate nello studio delle agenesie callosali (cfr. Dennis, 1998, Sorensen, 1997, Stickles et al., 2002);

d) l'eventuale associazione, in questi pazienti, delle difficoltà linguistiche a difficoltà specifiche nella rappresentazione degli stati mentali.

### Tempi di realizzazione

*Fase di reclutamento.* Nel corso del primo mese si provvederà a richiamare i pazienti invitandoli a partecipare alla ricerca.

*Fase di raccolta dati.* Dal secondo al quarto mese di svolgimento dello studio si testeranno i pazienti che avranno dato il loro consenso, con la procedura su indicata. Parallelamente si raccoglieranno i dati di controllo.

*Fase di analisi dei dati.* Nei due mesi successivi si codificheranno i dati testologici e relativi alla produzione linguistica spontanea e li si analizzeranno dal punto di vista statistico.

*Fase finale.* Nella restata parte dell'anno si stenderà la relazione finale e ci si dedicherà alla preparazione di almeno tre manoscritti da sottoporre a referaggio per la pubblicazione (uno su rivista nazionale e due internazionali).

### Bibliografia

- Aglioti, S., Beltramello, G., Tassinari, G., Berlucchi, G. (1998). Paradoxically greater interhemispheric transfer deficits in partial than complete callosal agenesis. *Neuropsychologia*, vol 36 (10), 1015-1024.
- Berlucchi, G., Aglioti, S. (1990). La sindrome da disconnessione interemisferica. In G. Denes, L. Pizzamiglio (a cura di) *Manuale di Neuropsicologia*. Bologna: Zanichelli.
- Brown, W.S., Paul, L.K. (2000) Cognitive and psychosocial deficits in agenesis of the corpus callosum with normal intelligence. *Cognitive Neuropsychiatry*, May, Vol 5(2), 135-157.
- Dennis, M. (1981). Language in a congenitally acallosal brain. *Brain and Language*, Jan, Vol 12(1), 33-53
- Fabbro, F. (1999). Neurolinguistica e neuropsicologia dei disturbi specifici del linguaggio nel bambino: proposta di un esame del linguaggio. *Saggi di neuropsicologia infantile, psicopedagogia riabilitazione*, 1, 1123.
- Fabbro, F., Pesenti, S., Facoetti, A., Bonanomi, M., Libera, L., Lorusso, M.L. (2001). Callosal transfer in different subtypes of dyslexia. *Cortex*, 37, 6573.
- Fabbro, F., Tavano, A., Libera, L. (2002). A callosal transfer deficit in children with developmental language disorder. *Neuropsychologia*, 40, 1541-1546.
- Geffen, G., Nilsson, J., Simpson, D., Jeeves, M. (1994). The development of interhemispheric transfer of tactile information in cases of callosal agenesis. In M. Lassonde (a cura di) *Callosal agenesis*.
- Jeeves, M.A. (1990). Agnesis of the corpus callosum. In F. Boller, J. Grafman (a cura di) *Handbook of neuropsychology*. North Holland, Amsterdam: Elsevier.

- Jeeves, M., Temple, C. (1987). A further study of language in callosal agenesis. *Brain and Language*, 32, 325-335.
- Joannette, Y., Ska, B., Côté, H. & Eck, K. (2004). Batterie MEC. Batterie Montréal d'évaluation de la communication. In press.
- Lassonde, M., Sauerwein, H.C., Chicoine, A.J., Geoffroy, G. (1991). Absence of disconnection syndrome in callosal agenesis and early callosotomy: brain reorganisation or lack of structural specificity during ontogeny? *Neuropsychologia*, 29 (6), 481-495.
- Markee, T.e., Brown, W.S., Moore, L.H., Theberge, D.C. (1996). Callosal function in dyslexia: evoked potential interhemispheric transfer time and bilateral field advantage. *Developmental Neuropsychology*, vol 12(4), 409-428.
- Moore, L.H., Brown, W.S., Markee, T.E., Theberge, D.C., Zvi, J.C. (1996). Callosal transfer of finger localisation information in phonologically dyslexic adults. *Cortex*, Jun, vol 32 (2), 311-322..
- Paradis, M. (1987). *The Assessment of Bilingual Aphasia*. Hillsdale: Erlbaum.
- Paul, L.K., Van Lancker Sidtis, D., Schieffer, B., Dietrich, R., Brown, W. (2003). Communicative deficits in agencies of the corpus callosum: Nonliteral language and affective prosody. *Brain and Language*, May, Vol 85(2), 313-324.
- Reilly, J., Bates, E., Marchman, V.A. (1998). Narrative Discourse in Children with early Focal Brain Injury. *Brain and Language*, 61, 335-375.
- Sanders, R.J. (1989). Sentence comprehension following agenesis of the Corpus Callosum. *Brain and Language*, 37, 59-72.
- Sauerwein, H.C., Lassonde, M. (1994). Cognitive and sensory-motor functioning in the absence of the corpus callosum: neuropsychological studies in callosal agenesis and callosotomized patients. *Behavioural Brain Research*, 64, 229-240.
- Sorensen, D.N. (1997). A case study of a child with agenesis of the corpus callosum. *American Journal of Speech-Language Pathology*, vol 6 (3), 36-44.
- Stickles, J.L., Schilmoeller, G.L., Schilmoeller, K.J. (2002). A 23 year review of communication development in an individual with agenesis of the corpus callosum. *International Journal of Disability, Development and Education*. vol. 49 (4), 367-383.
- Temple, C. M., Jeeves, M. A., Vilarroya, O. (1990). Reading in callosal agenesis. *Brain and Language*, Aug., Vol 39(2): 235-253.
- Temple, C.M, Ilesley, J. (1993). Phonemic discrimination in callosal agenesis. *Cortex*, Jun, Vol 29(2), 341-348.
- Temple, C.M., Jeeves, M. A., & Vilarroya, O. (1989). Ten pen men: Rhyming skills in two children with callosal agenesis. *Brain and Language*, Nov; Vol 37(4): 548-564.
- Wennekes, M.J, Njiokiktjien, C. (1991). Developmental inter-hemispheric disconnection and dyslexia. In M.J. Wennekes, C. Njiokiktjien (a cura di) *The child corpus callosum*, vol 3, Amsterdam: Suvi Publications.

**VALUTAZIONE DELLA PRAGMATICA LINGUISTICA NEI BAMBINI CON SLI****Dr. Alessandro Tavano**

e-mail: alessandrotavano@libero.it

**Linea di Ricerca n. 3**

Psicopatologia dello sviluppo, del linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente**Periodo di svolgimento:** 2004**Polo Scientifico**

San Vito al Tagliamento

**Razionale**

Negli ultimi vent'anni, lo studio dello sviluppo delle abilità pragmatiche nei bambini si è focalizzato su due problemi principali: 1) l'interazione tra competenza linguistica e competenza comunicativa nei primi anni di vita (da 0 a 3) (Dews et al. 1996, Evans et al. 1988); 2) lo studio di soggetti con patologie che disturbano le abilità pragmatiche, quali soggetti autistici o soggetti con lesioni frontali o all'emisfero destro (Joanette et al. 2003). In entrambi i casi, lo studio delle abilità pragmatiche si serve di strumenti prevalentemente qualitativi (scale di giudizio rispetto alle diverse abilità) che, pur offrendo utili indirizzi, non permettono una valutazione quantitativa che individui indici predittivi di difficoltà o disturbo, e quindi non consentono la definizione di un profilo completo delle abilità pragmatiche nei bambini (Vosniadou et al. 1984, Zurer Pearson 1990, Papagno et al. 1995, Pozzoli 1999). La valutazione del linguaggio attraverso prove formali nei bambini dai 4 ai 12 anni è oggi possibile attraverso la somministrazione dell'Esame del linguaggio nei bambini dai 4 ai 12 anni (Fabbro 1999). Risulta quindi importante costituire una batteria di valutazione della comunicazione pragmalinguistica nei bambini dai 4 ai 12 anni, idealmente associabile all'Esame del linguaggio, che comprenda prove di tipo qualitativo e prove di tipo quantitativo. I bambini con disturbo specifico del linguaggio (Specific Language Impairment, SLI), in particolare con disturbo della comprensione (codice ICD-10, F80.2) accanto a problemi di comprensione e produzione morfosintattica, presentano rilevanti difficoltà nell'elaborazione di aspetti prag-

matici del linguaggio, quali la produzione e la comprensione di informazioni implicite, l'uso dei pronomi e la modulazione dell'informazione verbale attraverso l'intonazione (Friemoth et al. 1990, Bishop 1997).

Tali difficoltà concorrono a rendere più difficile il raggiungimento di una funzionalità comunicativa completa. Risulta pertanto di fondamentale importanza la valutazione delle abilità pragmatiche in soggetti con disturbo specifico del linguaggio.

**Obiettivi del progetto**

1) Individuare un insieme di prove, inclusi test formali, per la valutazione delle abilità pragmatiche nella comunicazione linguistica di bambini dai 4 ai 12 anni.

2) Standardizzare le prove individuate.

**Materiali e metodi***Partecipanti*

I partecipanti al progetto saranno divisi in due gruppi principali:

- 1) Bambini con sviluppo normale
- 2) Bambini con patologia

I bambini con patologia saranno costituiti da due sottogruppi: a) bambini con disturbo specifico della comprensione del linguaggio (F80.2); b) bambini con disturbo autistico ad alto funzionamento. All'interno dei gruppi si opererà una distinzione tra bambini dai 4 ai 6 anni e bambini dai 7 ai 12 anni, in conformità alla batteria per l'Esame del linguaggio (Fabbro 1999) e ai risultati evolutivi delle ricerche sulla produzione narrativa (Tavano et al. in preparazione). La distribuzione dei soggetti è riassunta nella tabella 1.

| Età  | Partecipanti Controllo | Partecipanti con DSL (F80.2) | Partecipanti con Autismo AF | Totale partecipanti |
|------|------------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------------|
| 4-6  | 50                     | 10                           | 10                          | 70                  |
| 7-12 | 50                     | 10                           | 10                          | 70                  |
|      |                        |                              |                             | 140                 |

## Fasi del progetto

Lo studio stato è organizzato in tre fasi:

- 1) Individuazione e adattamento all'italiano di uno o più strumenti di valutazione delle abilità pragmatiche nei bambini e negli adulti presenti nella letteratura internazionale;
- 2) Studio della produzione narrativa e spontanea (conversazione strutturata) nei bambini utilizzando indici di tipo pragmatico;
- 3) Costituzione di una batteria pragmatica per bambini da 4 a 10 anni, secondo la seguente proposta:

### Prove

1. Gioco libero. Conversazione semi-strutturata.
2. Riferimento:
  1. Gioco di costruzioni cooperativo insieme all'operatore (semistrutturato, valutazione della comprensione e della produzione dei dimostrativi).
  2. Ordinamento di figure e narrazione.
3. Inferenze:
  1. Metafore del tipo X è Y (comprensione=6 items; Produzione con stimoli figurativi =6 items)
  2. Impliciti (comprensione=6 items)
  3. Teoria della mente: il cesto di Sally (comprensione 6 items)
4. Atti linguistici
  1. Comprensione di affermazioni, ordini, domande espliciti (6 items)
  2. Elicitazione di affermazioni, ordini, domande espliciti con burattini (6 items)
5. Prosodia affettiva
  1. Comprendere il tono affettivo di enunciati registrati semplici e complessi (10 items)
6. Racconto di una storia figurata
7. Racconto di una fiaba conosciuta

## Tempi di realizzazione

Il progetto prevede una prima fase di studio e preparazione dei materiali della durata di 3 mesi, seguita da una fase di somministrazione della durata di 5 mesi. Infine, è prevista una fase di elaborazione dei dati e invio per pubblicazione della durata di 4 mesi.

## Risultati attesi

Pubblicazione di almeno tre articoli su riviste internazionali e un articolo su una rivista nazionale.

## Bibliografia

- Bishop, DVM. (1997). *Uncommon Understanding*. Hove: The Psychology Press.
- Joannette, Y., Ska, B., Côté, H. & Eck, K. (2004). Batterie MEC. Batterie Montréal d'évaluation de la communication. In press.
- Dews, S., Winner, E., Kaplan, J., Rosenblatt, E., Hunt, M., Lim, K., McGovern, A., Qualter, and Smarsh, B. (1996). Children's Understanding of the Meaning and Functions of Verbal Irony, *Child Development*, 67, 3071-3085.
- Evans, M. A. and Lyn Gamble, D. (1988). Attribute saliency and metaphor interpretation in school-age children, *Journal of Child Language*, 15,
- Friemoth Lee, R. and Kamhi, A. G. (1990). Metaphoric Competence in Children with Learning Disabilities, *Journal of Learning Disabilities*, 23 (8), 476-482.
- Papagno, C., Cappa, S.F., Forelli, A., Garavaglia, G., Laiacona, M., Capitani, E., e Vallar, G. (1995). La comprensione non letterale del linguaggio: taratura di un test di comprensione di metafore e di espressioni idiomatiche, *Archivio di Psicologia, Neurologia e Psichiatria*, 4, 402-420.
- Pozzoli, S. (1999). Assessment of pragmatic competence in children: a pilot study, *Round Table: Language Disorder in Children*, Istituto Scientifico E. Medea, Bosisio Parini, 6 dicembre.
- Tavano, A., De Fabritiis, P., Galli, R., & Fabbro, F. The Bird Nest Story from 4 to 10. *Intalina norms for a picture description task*. In preparazione.
- Vosniadou, S., Ortony, A., Reynolds, R. E., and Wilson, P. T. (1984). Sources of Difficulty in Young Child's Understanding of Metaphorical Language, *Child Development*, 55, 1588-1606.
- Zurer Pearson, B. (1990). The comprehension of metaphor by preschool children, *Journal of Child Language*, 17, 185-203.

**EFFETTI DEL TRATTAMENTO  
RIABILITATIVO NEI BAMBINI AFFETTI  
DA DISFASIA CON O SENZA ANOMALIE  
PAROSSISTICHE NEL SONNO N-REM**

**Dr. Guido Cristofori**  
e-mail: irccs.fvg@sv.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 3**  
Psicopatologia dello sviluppo, del  
linguaggio e dell'apprendimento

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico**  
San Vito al Tagliamento

**Razionale**

La **Disfasia evolutiva** o **Disturbo Specifico del Linguaggio (DSL)** Specific Language Impaired Children (SLI) è diagnosticata in quei bambini che manifestano una discrepanza tra il dominio dell'acquisizione del linguaggio, che appare ritardato o deficitario, e gli altri ambiti dello sviluppo. In questi soggetti non esistono tracce di deficit sensoriali (ad esempio sordità), ridotte prestazioni intellettive (ad esempio Sindrome di Down), danni neurologici (ad esempio paralisi cerebrali infantili) o gravi disturbi relazionali (ad esempio autismo), è presente tuttavia un deficit notevole sul piano linguistico.

Si ritiene che i maschi siano maggiormente colpiti rispetto alle femmine con un rapporto di 3:1. Il 20% presenterebbe una preferenza manuale sinistra o mista. La metà dei bambini con DSL avrebbe un familiare con lo stesso problema e numerosi bambini presenterebbero una storia di ripetute otiti.

È stato inoltre ipotizzato che, in assenza di altre patologie primarie (deficit cognitivi, relazionali, socio-ambientali, neuromotori o sensoriali), alcune forme di epilessia, se presenti, possano giocare un ruolo chiave come possibile fattore interagente sullo sviluppo del linguaggio. Il DSL assume in tal caso una maggior complessità, in quanto l'esordio dell'epilessia compromette seriamente ed improvvisamente le abilità linguistiche, sia a livello di ricezione che di produzione, una volta che queste si sono sviluppate normalmente. Questo quadro clinico è noto come Sindrome di Landau-Kleffner (LKS), conosciuta anche come "Afasia acquisita associata a crisi epilettiche ed anomalie parossistiche in EEG". Si ritiene che una concausa di questo deterioramento linguistico, che può instaurarsi in qualche giorno o in qualche settimana, sia la comparsa di una epilessia correlata ad anomalie parossistiche (PA) nel sonno, che colpiscono soprat-

tutto le regioni temporali a livello bilaterale o temporo-parietali e la loro frequenza aumenta durante il sonno ad onde lente, nello specifico al passaggio dallo stadio 1 allo stadio 2 del sonno [3], raggiungendo valori superiori all'8% della durata del sonno (Duvelleroy-Hommet et al., 1995). La presenza di tali anomalie sarebbe rilevata circa nel 50% dei bambini con Disturbi Specifici del Linguaggio [7, 8]. Negli ultimi anni la ricerca si è concentrata sull'analisi delle possibili relazioni del disturbo linguistico con le anomalie parossistiche che compaiono durante il sonno ad onde lente.

Gli studi hanno rilevato che l'attività parossistica si manifesta più frequentemente nei bambini con un disturbo recettivo (60%) rispetto ai bambini con disturbo espressivo (20%) e la presenza di tale attività contribuisce ad aggravare il disturbo linguistico. Si reputa che più è piccolo il bambino al momento della comparsa del blocco del linguaggio, peggiore sarà la prognosi per il recupero linguistico. Molti studi hanno dimostrato che nella LKS l'epilessia e le anomalie elettroencefalografiche in veglia e sonno tendono a regredire spontaneamente fino a scomparire nell'adolescenza.

Secondo Gascon e coll. [10] il recupero dall'afasia al termine delle anomalie sarebbe incompleto, ma si riscontra che la comprensione del linguaggio scritto precederebbe quella del linguaggio orale. Alcune ricerche [5] affermano che le anomalie parossistiche abbiano delle ripercussioni anche su tutti i processi di apprendimento scolastico, per esempio la lettura e la scrittura, poiché hanno delle forti influenze in principal modo sulle funzioni mnestiche (memoria a breve termine) e attentive, ma anche sulla flessibilità cognitiva, sulla denominazione di figure, sulla fluenza, sui compiti visuo-percettivi e di coordinazione motoria. [4, 13].

Tra i **trattamenti** proposti per la riduzione delle ripercussioni neuropsicolog-

giche e limitare gli effetti che una prolungata afasia potrebbe avere nelle relazioni interpersonali del soggetto, quello più utilizzato è quello farmacologico (Valproato di Sodio), che sembra essere efficace in misura parziale o transitoria: esso "ripulisce" il tracciato dall'attività parossistica in sonno, pur essendo in discussione l'efficacia diretta sulla riduzione delle difficoltà di tipo linguistico. Un recente studio di Holmes & Riviello [11] ha riscontrato risposte positive alla somministrazione di tale farmaco nei bambini con un DSL associata ad una precoce insorgenza delle anomalie parossistiche con un conseguente miglioramento nelle abilità linguistiche.

Nel corso dell'anno 2003 l'Istituto Scientifico "E. Medea" ha effettuato una ricerca che intendeva indagare circa il ruolo dei parossismi nella riabilitazione delle afasie e disfasie.

In tale ricerca 9 soggetti sono stati sottoposti a riabilitazione logopedica e terapia farmacologica con Depakin, per una diagnosi di DSL associata ad anomalie parossistiche in sonno che superavano il 10% del tracciato EEG totale.

Si è riscontrato che, dopo 6 mesi dall'introduzione del farmaco, l'evoluzione del linguaggio è stata positiva e il tracciato EEG è migliorato, con la riduzione, un decremento o la scomparsa dei parossismi precedentemente ritenuti generalizzati.

### Obiettivi del Progetto

Vogliamo concentrarci sulla riabilitazione logopedica dei bambini affetti da disfasia con o senza anomalie parossistiche nel sonno N-REM.

Tale scelta è motivata dal fatto che finora il trattamento logopedico è stato utilizzato più come puro strumento per il recupero del linguaggio e il controllo del suo sviluppo che come focus d'attenzione privilegiato. Cercheremo di:

- valutare l'efficacia della terapia logopedica nei vari tipi di DSL e nei DSL con anomalie parossistiche all'EEG, considerando come indicatore il rendimento nel test neurolinguistico prima e dopo il trattamento logoterapico, indagando inoltre su quali siano le tecniche logoterapiche maggiormente utili ed indicate per i diversi tipi di DSL;
- analizzare specificamente l'effetto della riabilitazione logopedica abbinata a quella farmacologica con valutazione dello sviluppo clinico sul piano linguistico e cognitivo e l'auspicabile riduzione o scomparsa dei parossismi nel sonno con l'elettroencefalografia. A questo scopo, verranno seguite le tappe dell'iter terapeutico utilizzato nel corso del 2003 per monitorare l'andamento e gli sviluppi del quadro clinico del soggetto.

### Materiali e Metodi

#### Partecipanti

Ci si propone di esaminare almeno 75 pazienti reclutati tra le sedi di San Vito al Tagliamento e di Pasian di Prato, affetti da DSL (diagnosi posta secondo i criteri diagnostici dell'ICD-10), che siano stati sottoposti ad un esame EEG e che abbiano effettuato un ciclo logoterapico di almeno un anno o ancora in corso.

Scrupolosa attenzione sarà prestata alla ricostruzione dei dati anamnestici, in particolare per un'eventuale familiarità, oltre all'esame neurologico, alla valutazione neuropsicologica, alla valutazione neurolinguistica e alla registrazione EEG poligrafica in veglia e sonno e/o una registrazione EEG prolungata poligrafica di 24 ore in sonno.

I soggetti verranno allora distinti in due gruppi.

Specificatamente, il gruppo 1) sarà formato dai pazienti DSL con EEG nella norma e il gruppo 2) sarà formato dai pazienti DSL con EEG parossistico.

### Strumenti

Per la diagnosi di Disturbo Specifico del Linguaggio (DSL) verrà utilizzato il sistema di classificazione internazionale delle sindromi e dei disturbi psichici e comportamentali (ICD-10), in cui vengono distinti il Disturbo specifico dell'articolazione [F80.0], il Disturbo del linguaggio espressivo [F80.1], il Disturbo della comprensione del linguaggio [F80.2] e il Disturbo espressivo e recettivo acquisito (Afasia acquisita con epilessia: Sindrome di Landau-Kleffner) [F80.3].

Per la valutazione neuropsicologica saranno necessari:

- **Scala d'Intelligenza Stanford-Binet, forma L-M** per i bambini di un'età compresa tra i 2 e i 14 anni.
- **WPPSI** - Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence di Wechsler per i bambini di un'età compresa tra i 4 e i 6 anni.
- **WISC-R** - Scala di intelligenza Wechsler per bambini Riveduta di Wechsler (1994) per i bambini di un'età compresa tra i 6 e i 14 anni.

Per la valutazione neurolinguistica dell'eloquio spontaneo e dello sviluppo linguistico saranno necessari:

- **TPL** (Test del Primo Linguaggio di G. Axia) per bambini di un'età compresa tra i 12 e i 36 mesi.
- **TVL** (Test di Valutazione del Linguaggio di Cianchetti e Fancello) per bambini di un'età compresa tra i 30 e i 71 mesi.
- **Esame del Linguaggio nel bambino** (a cura di F. Fabbro) per i bambini di un'età compresa tra i 4 e i 12 anni.

Per la valutazione dell'esame EEG saranno indispensabili:

- una **registrazione EEG** poligrafica in veglia e sonno spontaneo pomeridiano con attivazioni e/o, dove possibile, una registrazione EEG dinamica poligrafica di 24 ore in sonno notturno con lo scopo di analizzare la strut-

tura della veglia, del sonno spontaneo e notturno, la reattività al risveglio;

- una registrazione EEG poligrafica in corso di presentazione di **stimolazione luminosa intermittente**, per valutarne gli effetti a livello cerebrale.

### Fasi del Progetto e tempi di realizzazione

- 1) Ricerca e approfondimento bibliografico di articoli e scritti pertinenti all'argomento all'interno della letteratura (2 mesi).
- 2) Selezione ed individuazione dei soggetti con le caratteristiche soprascritte (1 mese).
- 3) Studio delle prestazioni all'esame del linguaggio, neuropsicologico e al tracciato EEG in sonno prima e dopo il trattamento logopedico e, nel caso dei soggetti in trattamento farmacologico, valutazione dell'andamento e degli sviluppi del quadro clinico specifico per ogni paziente (3 mesi).
- 4) Sintesi ed analisi dei dati emersi (3 mesi).
- 5) Stesura della relazione conclusiva e invio per pubblicazione (3 mesi).

### Risultati attesi

Ci si auspica di riscontrare un significativo miglioramento delle abilità linguistiche in tutti i soggetti che affrontano una terapia logopedica di almeno un anno, in particolar modo nei soggetti che presentano un DSL in produzione. Si attende inoltre una differenza nel rendimento al test di controllo del linguaggio dopo almeno un anno di terapia logopedica tra soggetti che presentano anomalie parossistiche in sonno rispetto a quelli che non ne manifestano. Ci si aspetta che i soggetti sottoposti a terapia farmacologica associata a quella logopedica dimostrino un miglioramento nel tracciato EEG, con la riduzione e/o scomparsa dei parossismi, e nel rendimento al test del linguaggio, con il recupero delle lacune precedentemente rilevate.

### Bibliografia

- Chilosi A.M., Cipriani P., Bottari P. (1987): Deficit a lungo termine nella disfasia congenita: problemi di inquadramento clinico e ipotesi interpretative (pp 64-89).
- Classificazione internazionale delle sindromi e dei disturbi psichici e comportamentali. Decima revisione (1995). Masson, Milano: Organizzazione Mondiale della Sanità.
- Craib A.R., Perry M. (1982) Manuale EEG Seconda Edizione, Beckman Analytical.
- Croona C., Kihlgren M., Lundberg S., Eeg-Olofsson O., Eeg-Olofsson K. (1999) Neuropsychological findings in children with benign childhood epilepsy with centrotemporal spikes, *Developmental Medicine & Child Neurology*, 41: 813-818.
- Deonna T., Zesiger P., Davidoff V., Maeder M., Mayor C., Roulet E. (2000): Benign partial epilepsy of childhood: a longitudinal neuropsychological and EEG study of cognitive function, *Developmental Medicine & Child Neurology*, 42: 595-603.
- Fabbro F. (2000): Language Disorders in Children: an Introduction, *Child Development and Disabilities*, 1, 9-12.
- Fabbro F., Zucca C. (2000): Acquired Neuropsychological Disorders in Children with Epilepsy, *Child Development and Disabilities*, 1, 23-29.
- Fabbro F., Zucca C., Molteni M., Borgatti R. (2000): EEG Abnormalities During Slow Sleep in Children With Developmental Language Disorders, *Child Development and Disabilities*, 1, 41-48.
- Fabbro F., Alberti B. (2002): Il bambino e il linguaggio, Ghedimedia (Milano).
- Gascon G., Victor D., Lombroso C.T., Goodglass H. (1973): Language Disorder, Convulsive Disorder and Electroencephalographic Abnormalities, *Archive Neurological*, 28: 156-162.
- Holmes G.L., Riviello J.J. (2001): Treatment of childhood idiopathic language deterioration with Valproate, *Epilepsy & Behavior*, 2(3): 272-276.
- Leonard L.B. (1998): Verso una spiegazione dei Disturbi di Linguaggio nei bambini: il valore dello studio cross-linguistico, *Psicologia clinica dello sviluppo*, 3, 453-462.
- Mantovani J.F. (2000): Autistic regression and Landau-Kleffner syndrome: Progress o confusion?, *Developmental Medicine & Child Neurology*, 42: 349-353.
- Picard A. (1999): Sleep EEG and developmental dysphasia, *Developmental Medicine & Child Neurology*, 41: 141-143 (Letter).
- Robinson R.O., Baird G., Robinson G., Simonoff E. (2001): Landau-Kleffner syndrome: course and correlates with outcome, *Developmental Medicine & Child Neurology*, 43: 243-247.
- Roulet Perez E., Davidoff V., Prelaz A.C., Morel B., Rickli F., Metz-Lutz M-N., Braem P.B., Deonna T. (2001) Sign language in childhood epileptic aphasia (Landau-Kleffner syndrome), *Developmental Medicine & Child Neurology*, 43: 739-744.
- Rustioni D. (1997) Indagine conoscitiva delle relazioni tra i sistemi di comprensione e produzione verbale nei bambini da 4.0 a 6.6 anni, *Saggi Anno XXIII* (2): 65-80.
- Sabbadini L., Volterra V., Leonard L.B., Colgi Campagnoli M.G.: Bambini con disturbo specifico del linguaggio: aspetti morfologici, *Giornale Neuropsich. Età Evolutiva*, 7, 3: 213-222.

**CARATTERIZZAZIONE STRUTTURALE, TRAMITE NMR, DELL'INTERAZIONE IN VITRO TRA CALMODULINA E KCNQ2, UN CANALE AL POTASSIO MUTATO NELLE EPILESSIE FAMILIARI BENIGNE**

**Dr.ssa Maria Teresa Bassi**

e-mail: bassi@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Premesse**

L'analisi genetica mutazionale di una famiglia con convulsioni neonatali benigne (BFNC) ha permesso l'identificazione di una nuova mutazione nel canale al potassio KCNQ2, uno dei due geni insieme a KCNQ3 responsabili dell'insorgenza di questa forma di sindrome epilettica. Per spiegare la variabilità e la complessità del quadro clinico osservabile nei 4 individui affetti della famiglia, (BFNC isolata in due di essi, oppure associata o a lieve ritardo mentale o a una grave encefalopatia epilettica) associate alla presenza di questa nuova mutazione si è resa necessaria una approfondita caratterizzazione funzionale della mutazione stessa. L'alterazione aminoacidica coinvolge un residuo molto conservato all'interno della famiglia dei canali KCNQ, ed al contempo parte del sito di legame del canale stesso con la calmodulina, una proteina sensore del Ca intracellulare.

Dati preliminari ottenuti in cellule di hamster (CHO) sull'attività del canale mutato indicano che la presenza della mutazione determina apparentemente solo una riduzione della voltaggio dipendenza rispetto a quella osservata nel canale normale.

**Obiettivi**

Studiare la possibile variazione dell'interazione del subunità KCNQ2 mutata con la calmodulina. È stata infatti recentemente descritta e confermata (Wen & Levitan, 2002; Najera et al., 2002) l'interazione fra la metalloproteina calmodulina e diversi membri della famiglia dei canali al potassio voltaggio-dipendenti KCNQ. Lo studio è stato condotto con la metodica del two-hybrid system in lievito, e confermato con esperimenti di immunoprecipitazione. In entrambi gli studi il sito di interazione con la calmodulina corrisponde a due segmenti peptidici non contigui, corrispon-

denti a due alfa eliche disposte sul versante citoplasmatico del canale e separate da una regione giunzionale. I due segmenti mostrano una spiccata cooperatività nel legame, mentre la regione giunzionale sembra non avere alcun ruolo.

Identificare: le basi strutturali dell'interazione fra il segmento 501-529 di KCNQ2 e la calmodulina.

Determinare il significato della mutazione identificata nella famiglia BFNC rispetto alla stessa interazione.

**Metodologia**

Si procederà alla sintesi di polipeptidi sintetici che coprono la regione di KCNQ2 coinvolta nell'interazione con la calmodulina tenendo conto delle caratteristiche di idrofobicità e idrofilicità della proteina.

Tali peptidi verranno quindi posti in soluzione con calmodulina a diverse concentrazioni ed ogni mix verrà analizzata in spettrometria di risonanza magnetica nucleare con la quale valutare le modificazioni conformazionali indotte nella calmodulina, ottenuta come proteina ricombinante, dal peptide wild type, dal peptide mutato, e da un peptide che simula uno stato di fosforilazione da PKC noto per sfavorire in vivo l'interazione fra le due proteine. Si ritiene con ciò di acquisire informazioni importanti sia sulla base strutturale della interazione fra calmodulina e KCNQ2 sia sull'alterazione indotta dalla mutazione patogenetica.



**UTILIZZO DEL NITROSSIDO COME  
MEZZO FARMACOLOGICO PER  
OTTIMIZZARE LE TERAPIE CELLULARI  
DELLE DISTROFIE MUSCOLARI**

**Prof. Emilio Clementi**  
e-mail: eclementi@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**  
Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale**

L'NO svolge un ruolo importante nella fisiologia muscolare. Dati dalla letteratura suggeriscono che le NO sintasi siano attivate durante il processo di miogenesi. Nostri dati preliminari dimostrano che l'NO favorisce la fusione di cellule satelliti tra di loro e di cellule satelliti a mio-tubi. Inoltre, NO regola l'omeostasi del calcio, modulando la funzionalità dei recettori/canale intracellulari per la ri- nodina e l'inositolo 1,4,5, trisfosfato, nonché l'attività dei canali voltaggio di- pendenti per il calcio, delle sue pompe, e dei suoi trasportatori. In aggiunta, NO promuove la mitocondriogenesi, regola il bilancio energetico cellulare e proteg- ge le miocellule dalla morte per apopto- si. Infine, NO ha azione vasodilatante ed angiogenetica. Molte di queste azioni dell'NO sono attribuibili ad una genera- zione di NO stimolata dall'esercizio mu- scolare stesso: la NO sintasi specifica del muscolo (NO sintasi I $\mu$ ) si trova infatti localizzata nel complesso della distrofi- na e può essere stimolata durante la con- trazione muscolare. NO, quindi, pare es- sere un agente protettore del muscolo du- rante l'esercizio. Queste osservazioni sono sostanziate da un importante correlato pa- tologico: nella distrofia di Duchenne, par- te del danno origina da una ridotta fun- zione della NO sintasi I $\mu$ , dovuto alla sua localizzazione ectopica dell'enzima nel ci- tosol per mancanza di un corretto e fun- zionale complesso distrofina-sarcoglica- no in questa patologia.

**Obiettivi**

Obiettivo generale di questo studio è va- lutare la possibilità di utilizzare l'NO co- me farmaco, o co-farmaco, in grado di migliorare la funzionalità muscolare in pazienti distrofici.

Questa finalità sarà raggiunta attraverso l'impiego di modelli in vitro ed in vivo della patologia distrofica, attraverso le tappe sperimentali successive di seguito esposte:

i) Valutazione del ruolo di NO nel mi- gliorare il grafting *in vivo* di cellule staminali (mesoangioblasti) capaci di rigenerare muscolo scheletrico. Questo obiettivo sarà raggiunto me- diante studi condotti utilizzando me- sangioblasti sani marcati con colo- ranti vitali che ne permettano la trac- ciabilità *in vivo*. In un primo gruppo sperimentale i mesangioblasti saran- no esposti ad NO prima della loro ini- zione intra-arteriosa in animali knoc- kout per  $\alpha$ -sarcoglicano. In un seco- ndo gruppo i mesangioblasti saranno iniettati in animali alimentati con una dieta contenente donatori di NO. L'analisi di preparati muscolari me- diante immunoistochimica con mar- canti appropriati, combinata con sag- gi di funzionalità fisiologica in mu- scoli isolati, permetterà di correlare l'indice di fusione dei mesangioblasti al muscolo distrofico, l'aspetto istolo- gico e lo stato funzionale del muscolo. Valuteremo inoltre il bilancio energe- tico muscolare. Questi dati saranno correlati anche con i parametri di fun- zionalità muscolare *in vivo* (attività creatin chinasi serica e test di eserci- zio prolungato).

Valutazione del ruolo di NO nel miglio- rare il grafting *in vivo* di cellule stami- nali (mesoangioblasti) capaci di rigene- rare muscolo scheletrico. Questo obietti- vo sarà raggiunto mediante studi con- dotti utilizzando mesangioblasti sani marcati con coloranti vitali che ne per- mettano la tracciabilità in vivo. In un pri- mo gruppo sperimentale i mesangiobla- sti saranno esposti ad NO prima della lo- ro inizione intra-arteriosa in animali knockout per  $\alpha$ -sarcoglicano. In un se- condo gruppo i mesangioblasti saranno iniettati in animali alimentati con una dieta contenente donatori di NO.

L'analisi di preparati muscolari me- diante immunoistochimica con mar- canti appropriati, combinata con sag- gi di funzionalità fisiologica in muscoli iso- lati, permetterà di correlare l'indice di fu-

sione dei mesangioblasti al muscolo distrofico, l'aspetto istologico e lo stato funzionale del muscolo. Valuteremo inoltre il bilancio energetico muscolare. Questi dati saranno correlati anche con i parametri di funzionalità muscolare *in vivo* (attività creatin chinasi serica e test di esercizio prolungato).

**STRESS OSSIDATIVO E DIFESE  
ANTIOSSIDANTI IN CELLULE  
PERIFERICHE DI PAZIENTI CON  
SINDROME DI DOWN E MALATTIA DI  
ALZHEIMER**

**Prof. Carlo Ferrarese**

e-mail: carlo.ferrarese@unimib.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Collaborazioni**

Università di Milano Bicocca

Numerose evidenze indicano l'esistenza di un aumento dello stress ossidativo nella Sindrome di Down (DS) e nella malattia di Alzheimer (AD), probabilmente correlato ad un'alterazione dei sistemi antiossidanti. Il glutatione, in particolare, è un importante antiossidante intracellulare che protegge le cellule da numerosi agenti pro-ossidanti e svolge un ruolo di detossificazione nei confronti dei prodotti di perossidazione lipidica quali l'HNE, altamente neurotossico.

Tuttavia, gli studi che riportano un'alterata omeostasi del glutatione (GSH) in queste patologie sono controversi.

Nei pazienti DS l'incremento di attività della SOD1, il cui gene è localizzato sul cromosoma 21, associato ad una minor attività di agenti free-radical scavenger, quali la glutatione perossidasi e la catalasi, conduce ad un incremento della perossidazione lipidica.

Anche nei pazienti AD, sebbene i livelli totali di GSH appaiano invariati a livello cerebrale rispetto ai controlli, l'attività di enzimi coinvolti nel metabolismo del GSH sembra alterata nelle aree cerebrali maggiormente colpite, probabilmente in risposta ad una maggior esposizione ad insulti ossidativi. Markers di perossidazione lipidica come l'HNE risultano, inoltre, incrementati in vivo nel tessuto cerebrale e nel liquido cefalorachidiano dei pazienti con AD. I livelli di glutatione transferasi, un enzima che rimuove le aldeidi coniugandole al GSH, sono ridotti nel CSF e nel cervello dei malati AD. La maggior parte degli studi finora citati sono stati effettuati su materiale autoptico proveniente da pazienti negli stadi avanzati di malattia. Un nostro precedente studio mostra una maggiore suscettibilità allo stress ossidativo anche in cellule periferiche quali i fibroblasti di pazienti con AD sporadico. In particolare, l'esposizione di fibroblasti all'HNE determina un incremento dei ROS intracellulari ed una riduzione del trasporto di glutammato solo nei soggetti AD, mentre non determina alcun effetto nei controlli sani.

Il pretrattamento con GSH o NAC (precursore del GSH) è in grado di prevenire completamente l'azione tossica dell'aldeide. L'esposizione ad HNE determina gli stessi effetti nei fibroblasti dei controlli solo previa deplezione delle riserve di GSH ad opera di butionin-sulfoximina (Begni 2003, in press). Tali osservazioni portano ad ipotizzare una compromissione sistemica delle difese antiossidanti endogene nell'AD. Una riduzione significativa dei livelli di GSH è stata recentemente dimostrata nei linfociti di pazienti con AD familiare (Cecchi C. 1999).

**Obiettivi della presente ricerca**

Per verificare se l'alterazione del sistema del glutatione sia una caratteristica intrinseca delle cellule di soggetti con Sindrome di Down o con malattia di Alzheimer o secondaria ai processi degenerativi, il presente studio si propone di valutare lo stress ossidativo, le difese antiossidanti, la maggior suscettibilità ad agenti ossidativi esogeni e la risposta a trattamenti antiossidanti in linfociti e fibroblasti di pazienti e controlli.

- *Livelli di glutatione basale e dopo esposizione ad agenti ossidanti*

I livelli di GSH totale ed il rapporto GSH/GSSG verranno determinati mediante HPLC in condizioni basali e dopo incubazione con HNE ed H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

- *Determinazione dei livelli di glutatione legato alle proteine.* Tali livelli verranno analizzati nei fibroblasti in coltura mediante studi di Western blot con utilizzo di anticorpi monoclonali anti-GSH, in condizioni basali e dopo trattamento con composti pro o antiossidanti.

- *Livelli di mRNA e funzionalità dei trasportatori di cistina*

Tali trasportatori, appartenenti al sistema Xc-, mediano il controtrasporto cistina (in)glutammato (out). La cistina intracellulare viene successivamente ridotta a cisteina ed incorporata nel glutatione.

Il trasporto di cistina verrà valutato a livello basale e dopo trattamento con agenti pro ed antiossidanti e differenti concentrazioni di glutammato.

- *Correlazione tra trasporto di glutammato Na<sup>+</sup>-dipendente e trasporto di cistina*

La ridotta attività dei trasportatori di glutammato, incrementando i livelli extracellulari dell'aminoacido eccitatorio, può influenzare l'attività dei trasportatori di cistina influenzando così sulla sintesi del glutatione. Inoltre verrà valutata l'azione degli inibitori del trasporto di glutammato sui livelli di glutammato (mediante HPLC) e di glutatione (glucys-gly) intracellulari.

- *Attività degli enzimi coinvolti nel metabolismo del glutatione*

In particolare verrà analizzata la funzionalità della gamma-glutamyl cistein sintetasi ( $\gamma$ -GCS), GSH perossidasi, della GSSG reductasi e della glutatione-S-transferasi.

Le GST sono una famiglia di enzimi implicati nella detossificazione di aldeidi, mediante formazione di addotti. L'isoenzima A44, in particolare, facilita la coniugazione tra GSH e HNE.

- *Valutazione dei livelli basali di ROS intracellulari e mitocondriali e loro correlazione con i livelli di glutatione.*

- *Studio dell'effetto di differenti agenti antiossidanti (vitamina E, vitamina C) sui parametri sopra citati.*

- *Studio del genotipo APOE e correlazione con stato ossidativo.*

Publicazioni inerenti la proposta di ricerca corrente:

- Ferrarese C., Begni B., Fumagalli L., Brighina L., Tagliabue E., Zoia C.P.; Impaired modulation of glutamate uptake in fibroblasts from Alzheimer patients; Society for Neuroscience, 32° Congresso, Orlando, USA, 2002, 6 Novembre; 786.14
- B. Begni, L.Fumagalli, L. Brighina, S. Andreoni, C. Ferrarese; Studio dell'interazione tra eccitotossicità e stress ossidativo in fibroblasti di pazienti con Malattia di Alzheimer; XIII Congresso SINPF 9-12 Luglio 2002, Milano.
- B. Begni, L. Brighina, L. Fumagalli, S. Andreoni, C. Ferrarese; Excitotoxicity and oxidative stress in fibroblasts from Alzheimer disease patients; FENS 3rd Forum of European Neuroscience, July 13-17, 2002, Paris
- L. Fumagalli, B. Begni, L. Brighina, C. D'Orlando, S. Andreoni, R. Garofolo, C. Ferrarese; Modulazione del trasporto di glutammato da parte della PKC nelle piastrine e nei fibroblasti dei pazienti affetti dalla malattia di Alzheimer; XXXIII Congresso SIN 14-18 Settembre 2002, Napoli.
- L. Brighina, B. Begni, L.Fumagalli, S. Andreoni, M. Frigo, C. Ferrarese; Protective role of glutathione against oxidative stress-induced impairment of glutamate transport in fibroblasts from Alzheimer disease patients; XXXIII Congresso SIN 14-18 Settembre 2002, Napoli.
- Begni B, Brighina L, Fumagalli L, Andreoni S, Castelli E Francescani C, Del Bo R, Bresolin N, Ferrarese C.; Altered glutamate uptake in peripheral tissues from Down syndrome patients; Neuroscience Lett 2003, 343(2):73-6

**ANALISI MEDIANTE MODELLO ANIMALE (DROSOFILA MELANOGASTER) DELLA FUNZIONE DEI GENI SPASTINA (SPG4) E ATLASTINA (SPG3A)**

**Dr. Andrea Martinuzzi**  
e-mail: martinuzzi@cn.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**  
Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Conegliano

**Collaborazioni**  
Università di Padova

**Razionale**

Poiché l'analisi genetica in pazienti ed in modelli animali vertebrati è complessa e laboriosa, nel nostro laboratorio sfruttiamo la grande conservazione strutturale e funzionale che i geni di *Drosophila* (il comune moscerino della frutta) possiedono con i geni umani per generare modelli di malattia in un organismo più semplice e manipolabile. I modelli in organismi invertebrati permettono di utilizzare potenti metodi genetici per individuare i "pathways" cellulari in cui sono coinvolti questi geni malattia, consentendo di delucidarne la loro funzione fisiologica e possibilmente il meccanismo patogenetico alla base delle malattie.

Il progetto prevede l'uso della *Drosophila* come modello per lo studio della funzione di due dei geni coinvolti nella paraplegia spastica ereditaria (HSP), SPG4 e SPG3a. Le proteine codificate da questi geni sono rispettivamente Spastina e Atlastina, caratterizzate strutturalmente come "nucleotide binding proteins". Gli omologhi di *Drosophila* dei geni codificanti per queste proteine sono stati identificati e clonati nel nostro laboratorio e sono stati denominati D-spastina e D-atlastina.

Il progetto riguardante la D-spastina è la continuazione delle ricerche già svolte con successo su questo gene nel passato. Utilizzando *Drosophila* come modello abbiamo infatti dimostrato che la spastina esercita una funzione di destabilizzazione dei microtubuli, come indicato dalla loro marcata diminuzione a seguito di sovraespressione e dal loro aumento e ispessimento causato dall'assenza di spastina. Poiché la funzione di questa proteina era in precedenza completamente ignota, questo ha rappresentato un notevole passo in avanti non solo nella determinazione del ruolo fisiologico della spastina, ma anche nella comprensione dei meccanismi patologici della HSP.

La creazione di un modello di *Drosophila* per l'atlastina, come già dimostrato per la spastina, dovrebbe consentire di chiarire la funzione biologica anche di questo gene in modo rapido ed efficiente. Per questo motivo, questo progetto si propone di creare un modello animale di SPG3a in *Drosophila* e di continuare ad usare il modello esistente di SPG4 per accrescere le conoscenze sulla funzione della spastina.

**Obiettivi**

Gli obiettivi di questo progetto sono:

1. analisi funzionale delle mutazioni patologiche introdotte nel gene spastina di *Drosophila* allo scopo di determinare il meccanismo patogenetico
2. analisi del ruolo della sumizzazione, una modificazione secondaria analoga all'ubiquitinizzazione, nella funzione della D-spastina.
3. creazione di un modello in *Drosophila* per la paraplegia dovuta a mutazioni in SPG3a
4. Generazione di mutazioni loss of function, in particolar modo utilizzando la tecnologia dell'RNA interference, nel gene D-atlastina.

Generazione di mutazioni gain of function per il gene D-atlastina. Tali mutazioni saranno ottenute grazie a sovraespressione delle proteina normale e di forme contenenti mutazioni analoghe o identiche a quelle patologiche.

**MECCANISMO PATOGENETICO DEL DANNO CELLULARE INDOTTO DA MUTAZIONI PUNTIIFORMI IN GENI STRUTTURATI DEL MTDNA: UNO STUDIO IN VITRO**

**Dr. Andrea Martinuzzi**  
e-mail: martinuzzi@cn.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**  
Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Collaborazioni**  
Università di Padova

**Background**

Neuropatia ereditaria di Leber, sindrome di Leigh, encefalomiopatia, sono tra i fenotipi associati a mutazioni puntiformi missense di geni del mtDNA codificanti peptici. Sebbene alcune di queste mutazioni, come la mutazione 11778/ND4, siano tra le prime descritte nel gruppo ora molto numeroso di variazioni patologiche del mtDNA, per alcune di esse sussistono ancora molti interrogativi sui meccanismi cellulari che traducono la lesione molecolare in fenotipo clinico.

Studi condotti nel modello cellulare degli ibridi citoplasmatici (cibridi) sia nel nostro laboratorio che in altri Centri hanno permesso la identificazione di pattern specifici di danno cellulare associato a modificazioni di peptidi mitocondriali, rilevanti nella comprensione della patogenesi delle mutazioni stesse. Questi lavori preliminari dimostrano l'utilità di tale sistema sperimentale quale modello per lo studio funzionale delle mutazioni puntiformi dei peptidi del mtDNA, e per l' esplorazione di strategie di trattamento.

**Obiettivi**

- definire la modalità di attivazione apoptotica associata alle mutazioni del complesso I del mtDNA
- definire il trigger molecolare alla base del danno cellulare osservato in cibridi contenenti mutazioni LHON esposte a stress metabolico
- esplorare il fenotipo biochimico e funzionale delle mutazioni 14459 e 13513, associate a neuropatia di Leber, distonia e sindrome di Leigh, sia su fibroblasti che su cibridi
- estendere gli studi già acquisiti su cibridi ottenuti da linea di osteosarcoma umano a linee ottenute con cellule ospiti neuronali
- sperimentare nel modello cellulare l'effetto di possibili modulatori sia negativi che positivi rilevanti nella patogenesi o nel possibile trattamento delle forme morbose indagate

**Metodi**

*Linee cellulari*

Si trarrà beneficio dalla ampia varietà di linee di ibridi costruita nel corso dei precedenti anni di ricerca. In particolare sono già stabilizzate le linee omoplasmiche per le seguenti mutazioni puntiformi in peptidi codificati dal mtDNA:

11778/ND4 (in aplogruppo J e U)  
3460/ND1 (in aplogruppo J)  
14484/ND6 (in aplogruppo J)  
14459/ND6  
8993/A6

In eteroplasmia è disponibile la linea con la mutazione 13513/ND5.

Per ognuna delle linee di ibridi è disponibile la corrispondente linea di fibroblasti dai quali sono stati ottenuti i citoplasti utilizzati per la fusione cellulare.

Per la creazione di linee di ibridi a partire da cellule ospiti neuronali, verranno utilizzate le cellule neuronali umane SH-SY5Y in grado di differenziarsi in presenza di acido retinoico, che verranno sottoposte a trattamento per indurre la deplezione permanente o transitoria di mtDNA, e poi fuse con citoplasti ottenuti dalla enucleazione in presenza di citocalasina B di fibroblasti o mioblasti di controllo o patologici.

*Analisi della via apoptotica attivata.*

È già stato dimostrato che l'esposizione a stress metabolico (deprivazione di glucosio) attiva in cibridi mutati la cascata apoptotica nel giro di 24 ore. Mediante il monitoraggio dei vari effettori della apoptosi (caspasi, citocromo c, AIF, etc.) verrà definita la via apoptotica attivata in questo modello cellulare.

*Sintesi dell'ATP*

Poichè dati preliminari hanno indicato una rapida deplezione di ATP indotta in linee mutate da stress metabolico, verrà studiato l'effetto delle varie mutazioni sulla cinetica di sintesi dell'ATP, e tale dato verrà correlato con i risultati ottenuti negli esperimenti di cui sopra.

*Studio funzionale in cibridi con nuove mutazioni (13513 o 14459)*

Le analisi condotte saranno: studio della respirazione endogena, curve di crescita e di sopravvivenza, produzione di ROS, livello e funzionalità delle difese antiossidanti, livello di sintesi ATP.

*Studio dell'effetto delle mutazioni ND6 e ND5 sull'integrità del complesso I.*

Mediante tecnica di separazione in gel nativo mono e bi-dimensionale e successivo zimogramma su blot verrà studiato il grado di assemblaggio del complesso I in linee mutate.

*Studio dell'effetto di modulatori positivi o negativi sul profilo funzionale delle linee mutate.*

Verranno testate condizioni verosimilmente implicate nel precipitare il danno metabolico in linee con mutazioni associate a LHON (esposizione a testosterone, estradiolo, BSO, deplezione parziale di mtDNA). Come parametro precoce di stress metabolico verranno seguite le variazioni nel contenuto di GSSG e GSH ed il loro rapporto. Questi elementi sono risultati essere tra i più precoci marker di attivazione stress-dipendente nelle linee testate.

In modo analogo verrà testata l'esposizione a sostanze potenzialmente utili nel modulare positivamente il profilo funzionale delle linee mutate (idebenone, cysteina, tocoferolo, etc.).

**STUDIO DELLA TOSSICITÀ DEL BETA AMILOIDE (A $\beta$ ) NELLE CELLULE NEURONALI: RUOLO DEL NITROSSIDO D'AZOTO (NO), DI CERAMIDE E DI P 75 NELL'INDUZIONE DELLA MORTE NEURONALE IN PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE**

**Dr.ssa Maria Teresa Bassi**  
e-mail: mtbassi@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**  
Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2003

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Razionale**

Diverse evidenze sperimentali hanno suggerito che le vie di trasduzione del segnale attivate da p75<sup>NTR</sup>, il recettore a bassa affinità per le neurotrofine, portano ad alterazioni simili a quelle indotte dalla proteina beta amiloide (A $\beta$ ) in vitro, suggerendo quindi che l'interazione di A $\beta$  con p75<sup>NTR</sup> possa mediare i fenomeni di citotossicità indotti da A $\beta$  in corso di patologie neurodegenerative quali la malattia di Alzheimer oppure nella sindrome di Down. Il recettore p75<sup>NTR</sup>, tuttavia, nel sistema nervoso centrale, ha un ruolo ancora non ben compreso: in alcuni sistemi cellulari (neuroni simpatici) infatti induce crescita e differenziamento, in altri (ippocampo) induce sviluppo dendritico/assonale oppure morte a seconda dello stadio della cultura cellulare. Comprendere il signaling e le funzioni di p75<sup>NTR</sup> è quindi rilevante per capire quanto sia importante la sua attivazione da parte di A $\beta$  nelle malattie degenerative. I risultati ottenuti da questo studio nel primo anno forniscono una caratterizzazione seppur incompleta del ruolo della via degli sfingolipidi e delle NO sintasi nel promuovere e regolare il segnale apoptogeno generato da p75<sup>NTR</sup>. In particolare si è dimostrato il ruolo diretto delle sfingomielinasi acide, attivate in seguito ad attivazione di p75<sup>NTR</sup>, e del ceramide da esse generato, nella generazione del segnale apoptotico specifico di questo recettore. Le sfingomielinasi neutre al contrario potenziano il processo apoptotico.

**Obiettivi**

I diversi quesiti aperti dallo studio che richiedono uno studio sperimentale adeguato nel prosieguo della ricerca, sono i seguenti:

i) Analisi delle vie metaboliche intermedie che connettono l'attivazione della sfingomielinasi neutra con la generazione di NO da parte della NO sintasi endoteliale.

In particolare pare ragionevole analizzare il ruolo della sfingosina 1 fosfato (S1P). Questo sfingolipide è generato intracellularmente da ceramide per opera di ceramidasi acida e neutra e di una sfingosina chinasi. La S1P può essere esportata nello spazio extracellulare ed attivare recettori specifici, accoppiati a proteine G eterotrimeriche in grado di attivare la via della fosfatidilinositolo 3' chinasi/Akt, che a sua volta attiva eNOS mediante fosforilazione su uno specifico residuo di serina

ii) Analisi dei meccanismi molecolari alla base della protezione da parte di NO dalla morte apoptotica indotta da p75<sup>NTR</sup> Poiché la sfingomielinasi acida pare giuocare un ruolo cruciale nell'inizio del segnale apoptogeno mediato dalla attivazione di p75<sup>NTR</sup> studieremo se NO inibisce questo enzima ed il meccanismo sottostante a questa azione del mediatore gassoso. In particolare valuteremo se l'azione di NO è: a) mediata dalla generazione di GMP ciclico; b) diretta sulla sfingomielinasi; c) mediata da azione su altre proteine con funzione regolatoria sulla sfingomielinasi acida; d) se mediata da regolazione delle vie intracellulari di riciclo di quest'ultimo enzima. Se c e d si dimostreranno veri, identificheremo le proteine o i passaggi intracellulari regolati da NO.

iii) Comprensione del ruolo di necdina nelle vie di segnale accese da p75<sup>NTR</sup>. Questi studi saranno condotti in modelli neuronali e non di patologie degenerative, in cui valuteremo indici specifici di morte e differenziamento cellulare. Utilizzando plasmidi espressioni necdina valuteremo il ruolo della proteina sui fenotipi apoptotico o differenziativo indotti da p75<sup>NTR</sup>, valutando se necdina può indurre un cambio nel destino della cellula una volta trattata con agonisti di p75<sup>NTR</sup>.



Mediante microarrays si valuterà anche il possibile ruolo della proteina nell'indurre trascrizione di specifici geni correlati con apoptosi o differenziamento.

- iv) Studio della somiglianza o diversità del segnale acceso da p75<sup>NTR</sup> quando stimolato da agonisti fisiologici (NT- e BDNF) o quando attivato da A $\beta$ . Le basi molecolari ottenute nei tre punti precedenti ci permetteranno di comparare e comprendere la eventuale diversità nel segnale originato da p75<sup>NTR</sup> quando attivato da agonisti diversi.

**CINETICHE DI RIMOZIONE DEGLI  
INTRONI DEL GENE DMD: RILEVANZA  
PER MECCANISMI FISIOLGICI E  
PATOLOGICI DI SPLICING**

**Dr.ssa Manuela Sironi**

e-mail: msironi@cn.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

Dal momento in cui si è scoperta la presenza di porzioni non codificanti nei pre-mRNA eucariotici, gli sforzi si sono concentrati sui segnali che ne regolano la rimozione e sulla loro possibile funzione. Oggi è noto che le sequenze introniche aumentano in numero e dimensione con l'aumentare della complessità degli organismi viventi, indicando che le sequenze non codificanti debbano avere un ruolo, forse regolatorio, nello svolgimento di alcuni processi cellulari. Anche il numero di trascritti che possono originarsi da uno stesso gene attraverso eventi di splicing alternativo aumenta fortemente in organismi più complessi ed è stato ipotizzato che la modulazione della lunghezza intronica possa rappresentare un ulteriore livello di regolazione dello splicing negli eucarioti superiori.

Il gene umano della distrofina, localizzato sul braccio corto del cromosoma X (Xp21), è il più lungo fino ad ora identificato; esso si estende per più di 2.5 Mb e occupa circa lo 0.1% del genoma umano. Il gene è costituito da 79 esoni piuttosto piccoli che codificano per un messaggero di circa 14 kb indicando che solo lo 0.6% del gene è costituito da porzioni codificanti. La distrofina presenta dunque gli introni più lunghi che siano mai stati descritti. L'attività di ricerca svolta dal nostro gruppo ci ha portato alle seguenti osservazioni:

- l'estrema lunghezza degli introni della distrofina è conservata nei vertebrati ma le porzioni introniche che presentano elevata omologia di sequenza tra organismi diversi (uomo, topo, Fugu) rappresentano una percentuale minima della lunghezza intronica totale (Pozzoli et al. Genome Res, submitted).
- l'espansione intronica è stata in parte determinata dall'accumulo nel tempo di sequenze ripetute (Pozzoli et al. Genetics 2002)

- gli esoni out-of-frame della distrofina presentano splice sites significativamente più forti se paragonati a quelli degli esoni in-frame e sono separati da introni significativamente più lunghi (Sironi et al. Hum Genet 2001; Pozzoli et al. Genetics, 2002).
- il gene umano della distrofina presenta almeno 16 trascritti derivanti da splicing alternativo della regione del rod-domain e il pattern di splicing è alterato in pazienti DMD e BMD (Sironi et al. FEBS Lett, 2002).

Verrà in seguito messo a punto un modello in grado di valutare la proporzione di molecole rimosse nel tempo per ciascun introne in funzione della distribuzione di probabilità del relativo tempo di rimozione. Mediante algoritmi di ottimizzazione è possibile identificare i parametri relativi a tali distribuzioni che meglio approssimano i dati sperimentali. Questo ci permetterà di valutare l'ordine di rimozione degli introni e ci darà informazioni sul meccanismo di rimozione.

Auspichiamo che lo studio qui proposto possa fornire indicazioni riguardanti:

- l'eventuale ruolo/presenza di elementi cis-acting che determinano la velocità di rimozione di una sequenza intronica
- l'influenza della lunghezza di ciascun introne sulla propria cinetica di rimozione
- i meccanismi che regolano lo splicing alternativo fisiologico e patologico nella regione genica interessata

**VALUTAZIONE DEL RECLUTAMENTO FISIOLÓGICO DI CELLULE STAMINALI CIRCOLANTI DA PARTE DEL TESSUTO MUSCOLARE**

**Dr.ssa Maria Grazia D'Angelo**  
e-mail: grazia@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**  
Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo scientifico:** Bosisio Parini

**Collaborazioni**  
IRCCS Policlinico di Milano

Il presente progetto è la continuazione della Ricerca Corrente 2003 titolata: "Valutazione del comportamento di una popolazione di cellule staminali multipotenti ottenute da tessuti adulti di topi affetti da diversi tipi di distrofia muscolare (*mdx*, *dy2j*) e delle potenzialità terapeutiche"

**RAZIONALE:** I muscoli di topi affetti da diverse forme di distrofia muscolare vanno incontro dopo la nascita a cicli di rigenerazione e degenerazione. La continua domanda di precursori miogenici durante il corso della malattia, implica il reclutamento di cellule addizionali da una popolazione cellulare indifferenziata ed autorinnovantesi.

L'adattabilità allo stress muscolare è di significativa importanza nello sviluppo muscolare e nella sua funzionalità.

L'esercizio, in particolar modo se intenso, induce un danno muscolare che porta al rilascio di proteine intracellulari, chemochine e citochine (Shek & Shephard, 1998).

Questa infiammazione locale può indurre l'attivazione di precursori muscolari mononucleati, chiamati cellule satelliti, che sono localizzati al di sotto della membrana basale della fibra muscolare (Bischoff et al. 1986). La velocità con la quale le cellule miogeniche si accumulano a livello dell'area danneggiata, fa presupporre la presenza di una fonte alternativa alle cellule satelliti. Il muscolo scheletrico adulto contiene una rara popolazione di progenitori che danno origine sia a linee miogeniche sia emopoietiche (Qu et al., 1998; Torrente et al., 2001; Gussoni et al., 1999; Jackson et al., 1999). Questo fatto suggerirebbe che il compartimento rigenerativo del muscolo scheletrico adulto possa anche conformarsi all'archetipo gerarchico di un altro tessuto adulto autorigenerante come il midollo osseo.

I progenitori del midollo osseo con capacità multidifferenziativa possono negoziare la circolazione e generare muscolo

ed osso (LaBarge Ma and Blau HM. 2002 Kuznetson et al., 2001).

Con lo scopo di delineare il ruolo delle cellule circolanti nel corso di riparazione muscolare continua, come nel caso della patologia distrofica, ci prefiggiamo di analizzare le cellule Sca1 positive presenti nel sangue e nel muscolo di topi distrofici e di controlli di pari età, in relazione ai diversi stadi della malattia ed allo stress muscolare.

A partire da nostri studi precedenti, abbiamo isolato Muscle Derived Stem Cells (MDSCs) e cellule staminali circolanti d'origine midollare (CSCs) utilizzando l'espressione di un marker di superficie quale lo Stem Cell Antigen 1 (Sca-1).

Abbiamo analizzato il comportamento di questi progenitori ottenuti sia da topi *mdx/mdx* di diverse età sia da controlli e valutato la loro capacità di differenziare in cellule muscolari in seguito ad uno stress muscolare intenso quale quello indotto da un'ora di nuoto.

Abbiamo dimostrato che la diminuzione delle cellule Sca 1 positive circolanti associato ad un aumento delle stesse di derivazione muscolare, si accompagna ad un incremento della concentrazione della citochina infiammatoria TNF $\alpha$  nel muscolo di topi distrofici sottoposti ad esercizio intenso.

Tale correlazione inversa tra il numero delle cellule Sca 1 positive nel sangue e quelle nel muscolo dopo l'esercizio nel topo distrofico, suggerisce che proprio l'incremento di TNF $\alpha$  nel muscolo distrofico danneggiato possa essere il fattore primariamente coinvolto nell'induzione della mobilitazione delle cellule Sca 1 circolanti da parte del muscolo stesso.

Lo sforzo muscolare inoltre pare avere un ruolo attivatore della differenziazione in senso miogenico (in vitro) delle cellule Sca1 positive di derivazione ematica.

Il muscolo sottoposto a stress, rilascia numerosi fattori, alcuni noti, altri ancora oggetto di speculazioni; pertanto nume-

rosi altri eventi possono essere implicati in questo reclutamento di cellule staminali dalla circolazione ematica al muscolo distrofico.

In un lavoro precedentemente condotto dal nostro gruppo, è stato dimostrato che un sottogruppo di cellule Sca 1 positive è in grado esprimere L-selectina e CD44 (Torrente Y, 2003).

Il CD44 è una molecola che media il rolling, in vitro in condizioni fisiologiche, delle cellule staminali emopoietiche su ligandi endoteliali quali le E-selectine (Charles J, 2001).

A partire ad questi dati ci prefiggiamo di proseguire gli studi nel seguente modo:

- 1) Valutazione dell'espressione di ligandi di molecole di adesione all'endotelio vascolare, sempre in condizioni di sforzo e di riposo tramite al tecnica della microscopia intravitale.
- 2) approfondimento dello studio del comportamento delle cellule Sca1 circolanti nel sangue venoso e presenti nel tessuto muscolare in condizioni di sforzo e di riposo, sia in topo controllo che mdx (come modello per la distrofia muscolare di Duchenne) e del topo DY2j (come modello della distrofia muscolare congenita da deficit parziale di merosina)
- 3) analisi istologica e tramite ELISA di citochine del muscolo 24 ore dopo lo sforzo muscolare e di riposo (sia nei 2 modelli di topi distrofici che nei controlli)
- 4) Valutazione ulteriore della capacità multidifferenziativa di tali linee cellulari e di eventuale differenza di tali capacità dopo attività muscolare intensa
- 5) Verifica dell'origine midollare o ematica delle cellule Sca1 positive tramite l'impiego di i topi eterozigoti DesLacZ (nei quali il gene reporter LacZ è selettivamente espresso sotto controllo della desmina) sottoposti ad esercizio muscolare.

## Background

La distrofia muscolare di Duchenne è una malattia ereditaria legata al cromosoma X, trasmessa con carattere recessivo causata dalla mancanza della proteina distrofina a livello dei tessuti muscolari. Il modello animale della distrofia muscolare di Duchenne è il topo mdx, che presenta una mutazione puntiforme a livello dell'esone 23 del gene della distrofina. Tale difetto molecolare comporta un deficit di espressione di distrofina a livello della fibra muscolare e rende l'animale un discreto modello sperimentale per la terapia genica. Tra le 2 e le 8 settimane dalla nascita, la più parte delle fibre muscolari vanno incontro almeno ad un ciclo di degenerazione/ rigenerazione, come dimostrato dall'accumulo di fibre contenenti centralizzazioni nucleari.

L'adattabilità allo stress muscolare è di significativa importanza nello sviluppo muscolare e nella sua funzionalità. L'esercizio, in particolar modo se intenso, induce un danno muscolare che porta al rilascio di proteine intracellulari, chemochine e citochine (Shek & Shephard, 1998).

Questa infiammazione locale può indurre l'attivazione di precursori muscolari mononucleati, chiamati cellule satelliti, che sono localizzati al di sotto della membrana basale della fibra muscolare (Bischoff et al. 1986). La velocità con la quale le cellule miogeniche si accumulano a livello dell'area danneggiata, induce il sospetto della presenza di una fonte alternativa alle cellule satelliti. Il muscolo scheletrico adulto contiene una rara popolazione di progenitori che danno origine sia a linee miogeniche sia emopoietiche (Qu et al., 1998; Torrente et al., 2001; Gussoni et al., 1999; Jackson et al., 1999). Questo fatto suggerirebbe che il compartimento rigenerativo del muscolo scheletrico adulto possa anche conformarsi all'archetipo gerarchico di un altro tessuto adulto autorigenerante come il midollo osseo.

I progenitori del midollo osseo con capacità multidifferenziativa possono negoziare la circolazione e generare muscolo ed osso (LaBarge Ma and Blau HM. 2002 Kuznetson et al., 2001)

Nonostante i numerosi studi condotti sulle cosiddette Muscle Derived Stem Cells (MDSCs) ottenute da muscolo murino normale, esistono solo pochi studi inerenti alla valutazione del comportamento fenotipico e funzionale delle cellule ottenute ad topi distrofici, in relazione ai processi rigenerativi, agli stress muscolari. Bockhold (1998) ha testato il potenziale miogenico, in termini di cellule miogeniche prodotte in coltura attorno alla singola miofibra isolata.

Questo studio ha mostrato una diminuzione età dipendente del numero delle cellule miogeniche che si accumulano attorno ad ogni fibra, ma nessuna differenza tra topo vecchio mdx e controllo, formulando così l'ipotesi che il fallimento della rigenerazione nel topo distrofico potesse essere attribuito ad un "esaurimento" delle cellule satellite piuttosto che a cambiamenti progressive nell'ambiente muscolare.

Pertanto la maggioranza delle cellule muscolari può essere vista come una popolazione di transizione, coinvolta nei processi riparativi minori giornalieri. Questa popolazione è mantenuta in vita da una pool di riserva che può avere le proprietà di cellule staminali committed ed essere attivata da un danno muscolare severo. Le cellule circolanti possono entrare nel muscolo tramite al circolazione e giocare un ruolo fondamentale nei meccanismi riparativi. È di ovvio interesse trovare le strategie di aumento della loro efficacia (Partridge 2002).

Il lavoro fino ad ora condotto nel nostro Istituto in collaborazione con la Clinica Neurologica dell'Università degli studi di Milano ha dimostrato (Ausenda C, 1997; Bresolin N, 1997, D'Angelo MG, 1999, Torrente et al 2001) che cellule positive sia per Sca1 sia per CD34 purificate

da tessuto muscolare di topi newborn, in fase di preplating definita pp6, sono multipotenti in vitro e sono in grado di differenziare sia in senso miogenico che multimieloide. Queste stesse cellule, isolate dal newborn di topo esprimente lacZ sotto il controllo del promoter della desmina o della troponina I sono state iniettate nella circolazione arteriosa delle zampe posteriori del topo mdx. Le cellule aderiscono fermamente alla parete endoteliale e migrano dalla circolazione nel tessuto muscolare dell'ospite (osservazione avvenuta tramite microscopia intravitale). L'analisi immunostochimica ha dimostrato la colocalizzazione del LacZ e della distrofina nei muscoli iniettati.

Un recente lavoro condotto da Torrente (2003) ha permesso di identificare l'espressione a livello delle MDSCs della molecola di adesione L-selectina una molecola di adesione indispensabile per la migrazione transendoteliale di cellule di derivazione ematica e midollare.

Con lo scopo di delineare il ruolo delle cellule circolanti nel corso di riparazione muscolare continua, come nel caso della patologia distrofica, ci prefiggiamo di analizzare le cellule Sca1 positive presenti nel sangue e nel muscolo di topi distrofici e di controlli di pari età, in relazione ai diversi stadi della malattia ed allo stress muscolare.

## Risultati fino ad ora ottenuti

### **Caratterizzazione delle cellule in vitro**

► Le cellule di derivazione muscolare possono essere "arricchite" tramite la tecnica del preplating in relazione alle loro caratteristiche di adesione. I cloni ottenuti da muscolo di topi controllo sia da topi mdx sono in grado di differenziare in senso miogenico e di formare miotubi, dotati di capacità contrattile, sia di differenziare in senso emopoietico se posti in terreno di metilcellulosa.

Andando poi a testare al capacità multidifferenziativa delle cellule Sca1 positive purificate sia da sangue che da tessuto muscolare, abbiamo osservato che queste cellule differenziavano in senso miogenico, mieloide, endoteliale e neuronale. Le cellule Sca1 negative invece hanno una bassa e stabile nel tempo espressione di markers miogenici, mentre al componente neurogenico aumenta in maniera significativa all'aumentare dell'età dell'animale.

► L'insieme di questi risultati suggerisce che nella popolazione di muscle-derived stem cells ottenute da topo mdx potremmo identificare 2 grossi gruppi di cellule: quelle esprimenti lo Stem Cell Antigen 1 (Sca 1 positive) e quelle invece negative per questo marker (Sca 1 negative). Le cellule Sca 1 positive hanno una buona espressione di markers miogenici in vitro, che aumenta con il tempo in coltura (verosimilmente legata alla progressiva formazione di miotubi). Tale componente miogenica si esaurisce però con l'avanzare dell'età dell'animale, in relazione anche ai fisiologici processi rigenerativi in atto nel muscolo distrofico (in particolar modo attorno ai 2-3 mesi di vita)

Abbiamo già condotto uno studio preliminare circa l'influenza di uno sforzo muscolare intenso (nuoto di 1 ora) sul comportamento delle cellule Sca1 positive isolate sia dal muscolo che dal sangue.

Nei topi mdx di 3 mesi, l'attività muscolare induce una diminuzione delle cellule Sca1 positive a livello del circolo ematico (25.9% di cellule Sca1+ nei topi mantenuti a riposo al confronto del 10% nei topi distrofici sottoposti allo sforzo).

Al contrario, nei muscoli ottenuti da animali sottoposti allo stress dell'esercizio muscolare, il numero delle cellule Sca1 positive aumenta moderatamente rispetto a quello delle Sca1 positive otte-

nute dai topi mantenuti a riposo. Questo fatto suggerisce un possibile reclutamento delle cellule Sca1 positive dal sangue al muscolo in condizioni di sforzo.

L'analisi tramite ELISA ha mostrato un aumento significativo dei valori di TNF alfa nei muscoli prelevati da topi mdx 24 ore dopo lo sforzo muscolare. Queste citochine possono facilitare l'adesione delle cellule circolanti all'endotelio vascolare attraverso un aumento di ligandi di molecole di adesione.

L'analisi delle cellule Sca1 positive ottenute da sangue di topi nuotatori e non nuotatori, sia mdx che controlli, quando seminate su un monolayer di una linea muscolare murina C2C12, presentano una migliore capacità di fusione e di formazione di miotubi quando ottenute ad campioni di topi nuotatori.

L'insieme dei dati fino ad ora ottenuti suggerisce che l'esercizio induce una serie di eventi che facilitano il reclutamento di cellule circolanti.

In un lavoro precedentemente condotto dal nostro gruppo, è stato dimostrato che un sottogruppo di cellule Sca 1 positive è in grado esprimere L-selectina e CD44 (Torrente Y, 2003).

Il CD44 è una molecola che media il rolling, in vitro in condizioni fisiologiche, delle cellule staminali emopoietiche su ligandi endoteliali quali le E-selectine (Charles J, 2001).

A partire ad questi dati ci prefiggiamo di proseguire gli studi nel seguente modo:

1) Valutazione dell'espressione di ligandi di molecole di adesione all'endotelio vascolare, sempre in condizioni di sforzo e di riposo tramite al tecnica della microscopia intravitale.

2) approfondimento dello studio del comportamento delle cellule Sca1 circolanti nel sangue venoso e presenti nel tessuto muscolare in condizioni di sforzo e di riposo, sia in topo controllo che mdx (come modello per la distrofia muscolare di

Duchenne) e del topo DY2j (come modello della distrofia muscolare congenita da deficit parziale di merosina)

3) analisi istologica e tramite ELISA di citochine del muscolo 24 ore dopo lo sforzo muscolare e di riposo (sia nei 2 modelli di topi distrofici che nei controlli)

4) Valutazione ulteriore della capacità multidifferenziativa di tali linee cellulari e di eventuale differenza di tali capacità dopo attività muscolare intensa

5) Verifica dell'origine midollare o ematica delle cellule Sca1 positive tramite l'impiego di

i topi eterozigoti DesLacZ (nei quali il gene reporter LacZ è selettivamente espresso sotto controllo della desmina) sottoposti ad esercizio muscolare.

#### **METODICHE che verranno impiegate:**

Protocollo di esercizio muscolare: i topi mdx/mdx/C57Bl/10ScSn e C57Bl/10ScSn di 1 e 3 mesi di età, sono divisi in 2 sottogruppi. Un gruppo verrà sottoposto a test del nuoto per un'ora 24 ore prima del sacrificio, ed uno sarà tenuto a riposo. I topi eterozigoti DesLacZ che esprimono il gene reporter della beta galattosidasi sotto al sequenza regolatoria della desmina verranno sottoposti al medesimo esercizio muscolare.

Verranno poi eseguite biopsie muscolari del muscolo tibiale anteriore di ogni gruppo e su di esse svolta un'analisi istologica ed un dosaggio tramite ELISA di citochine infiammatorie, quali TNF alfa, INF gamma, IL1, IL6.

#### **Colture Cellulari:**

Le cellule di midollo osseo ottenute dai topi mdx/mdx/C57Bl/10ScSn, DesLacZ e dai controlli C57Bl/10ScSn sono state ottenute tramite il lavaggio della tibia e del femore con il terreno RPMI 1640 (Gibco Life Technologies, Grand Island, NY, USA) addizionato di 10% di Siero fetale di vitello.

I campioni di sangue, ottenuti dai diversi gruppi di animali, saranno diluiti in Iscovè modified Dulbeccòs medium 1:3 (IMDM). Le cellule moninucleate saranno raccolte tramite centrifugazione. Le cellule staminali del tessuto muscolare saranno isolate dal tessuto prelevato dalle zampe anteriori e posteriori di topi tramite dissociazione prima meccanica e poi enzimatica (soluzione contenente collagenasi tipo IX 0.2% e tripsina 0.1%). La sospensione cellulare così ottenuta viene seminata su piastra, incubata a 37°C al 5% CO2 per 30 minuti/1 ora, poi la stessa sospensione viene trasferita ad una nuova piastra (preplating 1-pp1), reincubata per 2 ore (pp2). Tali passaggi sono ripetuti ogni 24 ore fino al passaggio preplating 6. Le cellule mononucleate sia ematiche che muscolari saranno poi risospese in PBS e le cellule purificate Sca1 positive sottoposte a selezione positiva tramite Sca-1 multi-sort kit.

Al fine di determinare il potenziale miogenico delle cellule, queste saranno mantenute in terreno proliferativo fino alla confluenza del 60-70%; dopodichè le cellule venivano poste in terreno differenziativo e dopo 10-14 giorni in coltura, vengono contati i miotubi in ogni step di preplating.

In alcuni esperimenti verrà utilizzata anche la tecnica di studio della capacità di differenziare in senso miogenico tramite la fusione delle cellule marcate con il colorante PKH26 con un monolayer di C2C12

Al fine di determinare la capacità delle cellule di differenziare in senso emopoietico, le cellule sono state seminate in sistema metilcellulosa.

Al fine di valutare la capacità di autorinnovamento delle cellule, sono stati isolati cloni da step pp2 e pp5 delle colture normali e di mdx. Le cellule sono seminate a "limited dilution" (da 1 cellula per piastra a 100 cellule per piastra), valutate quotidianamente tramite microscopio a luce rovesciata.

#### Colorazioni immunoistochimiche:

Le cellule sono piastrate su plastica; alcune fissate in etanolo e poi incubate con anticorpi primari quali: anti-platelet endothelial cell adhesion molecule-PECAM; anti-desmina; anti-bcl2, anti-fibronectina, anti-slow myosin heavy chain, anti-CD34 ed anti Stem Cell Antibody. Un altro gruppo di cellule è stato fissato in formaldeide al 4% e permeabilizzato con 0.1% Triton X-100 in PBS; successivamente incubate con anticorpi primari: anti-nestina, anti bIII-tubulina, anti-neurofilamento, anti Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP)-Cy3.

#### Microscopia intravitale e colorazione in vivo delle molecole di adesione endoteliali

Le cellule Sca1 positive isolate tramite MACS verranno poi incubate con il reagente di rilascio multi-sort ed incubate con l'anticorpo anti CD34 biotinilato; risospese poi con microbeads paramagnetici coniugati con anti biotina. Dopo la selezione delle diverse sottopopolazioni, Sca-1+CD34+, Sca-1+CD34-, Sca-1-CD34+, ogni frazione cellulare viene analizzata per la purezza.

Verrà eseguita un'analisi al FACScan flow cytometer utilizzando un software Cell Quest (Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA) per una citometria a 2 colori per anti-CD34 FITC and anti-Sca-1 PE. Si selezionerà il gruppo di cellule Sca1 +/CD34 -, in base all'esperienza precedentemente acquisita (Torrente, 2003) che mostrava un capacità migratoria migliore rispetto agli altri sottogruppi.

Per questi esperimenti verrà impiegato un microscopio intravitale (Olympus BX50WI) equipaggiato di un obiettivo ad immersione acquosa (Olympus Achroplan, focal distance 3.3 mm, NA 0.5). Le MDSCs saranno colorate con il colorante sopravvitale BCECF.

Le cellule purificate, saranno poi incubate con gli anticorpi anti-E, and P-selectin, anti-MAd CAM-1, e l'isotipo di controllo (anti-human Ras), marcati utilizzando Alexa Fluor 488 labeling kit ed

iniettate endovena nell'animale. 20 minuti dopo, gli animali sono anestetizzati e perfusi attraverso il ventricolo sinistro (Piccio et al., 2002). La muscolatura striata dei vasi sarà visualizzata tramite al microscopia intravitale.

## Bibliografia

- Ausenda CD, M.G. D'Angelo, N. Bresolin, S. Nesti, A. Bordoni, R. Del Bo, S. Baldessari, G.P. Comi, G. Scarlato: Forced expression of MyoD creates a muscle-specific test system for exogenous genes. *Basic Appl. Myol.* 7 (6):375-380, 1997
- Bresolin N, C. D. Ausenda, R. Casati, Y. Torrente, A. DeLiso, M. G. D'Angelo, R. Benti, M. Moggio, S. Baldessari, G.P.Comi, F.Colombo, P.Gerundini, G. Scarlato: Intra-aortic injection of myoblasts in mdx mice: genetic and Tc-99m cell labelling and biodistribution. *Muscle and Nerve*, March 1997, 20
- D'Angelo MG, C. Ausenda, Y. Torrente, A. Bordoni, S. Corti, M.P. Perini, M. Colucci, G. P. Comi, N. Bresolin, G. Scarlato: 5' azacytidine enhances exogenous gene expression in skeletal muscle. *Basic and Applied Myology* 9 (1): 5-10, 1999
- Beauchamp JR, Morgan JE, Pagel CN, Partridge TA: Dynamics of myoblast transplantation reveal a discrete minority of precursors with stem cell-like properties as the myogenic source. *J Cell Biol.*144(6):1113-22, 1999.
- Beauchamp JR, Heslop L, Yu DS, Tajbakhsh S, Kelly RG, Wernig A, Buckingham ME, Partridge TA, Zammit PS: Expression of CD34 and Myf5 defines the majority of quiescent adult skeletal muscle satellite cells. *J Cell Biol.* 151(6):1221-34, 2000.
- Bischoff R.: Proliferation of muscle satellite cells on intact myofibers in culture. *Dev Biol.* 115(1):129-39, 1986.
- Bittner RE, Schofer C, Weipoltshammer K, Ivanova S, Streubel B, Hauser E, Freilinger M, Hoger H, Elbe-Burger A, Wachtler F: Recruitment of bone-marrow-derived cells by skeletal and cardiac muscle in adult dystrophic mdx mice. *Anat Embryol (Berl).* 199(5): 391-6, 1999.
- Bockhold KJ, Rosenblatt JD, Partridge TA: Aging normal and dystrophic mouse muscle: analysis of myogenicity in cultures of living single fibers. *Muscle Nerve.* 21(2):173-83, 1998.
- Bonsignore MR, Morici G, Santoro A, Pagano M, Cascio L, Bonanno A, Abate P, Mirabella F, Profita M, Insalaco G, Gioia M, Vignola AM, Majolino I, Testa U, Hogg JC: Circulating hematopoietic progenitor cells in runners. *J Appl Physiol.* 93(5):1691-7, 2002.
- Caron NJ, Torrente Y, Camirand G, Bujold M, Chapdelaine P, Leriche K, Bresolin N, Tremblay JP: Intracellular delivery of a Tat-eGFP fusion protein into muscle cells. *Mol Ther.* 3(3): 310-8, 2001.
- Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD, Buzney EA, Khan MK, Flint AF, Kunkel LM, Mulligan RC: Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature.* 401 (6751): 390-4, 1999.
- Jackson KA, Mi T, Goodell: Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 96(25):14482-6, 1999.
- Partridge TA: Cells that participate in regeneration of skeletal muscle. *Gene Ther.* 9(11):752-3, 2002.
- Petrof BJ, Shrager JB, Stedman HH, Kelly AM, Sweeney HL: Dystrophin protects the sarcolemma from stresses developed during muscle contraction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(8): 3710-4, 1993.
- Piccio L, Rossi B, Scarpini E, Laudanna C, Giagulli C, Issekutz AC, Vestweber D, Butcher EC, Constantin G: Molecular mechanisms involved in lymphocyte recruitment in inflamed brain microvessels: critical roles for P-selectin glycoprotein ligand-1 and heterotrimeric G(i)-linked receptor *J Immunol.* 168 (4): 1940-9, 2002.
- Qu Z, Balkir L, van Deutekom JC, Robbins PD, Pruchnic R, Huard J: Development of approaches to improve cell survival in myoblast transfer therapy. *J Cell Biol.* 142(5):1257-67, 1998.
- Shek PN, Shephard RJ: Physical exercise as a human model of limited inflammatory response. *Can J Physiol Pharmacol.* 76(5):589-97, 1998. Review.
- Springer ML, Brazelton TR, Blau HM: Not the usual suspects: the unexpected sources of tissue regeneration. *J Clin Invest.*107(11):1355-6, 2001.
- Torrente Y, Tremblay JP, Pisati F, Belicchi M, Rossi B, Sironi M, Fortunato F, El Fahime M, D'Angelo MG, Caron NJ, Constantin G, Paulin D, Scarlato G, Bresolin N: Intraarterial injection of muscle-derived CD34(+)Sca-1(+) stem cells restores dystrophin in mdx mice. *J Cell Biol.* 152(2):335-48, 2001.
- Torrente Y, El Fahime E, Caron NJ, Del Bo R, Belicchi M, Pisati F, Tremblay JP, Bresolin N: Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) stimulates chemotactic response in mouse myogenic cells. *Cell Transplant.*12(1): 91-100, 2003.
- Torrente Y, Camirand G, Pisati F, Belicchi M, Rossi B, Colombo F, El Fahime M, Caron NJ, Issekutz AC, Constantin G, Tremblay JP, Bresolin N: Identification of a putative pathway for the muscle homing of stem cells in a muscular dystrophy model. *J Cell Biol.* Aug 4; 162(3): 511-20, 2003.

**TELEMONITORAGGIO DI PAZIENTI  
DOMICILIARI CON PATOLOGIE  
CRITICHE (T-DOPA)**

**Ing. Gianluigi Reni**  
e-mail: greni@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 6**  
Bioingegneria

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**PREMESSA**

La telemedicina nasce dall'integrazione delle conoscenze derivanti dall'area medica, informatica e delle telecomunicazioni. Quantunque ci siano stati grossi progressi in ciascuno di questi settori, la spinta più forte alla crescita della telemedicina è giunta dal rapido progresso dei sistemi di telecomunicazione avvenuto nell'ultimo decennio.

A fronte di tale significativa evoluzione della tecnologia, non si è però finora assistito ad una analoga evoluzione dei servizi medici potenzialmente connessi all'uso dei servizi di telecomunicazione. La ragione è forse da cercarsi nella mancanza di modelli e protocolli applicativi, capaci di coniugare le potenzialità della tecnologia con le necessità del cittadino paziente e con le complessità dell'organizzazione sanitaria.

Tra i servizi di telecomunicazione oggi disponibili, esistono ambiti con elevatissime potenzialità di impiego in area clinica sia per la loro diffusione, che per la loro semplicità d'uso.

Ad esempio si prevede che la banda larga raggiunga la totalità degli ospedali e l'80% delle scuole entro la fine del 2004. Entro due o tre anni la domanda di connessione tramite banda larga sarà soddisfatta su tutto il territorio nazionale. Questo significa che al domicilio delle famiglie sarà sempre più facile disporre di mezzi trasmissivi potenti e facenti parte di una consuetudine di uso quotidiano.

Ancora, si consideri il caso della telefonia mobile. In Europa il numero assoluto di abbonati a servizi di telefonia mobile ha ormai raggiunto quota 277 milioni, con una densità di 73,4 ogni 100 abitanti. In termini assoluti il paese con il maggior numero di abbonati è la Germania (56 milioni), ma l'Italia è, dopo il Lussemburgo, il paese che conosce la maggior diffusione della telefonia cellulare, con quasi 49 milioni di abbonati ed una densità di 84,2 ogni 100 abitanti

(Fonte Eurostat, 2002). Le nuove generazioni di telefoni mobili offrono elevate possibilità tecniche: sono multifunzionali, hanno schermi a colori e microcamere, capacità di collegamenti video, bande di trasmissione dati sempre più ampie. Il tutto a costi contenuti.

Le possibilità di utilizzo di questi servizi di telecomunicazione in ambito medico spaziano dal teleconsulto all'home care, dal telemonitoraggio all'accesso ad informazioni cliniche.

L'obiettivo diventa pertanto quello di porre il paziente al centro del sistema, cercando di costruirgli intorno i servizi di cui necessita, in modo tale che si integrino con gli oggetti di vita quotidiana, e mirando contemporaneamente ad una maggiore "deospedalizzazione" della sanità.

Ad esempio il paziente disagiato o impossibilitato a muoversi può vivere in ambito familiare alcune fasi della malattia o del recupero senza che ciò determini un aumento del rischio causato dal mancato monitoraggio del suo stato. Ancora, la sorveglianza delle condizioni fisiche di un paziente da una sede remota può ridurre il rischio di ricadute nei pazienti cronici e contemporaneamente ottimizzare la frequenza dei ricoveri, che vengono disposti solo quando le condizioni del paziente lo richiedano realmente, liberando così risorse per altri pazienti con maggiore urgenza.

Diventa dunque teoricamente possibile garantire una più puntuale continuità dell'assistenza, una più dettagliata documentazione delle terapie ed un più accurato controllo dei risultati con due ulteriori benefici attesi: la qualità della vita del paziente, che risulta salvaguardata ed addirittura migliorata, e la spesa sanitaria, che viene contenuta e probabilmente ridotta.



## Obiettivi del programma

L'obiettivo del progetto è quello di sviluppare modelli di telemonitoraggio avanzati, basati sull'impiego di diverse tipologie di reti telematiche, per consentire la valutazione remota dello stato di salute del paziente domiciliare affetto da patologia critica.

In particolare ci si prefigge la definizione di protocolli clinici innovativi che siano 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.

I perimetri di applicazione di queste tecnologie, le indicazioni d'uso, la loro efficacia, le eventuali limitazioni d'impiego saranno oggetto di studio.

Lo scopo ultimo è di costruire protocolli clinici ed individuare modalità gestionali che consentano l'impiego di strumenti di telecomunicazione diffusi sul territorio nella pratica clinica quotidiana, puntando ad una riduzione della durata della degenza, ad una miglior qualità di alcuni servizi sanitari e ad un utilizzo più efficiente delle risorse disponibili.

## Workpackages, protocolli e metodologie

Il progetto si articola in una serie di macrofasi finalizzate: alla realizzazione e alla sperimentazione dei protocolli clinici di monitoraggio a distanza; alla implementazione di kit tecnologici da distribuire sul territorio presso le singole famiglie cooptate nello studio; all'analisi costo/efficacia delle procedure e tecnologie adottate.

I workpackages previsti sono i seguenti:

1) Definizione, analisi e modellizzazione di protocolli clinici per il monitoraggio a distanza

Lo studio è rivolto a pazienti affetti da patologie critiche (ad es. pazienti che abbiano subito interventi di chirurgia orto-

pedica, trattamenti chemodrenanti, terapie farmacologiche per il controllo delle distonie), rientrati presso il loro domicilio dopo la dimissione dall'ospedale e/o dal centro specializzato.

Nel corso del workpackage vengono selezionate casistiche specifiche significative per numerosità e tipologia, ponendo particolare attenzione alla zona di residenza dei pazienti in relazione alla garanzia di copertura offerta dai fornitori di servizi di comunicazione.

Si effettua una analisi organizzativa dei processi di erogazione della cura, studiando i protocolli normalmente utilizzati, sia disegnando nuovi protocolli specifici per il telemonitoraggio.

2) Realizzazione di sistema per la gestione off-line di messaggi multimediali

I protocolli di telemonitoraggio ideati vengono tradotti in un sistema integrato di gestione delle comunicazioni, che consente l'acquisizione 24 ore al giorno e 7 giorni su 7 dei messaggi inviati dal paziente stesso. Il personale medico viene dotato degli strumenti per l'analisi off-line di tali messaggi e per la generazione di risposte.

3) Implementazione e diffusione di kit domiciliari per telemonitoraggio

La strumentazione a domicilio del paziente è costituita da kit differenziati in base ai servizi di comunicazione disponibili sul territorio. I kit vengono realizzati con tecnologie correntemente disponibili ed a basso costo, ponendo particolare attenzione a garantire la massima facilità d'uso. La fase di messa in opera del kit a domicilio viene adeguatamente curata.

4) Formazione e supporto

I pazienti individuati nel corso del workpackage 1) vengono adeguatamente istruiti all'uso dei kit da personale specializzato, prima delle dimissioni. Istruzioni per il corretto impiego dei kit vengono anche rese disponibili on-line via Internet, utilizzando le metodologie tipiche della formazione a distanza.

Ulteriore supporto viene garantito mediante la possibilità di accesso ad un call-center, anche tramite videochiamate.

5) Sperimentazione

I pazienti vengono monitorati presso il loro domicilio, applicando i protocolli disegnati nel corso del workpackage 1). Durante questa fase le famiglie coinvolte nello studio vengono monitorate anche mediante griglie e questionari per valutare la soddisfazione nell'uso dello strumento di telemonitoraggio.

6) Validazione dei risultati

Le performance ottenute con il sistema tradizionale e quelle ottenute con il sistema di telemonitoraggio vengono messe a confronto da auditor non coinvolti nella fase di sperimentazione, che verificano e validano il raggiungimento degli obiettivi di progetto, sia dal punto di vista del costo/efficacia, sia dal punto di vista della qualità del servizio.

## Risultati attesi e trasferimento al SSN

### Risultati attesi

Protocolli di telemonitoraggio per pazienti domiciliari con patologie critiche (sindromi del primo motoneurone)

Kit di telemonitoraggio a basso costo e di facile impiego, basati sull'impiego di tecnologie a larga diffusione.

Sistema di gestione delle comunicazioni tra paziente domiciliare e centro ospedaliero di riferimento.

### Trasferibilità al SSN

I protocolli di telemonitoraggio, i kit ed il sistema di gestione sono immediatamente utilizzabili da ospedali pubblici con casistiche di pazienti che devono sottoporsi a trattamenti specifici per la spasticità (chirurgici o farmacologici). In particolare è possibile prevedere che nel corso del progetto il prototipo venga collaudato anche nell'ambito di aziende ospedaliere, al fine di garantire la massima trasferibilità verso il Servizio Sanitario.

**IMPLEMENTAZIONE DI ALGORITMI  
SUPPORT VECTOR MACHINES PER LA  
PREDIZIONE DELL'EFFETTO  
PATOLOGICO DI MUTAZIONI  
PUNTIFORMI**

**Ing. Uberto Pozzoli**  
e-mail: upozzoli@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 6**  
Bioingegneria

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

Le mutazioni puntiformi possono coinvolgere con effetti patologici, regioni codificanti o regioni non codificanti con funzione regolatoria. Per valutare l'effetto patogenetico di una sostituzione nucleotidica in una regione codificante è necessario studiare il dominio proteico interessato. Una parte importante all'interno delle mutazioni patologiche nell'uomo è occupata da sostituzioni che alterano il pattern di splicing e danno luogo ad effetti diversi che vanno dall'esclusione di uno o più esoni dal trascritto all'attivazione di siti criptici all'inclusione di regioni introniche nel messaggero. Data l'incidenza delle mutazioni puntiformi sulle patologie umane e l'impossibilità di procedere ad un sequenziamento diretto delle sequenze genomiche interessate da tali mutazioni (soprattutto per una difficoltà nel reperire i tessuti in cui i geni sono espressi, ma anche per i tempi dilatati dell'analisi sperimentale) l'implementazione di un sistema di predizione che, a partire da un gene o più geni di interesse, permetta di valutare quale sia l'effetto di sostituzioni nucleotidiche risulta di particolare interesse, anche dal punto di vista della diagnosi.

### **Background**

L'algoritmo che si desidera implementare, dopo aver ottenuto la probabilità di mutazione di un singolo nucleotide, quantifica l'efficienza di uno splice-site valutando le probabili conseguenze di una sua mutazione in relazione alle caratteristiche della sequenza genomica circostante. Vengono poi scelte le posizioni che con maggiore probabilità possono generare mutazioni patologiche. Sono previsti ulteriori affinamenti del metodo prendendo in considerazione l'effetto di elementi modulatori esonici o intronici che possano influenzare l'attività dei siti di splicing adiacenti. Per la corretta identificazione di uno splice-site, e quindi anche per il riconosci-

mento degli effetti di una mutazione che possa alterare questo meccanismo, è importante riuscire ad identificare sequenze consenso maggiormente sensibili. Tra i fattori coinvolti nel meccanismo di splicing, la lunghezza delle sequenze non codificanti fiancheggianti l'esone si è rivelata una variabile importante e quindi anche le nostre metodologie statistiche utilizzate per il calcolo delle matrici consenso dovranno tener conto di queste ulteriori informazioni. Attraverso l'analisi comparata di sequenze introniche, esoniche, pseudoesoniche e di geni composti esclusivamente della parte codificante, si prevede anche la definizione di oligonucleotidi che all'interno di una sequenza funzionino da silencer o da enhancer di splicing, in grado cioè di inibire o incrementare l'inclusione dell'esone all'interno della sequenza codificante e che in un certo senso caratterizzano la struttura esonica.

### **Metodi computazionali**

Unendo i diversi parametri e le precedenti nozioni relative ai meccanismi di trascrizione si intende realizzare uno strumento flessibile, che sia in grado di classificare l'effetto sul trascritto relativamente allo splicing. Per ottenere questo scopo verrà utilizzato un approccio basato sul Support Vector Machines (SVM). Questa tipologia di algoritmi di classificazione, oltre ad adattarsi ai dati in ingresso, riesce a limitare i problemi derivanti da errori nelle sequenze e dalla enorme dimensione dalle stesse. Dopo la fase di implementazione, l'algoritmo verrà inoltre validato con i dati relativi alle mutazioni patologiche reperibili tramite database dedicati.

### **Prodotto finale**

Il sistema integrato e altamente automatizzato che si intende ideare fornirà al clinico/biologo molecolare uno strumento per orientare efficacemente la ricerca di mutazioni puntiformi e la relativa interpretazione diagnostica.

### **Riassunto relazione attività svolta nel corso del 2003 (I anno)**

Le mutazioni puntiformi possono coinvolgere con effetti patologici, regioni codificanti o regioni non codificanti con funzione regolatoria. Si stima che circa il 15 % delle mutazioni patologiche nell'uomo agisca alterando il pattern di splicing del gene interessato. Gli effetti delle mutazioni di splicing sono vari e difficilmente prevedibili a priori, andando dall'esclusione di uno o più esoni dal trascritto all'attivazione di siti criptici, all'inclusione di regioni introniche nel messaggero. Per valutare l'effetto patologico delle mutazioni è necessario prima di tutto comprendere a fondo il meccanismo di splicing. La presenza di sequenze ben definite come il 3' e il 5' splice site e il branch point è necessaria ma non sufficiente a definire il confine tra introne ed esone. Altre sequenze contenute negli esoni come ESE (Exonic Splicing Enhancer) e ESS (Exonic Splicing Silencer) ricoprono un ruolo importante nella definizione degli esoni. Mutazioni puntiformi all'interno degli introni possono creare nuovi esoni attraverso l'attivazione di pseudoesoni (ovvero sequenze introniche che presentino caratteristiche compatibili con quelle di un esone, ma che normalmente non sono incluse nel trascritto). Non sono noti, ad oggi, i meccanismi molecolari per cui questi pseudoesoni pur possedendo apparentemente tutte le caratteristiche proprie di un esone generalmente non vengono considerati tali.

Durante il corso di quest'anno sono stati identificate un gran numero di queste sequenze dopo aver selezionato 110 geni ben studiati e noti. Esse sono poi state analizzate dal punto di vista delle loro caratteristiche di splicing procedendo a selezioni ulteriori per identificare due set (uno di controllo e l'altro sperimentale) da confrontare con esoni reali per identificare elementi che possano spiegare la loro esclusione dei trascritti.

Sono state identificate 3 sequenze maggiormente presenti negli pseudoesoni per le quali si è proceduto ad una verifica sperimentale che, per uno di essi, ha confermato la natura di repressore di splicing. Unendo i diversi parametri di splicing (branch point, consensus value in 5' e 3', ESE, ESS precedentemente noti e identificati nel corso di questo studio) e le precedenti nozioni relative ai meccanismi di trascrizione si intende identificare un algoritmo in grado di classificare l'effetto sul trascritto relativamente allo splicing. Per ottenere questo scopo verrà utilizzato un approccio basato sul Support Vector Machines (SVM). Questa tipologia di algoritmi di classificazione, oltre ad adattarsi ai dati in ingresso, limita i problemi derivanti da errori nelle sequenze e dalla enorme dimensione dalle stesse. L'algoritmo verrà validato con i dati relativi alle mutazioni patologiche reperibili tramite database dedicati. Esso verrà poi implementato mediante un software dedicato, integrato e automatizzato. Nelle nostre intenzioni fornirà al clinico/biologo uno strumento per orientare efficacemente la ricerca di mutazioni puntiformi e la relativa interpretazione diagnostica.

**SVILUPPO E SPERIMENTAZIONE SUL CAMPO DI UN ADATTAMENTO PER L'ETÀ EVOLUTIVA DELLA CLASSIFICAZIONE DELL'ICF**

**Dr. Andrea Martinuzzi**  
e-mail: martinuzzi@cn.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 7**  
Organizzazione dei Servizi

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Background**

La classificazione del funzionamento della salute e della disabilità pubblicata dall'OMS nel 2001 ha rappresentato un passo avanti importante nell'affrontare il problema della descrizione accurata, etiologia aspecifica, universalistica e cross-culturale del funzionamento umano associato a condizioni di salute. Tale nuovo modello concettuale di riferimento è particolarmente rilevante per la descrizione della disabilità in particolare in condizioni nelle quali la disabilità deriva da complesse interazioni tra componenti diverse: anatomiche, funzionali, personali, sociali, contestuali. Questo è particolarmente vero per l'età evolutiva. Un recente studio pubblicato dal nostro gruppo (Battaglia et al, Dev. Med. Child Neurol., 2004) ha dimostrato la applicabilità della classificazione, nel suo impianto concettuale generale, all'età evolutiva, evidenziando tuttavia la necessità di un adattamento specifico per l'età evolutiva.

Nel corso del precedente anno (2003) nell'ambito di un mandato OMS, il gruppo di lavoro internazionale di cui fa parte il responsabile di questa ricerca ha completato un adattamento della classificazione ICF per l'età evolutiva, sviluppando nel contempo 4 checklists età-specifiche (vedi report RC2003).

**Obiettivi**

La ricerca si propone di testare in una coorte di bambini di età 0-18 afferente ai centri della Nostra Famiglia in Italia, Brasile e Sudan,

- la funzionalità delle checklist preparate,
- la completezza della classificazione adattata,
- la consistenza interna delle informazioni raccolte con tale strumento
- la correlabilità dei dati così raccolti con scale funzionali validate

dalla raccolta dati della sperimentazione sul campo verranno tratte le indicazioni per eventuali ulteriori adattamenti o modificazioni, in modo da poter arri-

vare alla proposta finale all'OMS della versione ICF-CY entro i primi mesi del 2005.

Un ulteriore obiettivo della ricerca, propedeutico al precedente, è rappresentato dalla diffusione di una formazione strutturata presso gli operatori delle strutture dell'IRCCS "E. Medea" e degli operatori di strutture pubbliche e private presenti nelle sedi regionali dell'IRCCS.

**Metodi**

Per i field trials verranno completate le checklist e i questionari correlati per almeno 3 bambini per ognuna delle 4 fasce di età identificate in ognuna delle strutture identificate come sedi della ricerca.

In concomitanza con la compilazione delle checklist verranno raccolti dati relativi alla tipologia della struttura, la strategia della codificazione, la composizione delle équipes. Per ognuno dei bambini codificati presso il Centro di Conegliano verranno inoltre completate le più diffuse scale valutative disponibili (WAIS/WISC, GMFM, FIM/WeeFIM, SF36). La correlazione tra items quantificati secondo tali scale e graduazione nel qualificatore comune assegnato ai codici sui quali tali items mappano, verrà testata con metodi statistici.

Almeno 2 bambini per fascia di età verranno inoltre codificati utilizzando la forma estesa della classificazione, rilevando la completezza e esaustività delle informazioni codificabili.

Per le iniziative di formazione verranno sviluppati i moduli formativi già strutturati in ambito Disability Italian Network (DIN), identificabili come corso base e corso avanzato.

Nel corso dell'anno verranno organizzati ed effettuati un numero di eventi formativi sufficienti a garantire la operatività del personale coinvolto nella sperimentazione sul campo e nella implementazione a più ampio raggio della classificazione ICF in ambito riabilitativo.

**CREAZIONE DI STRATEGIE DI INTERVENTO E DI PROTOCOLLI INTERNAZIONALI COMUNI NELLA RIABILITAZIONE DELLE DISABILITÀ NEUROPSICHICHE COMPLESSE DELL'ETÀ EVOLUTIVA**

**Dr. Angelo Massagli**  
e-mail: massagli@bp.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 6**  
Organizzazione dei servizi

**Tipo di Ricerca:** Corrente

**Periodo di svolgimento:** 2004

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini

**Premessa**

La riabilitazione delle disabilità neuropsichiche complesse dell'età evolutiva ha attraversato negli ultimi decenni una rapida evoluzione.

È una disciplina giovane (si può dire sia nata nella seconda metà del secolo scorso) e come tale in rapido cambiamento. Si è passati dall'epoca dell'ospedalizzazione (intorno agli anni '50) a quella dell'istituzionalizzazione e della terapia ad oltranza (anni '60, '70) all'integrazione spinta (dalla fine degli anni '70 in poi).

L'approccio riabilitativo nel tempo è cambiato per cui si è passati dalle terapie pluriquotidiane, con rischi di accanimento terapeutico, a trattamenti mirati alle specifiche esigenze del singolo bambino disabile, della sua famiglia e del suo ambiente sociale.

Questi cambiamenti sono stati favoriti oltre che dalla fisiologica maturazione della giovane disciplina anche dall'evoluzione delle conoscenze scientifiche, in particolare nel campo della genetica, dallo sviluppo di sempre più sofisticati sistemi di diagnosi, dalle più documentate conoscenze sulla prognosi e sugli outcome, dall'affinarsi dei sistemi di misurazione di questi, dai più frequenti confronti scientifici internazionali, con consensus conference, elaborazione di Linee Guida, fino ai più recenti sistemi di Evidence Based Medicine e Evidence Based Rehabilitation, che cercano di dare appunto scientificità e chiarezza alla materia.

**Razionale**

Nonostante questa evoluzione, la riabilitazione delle disabilità neuropsichiche complesse dell'età evolutiva è ancora lungi dall'essere una materia univoca e universalmente condivisa. Ancora oggi si assiste al fiorire, accanto a interventi basati su dati scientifici aggiornati e condivisi, di tecniche di discutibile affidabi-

lità, senza alcun fondamento clinico-scientifico, che, oltre a non garantire alcun miglioramento della disabilità, rischiano di essere peggiorativi per i bambini e per i loro genitori.

I motivi di queste anomalie risiedono fondamentalmente nella non guaribilità di queste situazioni, nella loro complessità, nelle ancora ridotte conoscenze sulle cause di queste (si pensi all'autismo infantile e all'ADHD), con la conseguenza che genitori disperati, pur di fare il massimo per il loro bambino, cadono nelle trappole di persone senza scrupoli che li illudono inutilmente e che li distolgono da quelle che sono invece le terapie più corrette.

Comunque, pur rimanendo nell'ambito di queste ultime, i vari centri di riabilitazione e gli operatori della riabilitazione in genere tendono inevitabilmente a personalizzare gli interventi con il tempo, rendendoli via via più diversi non solo rispetto a quelli che si compiono in altre parti del mondo, ma anche rispetto a quanto si fa nel centro più vicino.

Questa tendenza alla personalizzazione si abbina poi ad una scarsa attitudine al confronto e alla comunicazione fra addetti ai lavori, in tal modo riducendo quegli scambi di esperienze che invece sarebbero un importante fattore di crescita per l'intera disciplina, nonché un ostacolo alla comparsa di approcci discutibili.

**Background**

L'IRCCS Medea dell'Associazione La Nostra Famiglia da circa 60 anni ormai si occupa con riconosciuta competenza e scientificità di riabilitazione delle disabilità neuropsichiche complesse dell'età evolutiva e ha quindi tutta l'autorevolezza per definire contatti e collaborazioni internazionali in questo campo (alcuni peraltro già in atto).

**Obiettivi**

1. Effettuare una ricognizione sugli approcci riabilitativi nelle disabilità neuropsichiche complesse dell'età evolutiva nelle varie regioni italiane, nei Paesi europei e nei Paesi non europei che si affacciano sul Mediterraneo
2. Definirne i punti di contatto e quelli di divergenza
3. Individuare delle linee di collegamento comuni, e proporre un utilizzo allargato almeno di quelle evidence based
4. Creare una rete internazionale di Istituti che lavorino per la crescita della riabilitazione neuropsichica dell'età evolutiva
5. Organizzare un convegno internazionale sullo stato dell'arte della riabilitazione neuropsichica dell'età evolutiva

**Metodologia**

Articolazione triennale:

1° anno:

- individuazione casistica con separazione dei diversi tipi di disabilità
- individuazione degli Istituti e/o delle Università nei vari Paesi europei ed extraeuropei
- avvio dei contatti
- elaborazione interviste e questionari da sottoporre ai responsabili dei suddetti Istituti
- invio di questi ai destinatari
- visite ad alcuni dei suddetti Istituti

2° anno

- studio dei dati rilevati con le interviste e con le visite
- raffronto delle diverse modalità di approccio
- individuazione degli elementi comuni
- primo confronto con i colleghi degli altri Paesi
- stesura di possibili linee di intervento comuni e condivise

3° anno

- definizione interattiva delle modalità di approccio riabilitativo nei vari Paesi
- individuazione per i diversi tipi di disabilità neuropsichiche di specifiche linee guida internazionali di intervento
- individuazione e discussione dei punti critici
- stesura di protocolli di intesa internazionale sull'argomento
- convegno internazionale finale in cui vengono riportati i dati della ricerca
- definizione di programmi successivi per le necessarie verifiche nel tempo

**Ricadute**

- 1) innalzamento della qualità dell'intervento riabilitativo in questo particolare e complesso ambito, a tutto vantaggio dei piccoli pazienti
- 2) creazione di punti di riferimento attendibili scientificamente e condivisi internazionalmente che guidino le scelte di politica sanitaria in questo ambito
- 3) incremento delle relazioni nazionali e internazionali dell'IRCCS Medea (Università, Istituti Scientifici, ecc.)

RICERCHE  
MINISTERIALI  
FINALIZZATE 2004  
(RAZIONALI)

- Le neuropatie ottiche ereditarie a patogenesi mitocondriale come modello di neurodegenerazione selettiva

**LE NEUROPATIE OTTICHE EREDITARIE  
A PATOGENESI MITOCONDRIALI COME  
MODELLO DI NEURODEGENERAZIONE  
SELETTIVA**

**Dr. Andrea Martinuzzi**

e-mail: andrea.martinuzzi@cn.lnf.it

**Linea di Ricerca n. 5**

Neurobiologia

**Tipo di Ricerca:** Finalizzata

**Periodo di svolgimento:** 2005-2006

**Polo scientifico:** Conegliano

**Unità Operative e Collaborazioni**

Dip. di Biologia evolutiva  
sperimentale Università di Bologna

Dip. di Scienze Neurologiche, IRCCS  
Ospedale Maggiore di Milano

IRCCS "E. Medea" polo regionale di  
Conegliano

Lab. di Neurobiologia - Clinica  
Neurologica Università di Milano  
Bicocca

Lab. di Neurogenetica Dipartimento di  
Scienze Neurologiche, Università di  
Bologna

**Obiettivi principale (ed eventuali  
obiettivi secondari) del progetto**

- 1) determinazione della sequenza di eventi che porta alla morte cellulare umana con mutazioni del mtDNA mitocondriale associate a LHON e mutazioni nel gene OPA1 associate ad ADOA
- 2) identificazione delle condizioni stressogene in grado di mimare in-vitro gli eventi osservati in-vivo, ed analisi dei possibili determinanti nella espressività del quadro patologico
- 3) studio dei meccanismi di neuroprotezione attivati o attivabili in vari tipi cellulari e in vivo.

**Breve sintesi delle conoscenze già  
disponibili sull'argomento**

Le neuropatie ottiche ereditarie su base mitocondriale sono delle patologie genetiche, dovute a mutazioni sia del DNA mitocondriale che nucleare, con le caratteristiche del processo neurodegenerativo specifico per determinate classi di neuroni (Carelli et al. Prog Ret Eye Res 2004;23:53-89). Le cellule target per la neurodegenerazione sono le cellule ganglionari della retina, l'ultima stazione cellulare che proietta il proprio assone sul cervello, formando il nervo ottico. Le due forme più comuni, le cui basi genetiche sono ora note, sono la Neuropatia Ottica Ereditaria di Leber (LHON) e l'Atrofia Ottica Autosomica Dominante (ADOA). La LHON è dovuta a mutazioni puntiformi del DNA mitocondriale che colpiscono differenti subunità del complesso I della catena respiratoria mitocondriale (nucleotidi 11778/ND4, 3460/ND1 e 14484/ND6). L'ADOA è associata a mutazioni che inducono aploinsufficienza nel gene OPA1, una proteina dinamino-correlata coinvolta nei processi di fissione/fusione e biogenesi del network mitocondriale.

In entrambe queste patologie i pazienti perdono la visione centrale in seguito ad una progressiva (ADOA) o acuto/subacuta (LHON) degenerazione di probabile natura apoptotica delle cellule ganglionari della retina, come indicato dall'assenza d'infiammazione e dall'inefficacia di qualsiasi terapia, inclusi gli steroidi. Le attuali conoscenze patogenetiche suggeriscono un deficit bioenergetico e/o un aumentato stress ossidativo che predispongono le cellule ad una più facile attivazione dei meccanismi di morte apoptotica, che in vivo si traduce nella degenerazione preferenziale delle fibre a piccolo calibro e scarsa mielinizzazione componenti il fascio papillomaculare. La predisposizione alla morte apoptotica sembra essere una via finale comune per la LHON e l'ADOA.

Tuttavia la disfunzione mitocondriale che sottende a questa predisposizione è diversa nelle due patologie. Nella LHON sono chiaramente documentati un deficit della sintesi di ATP con i substrati del complesso I e un incremento dello stress ossidativo. Il conseguente deficit bioenergetico può alterare il trasporto assonale della popolazione mitocondriale lungo il nervo ottico, con conseguenze patologiche prevalenti sulla parte iniziale non-mielinica e quindi altamente energia-dipendente. L' di stress ossidativo può invece avere molteplici conseguenze tra le quali una depressione nelle capacità di trasporto del glutammato e una più specifica sensibilità al danno della componente mielinica del nervo ottico. Nell'ADOA può esserci un deficit della sintesi di ATP, ed esperimenti di soppressione genica di OPA1 indicano gravi alterazioni morfologiche a carico delle cristae mitocondriali, frammentazione del network mitocondriale ed apoptosi. La frammentazione del reticolo mitocondriale potrebbe alterare l'omeostasi intracellulare degli ioni calcio, che regolano vari eventi del processo apoptotico. Quindi, una complessa interrelazione tra deficit bioenergetico, stress ossidati-



vo, eccitotossicità, organizzazione del network mitocondriale nella cellula, livelli mitocondriali di calcio e apoptosi cellulare entrano in gioco nel determinare la degenerazione delle cellule ganglionari della retina. Questi sono anche i temi centrali in altre malattie neurodegenerative, come il Parkinson dove un difetto del complesso I ha un ruolo di primo piano, la paraparesi spastica con mutazioni nella paraplegina e difetto del trasporto assoplasmatico, alcune forme di Charcot-Marie Tooth legate a mutazioni nel gene della mitofusina, una proteina analoga all'OPA1 implicata nella fissione/fusione mitocondriale, e nella sclerosi laterale amiotrofica, dove la recente dimostrazione di un legame specifico tra SOD e Bcl-2 (Pasinelli et al. Neuron 43: 19; 2004) sembra poter spiegare la predisposizione patologica all'apoptosi dei motoneuroni spinali e corticali dei soggetti con forma familiare di SLA associata a mutazioni della Cu-Zn-SOD.

### **Quali nuove conoscenze/informazioni il progetto si prefigge di produrre?**

L'approfondimento e la comprensione dei meccanismi che, a partire da una anomalia genetica nota, perturbando in vario e subdolo modo la funzionalità mitocondriale, conduce a quadri di morte neuronale selettiva, e la identificazione delle condizioni che ottenute da pazienti e portatori di 5 tipi diversi di mutazioni del mtDNA associate a LHON. Sono già a state sviluppate nel laboratorio del responsabile della ricerca le linee di ibridi da osteosarcoma contenenti le mutazioni 11778, 3460, 14484, 14459, 13505, e sono disponibili sempre nello stesso laboratorio linee di ibridi di controllo caratterizzate sia a livello genetico (aplotipo) che a livello funzionale.

### **Metodologia**

Cibridi neuronali verranno ottenuti utilizzando come cellule donatrici fibroblasti da pazienti o di controllo enucleati dopo esposizione a citocalasina B (citolastasi), che verranno fusi in con una delle due linee neuronali precedentemente deplete del loro mtDNA. La deplezione verrà ottenuta dopo esposizione a rodamina 123 per la linea NT2, dopo esposizione a bromuro di etidio per la linea SH-SY5Y. L'identità molecolare delle linee ibride ottenute verrà verificata direttamente.

Accanto alle linee di ibridi, che garantiscono un output maggiore e costante di materiale cellulare da utilizzarsi nei vari esperimenti, verranno studiati anche i fibroblasti ottenuti dai pazienti, al fine di verificare quali risposte siano direttamente conseguenza dell'assetto genetico mitocondriale, quali rappresentino una caratteristica legata al genoma nucleare, e quali infine siano conseguenza del processo di ibridizzazione. Inoltre, i fibroblasti ottenuti dai pazienti sono le uniche linee cellulari utilizzabili per lo studio delle mutazioni del gene OPA1 diagnosticate nei pazienti con ADOA. Infine la disponibilità di tessuto muscolare biotico e di tessuto oculare e nervoso autoptico permetterà indagini immuno-istochimiche atte a valutare il danno ossidativo (nitrotirosina), e alcune attività enzimatiche (superossido-dismutasi etc.) nel tessuto selettivamente affetto dal processo neurodegenerativo (retina e nervo ottico).

Parametri di funzionalità, sopravvivenza e morte cellulare

Su tutti i tipi cellulari prima descritti verranno studiati i seguenti parametri:

1) crescita cellulare e consumo di ossigeno; 2) ATP totale; 3) trasporto del glutammato, analisi funzionale e biomolecolare presenza ed efficienza dei sistemi di difesa antiossidanti sia solubili (GSH) che enzimatici (catalasi, SOD, glutatio-

ne perossidasi e reduttasi); 4) produzione di ROS e presenza di modificazione proteiche ROS dipendenti (e.g. nitrosilazione); 5) equilibrio o disequilibrio dei fattori pro- e anti-apoptotici; 6) morfologia del network mitocondriale e dinamica degli eventi di fissione/fusione; 7) dinamica e distribuzione del calcio intracellulare; 8) numero medio di molecole di mtDNA/cellula nelle diverse linee testate

Condizioni stressogene

Le seguenti condizioni, note come in grado di indurre uno stato di stress metabolico o verosimilmente in grado in particolari circostanze di determinarlo, verranno testate:

- sostituzione nel mezzo di coltura del glucosio con il galattosio
- esposizione a glutammato (per le linee NT2, sensibili al glutammato in quanto dotate di recettori)
- esposizione a testosterone
- esposizione a agenti depletori di GSH (BSO) o neurotossine

Nelle varie condizioni verranno monitorati i parametri più significativi tra quelli sopra elencati, con l'obiettivo di determinare per ogni linea e per ogni condizione

- a) la sequenza di eventi culminanti in morte cellulare con riferimento a quelli che determinano la scelta delle modalità necrotica o apoptotica
- b) la morfologia del network mitocondriale e la relazione con le modalità di morte cellulare in atto
- c) le modalità di difesa messe in azione dalle cellule delle varie linee testate
- d) i markers più efficienti in grado di monitorare la catena di eventi.

Meccanismi di neuroprotezione

Verranno testate condizioni o sostanze in grado di fornire neuroprotezione. Tra gli altri verranno testati glutazione, mi-

toQ, idebenone e altri antiossidanti, come trolox o spin trap agents, nelle linee NT2, sensibili al glutammato, verrà testata la memantina

Correlazione genotipo/fenotipo e analisi della espressività clinica

Verrà studiata una ampia popolazione di soggetti e famiglie con LHON e ADOA, con una registrazione delle condizioni associate allo svilupparsi della patologia, l'influenza di possibili modificatori genetici e ambientali, al fine di definire i fattori che determinano la variabilità della penetranza e la tessuto specificità che accomuna la LHON e la ADOA.

### **Trasferibilità dei risultati e dei prodotti**

L'approfondimento e la comprensione dei meccanismi che, a partire da una anomalia genetica nota, perturbando in vario e subdolo modo la funzionalità mitocondriale, conduce a quadri di morte neuronale selettiva, e la identificazione delle condizioni che favoriscono o accelerano tale processo patologico o viceversa lo rallentano o contrastano, hanno ricadute che vanno ben oltre il contesto di malattia specifica nel quale lo studio si compie.

I risultati di questa ricerca potranno essere facilmente traslati a malattie ben più diffuse della LHON o della ADOA, quali PD, SLA, CMT, che presentano scenari con rilevanti parallelismi sul piano dei meccanismi patogenetici, e che quindi con le prime possono condividere molti dei passaggi cruciali e delle possibili soluzioni in termini di trattamento o prevenzione.

### **Valore aggiunto dell'aggregazione tra soggetti diversi che partecipano al progetto**

Le U.O. partecipanti sono già impegnate in una collaborazione caratterizzata da complementarietà e efficienza, come di-

mostrato dalla quantità e qualità della produzione scientifica. La consolidata esperienza nella creazione e manipolazione di cibridi acquisita dalla U.O. IRCCS Medea, permette grazie alla ampia popolazione di soggetti con mutazioni LHON (monitorata presso le U.O. Neurologia Bologna e Milano), sia direttamente che grazie a collaborazione con gruppi europei, di poter disporre di un ampio numero di linee testabili dal punto di vista funzionale e biochimico, con particolare attenzione ai meccanismi di induzione e regolazione di stress ossidativo e apoptosi (U.O. Biologia Bologna), di eccitotossicità e neuroprotezione (U.O. Milano Bicocca). Il tutto strettamente controllato sul piano molecolare (U.O. Milano Policlinico), anche grazie ai risultati di analisi su microarrays effettuati presso il laboratorio collaborante del Prof. Cortopassi (UC Davies).

### **Articolazione**

Fase 1: raccolta della casistica e dei tessuti, prima sistematizzazione con analisi dettagliata delle possibili correlazioni genotipo/fenotipo (U.O. Neurologia Bologna e Policlinico Milano)

Oltre 60 gruppi familiari LHON portatori sia delle mutazioni classiche ai nucleotidi 11778/ND4, 3460/ND1, 14484/ND6 del DNA mitocondriale, che di mutazioni più rare recentemente descritte. Inoltre, sono stati diagnosticati anche alcuni gruppi familiari con ADOA portatori di specifiche mutazioni nel gene OPA1, alcune delle quali già riportate in letteratura, altre nuove. Tutti questi pazienti vengono caratterizzati clinicamente e molecolarmente, sia in termini di mutazioni patogene che di aplogruppo mitocondriale. Verrà inoltre costruito un database comune nel quale possono essere sistematicamente registrate oltre alle caratteristiche cliniche e molecolari dei pazienti, anche tutte le informazioni che possano permettere l'identificazione di parametri predittivi di peme-

tranza e espressività delle varie mutazioni patogene.

Tutti i nuovi pazienti verranno sottoposti, previo consenso informato, a prelievo biotipico cutaneo per l'isolamento di fibroblasti.

Fase 2: costruzione delle linee cellulari e la verifica del loro status funzionale di base (UO Medea, U.O. Biologia Bologna, U.O. Neurologia Milano Bicocca),

Creazione e stabilizzazione delle linee di ibridi citoplasmatici (cibridi) da osteosarcoma: Fibroblasti verranno ottenuti previo consenso informato mediante biopsia cutanea da pazienti con quadro clinico LHON o LHON-plus, portatori di mutazioni LHON non affetti, individui di controllo. Le colture, verranno direttamente utilizzate o saranno destinate ad enucleazione (King & Attardi, Meth Enzymol. 264: 304; 1996). Per la creazione di linee cibride, i citoplasti così ottenuti verranno fusi in DMSO-PEG con cellule rho<sup>o</sup>. La successiva crescita in medium selettivo permetterà l'isolamento di cloni di cibridi che verranno sottoposti ad analisi molecolare (UO Neurologia Bologna) per confermare l'identità genetica acquisita. Nel corso del mantenimento delle linee verrà periodicamente controllata l'identità molecolare e il contenuto relativo di mtDNA.

Creazione e stabilizzazione delle linee rho<sup>o</sup> neuronali: Le linee neuronali umane NT2 e SH-SY5Y verranno sottoposte a trattamento cronico con bromuro di etidio, con rodamina 123 o con altre sostanze in grado di determinare deplezione selettiva di mtDNA, con l'obiettivo di isolare cloni interamente privati di mtDNA.

Creazione e stabilizzazione delle linee di cibridi neuronali: Utilizzando NT2 o SH-SY5Y rese rho<sup>o</sup> come ospiti verranno creati, con lo stesso metodo utilizzato per la linea di osteosarcoma, cibridi neuronali con le diverse varianti di mtDNA. Non essendo qui possibile la doppia selezione

(Uridina e Br-Desossiridina), la sicurezza sulla identità nucleare dei ibridi verrà ottenuta mediante diretto controllo molecolare utilizzando polimorfismi specifici.

Determinazione dei parametri funzionali su linee sperimentali e di controllo:

Vitalità in mezzo standard e selettivo. La vitalità di fibroblasti o ibridi verrà monitorata in funzione del tempo di incubazione nel medium standard (glucosio 4.5g/l), sia in medium privo di glucosio/contenente galattosio sia nel mezzo glucosio in presenza di 1mM BSO (condizioni di stress);

Capacità di respirazione anche dopo pre-incubazione con l'inibitore del Complesso I rotenone. La respirazione cellulare verrà misurata monitorando direttamente il consumo di ossigeno in medium contenente piruvato. La medesima valutazione verrà ripetuta dopo pre-incubazione delle cellule per 4 ore in rotenone per testare la resistenza delle singole linee a questo inibitore specifico del complesso I;

I livelli di GSH e GSSG saranno misurati con il metodo enzimatico (Floreani, Free Rad Res 26: 449; 1997); l'attività della glutatione reduttasi verrà misurata con la procedura enzimatica accoppiata a glutatione reduttasi (Prohaska, J Neurochem 27: 1379, 1976), la glutatione reduttasi con il metodo di Carlberg (J Biol.Chem 150:5475; 1975), la catalasi con il metodo di Aebi (Meth Enzymol 105: 121;1984), e la SOD con il metodo di Overlay (Meth Enzymol 105: 457, 1984). I livelli cellulari di ATP verranno determinati utilizzando il metodo della luciferina-luciferasi, utilizzando il BioOrbit ATP monitoring kit.

Dinamica e distribuzione del calcio libero cellulare in linee patologiche e di controllo.

La concentrazione di calcio libero citosolico nei fibroblasti ADOA verrà valutata con la sonda fluorescente Fura-2, in

condizioni basali, mentre l'entità del deposito del reticolo endoplasmico verrà misurata dopo aggiunta di tapsigargina, inibitore delle SERCA. I livelli di calcio nei mitocondri verranno determinati dopo trasfezione dei fibroblasti con aequorina ricombinante indirizzata ai mitocondri (in collaborazione con il prof. Rosario Rizzuto, Università di Ferrara).

Efficienza dei trasportatori del glutammato nelle varie linee cellulari parentali o ripopolate con mitocondri con mtDNA mutato o di controllo. Il trasporto di glutammato sodio-dipendente ad alta affinità è stato calcolato come differenza tra le disintegrazioni per minuto (dpm), ottenute in presenza e in assenza di sodio, ed espresso come picomoli di glutammato/mg di proteine/30 minuti. La concentrazione proteica verrà determinata mediante metodo di Bradford.

Fase 3: Valutazione della morfologia del network mitocondriale e del numero medio di molecole di mtDNA/cellula nelle diverse linee testate (U.O. Biologia evolutiva Bologna e U.O. Neurologia Policlinico)

La morfologia mitocondriale verrà valutata sia nei ibridi/fibroblasti LHON che nei fibroblasti ADOA incubati in glucosio (con o senza BSO) o in galattosio, caricando le cellule con MitoTracker Red. La velocità della fusione mitocondriale verrà determinata dopo trasfezione delle cellule con una GFP fotoattivabile indirizzata ai mitocondri, in collaborazione con R.Y.Joule, Bethesda, mediante microscopia confocale, usando il software Metamorph/Metafluor (Karbowski M. et al., J. Cell Biol. 2004, 164, 493-499).

La velocità di fusione verrà determinata anche dopo trasfezione dei fibroblasti ADOA con il gene OPA1wt e con il dominante negativo del gene di Drp1 (Drp1-K38A) che impedisce il processo di fissione.

La proporzione di mtDNA per cellula sia su fibroblasti che ibridi verrà testata mediante quantitative PCR con primers specifici.

Fase 4: valutazione delle modificazioni, rispetto alle condizioni basali, a livello di difese antiossidanti e di equilibrio dei fattori pro- e anti-apoptotici indotte nel modello cellulare da condizioni di stress e di neuroprotezione. (U.O. Medea, U.O. Biologia Bologna, U.O. Neurologia Milano Bicocca).

La presenza, l'entità, e la sequenza temporale degli eventi celluloso-lesivi in linee parentali e ibride sia in condizioni basali che di stress verranno analizzate in questa fase.

Il variare del rapporto intracellulare GSH/GSSG, ritenuto un sensibile marker dell'efficienza delle difese antiossidanti della cellula verrà monitorato nelle varie condizioni con il metodo enzimatico. Analogamente verranno rilevate le proporzioni di residui di tirosina nitrosilata nei vari compartimenti cellulari. Le cellule verranno raccolte ed i mitocondri intatti verranno separati. Le proteine contenute nei mitocondri isolati e nella frazione citoplasmatica verranno separate in SDS-PAGE, trasferite su membrana in nitrocellulosa e esposte a anticorpi anti-nitrotirosina. La presenza e la quantità di residui tirosina nitrosilati verrà quantificata con un sistema di analisi di immagini.

I medesimi parametri verranno poi valutati in presenza di:

- condizioni o sostanze potenzialmente precipitanti il danno cellulare: inibitore della sintesi di GSH (BSO), esposizione a testosterone, a glutammato (per le linee NT2), crescita in galattosio, deplezione parziale di mtDNA.

- condizioni o sostanze potenzialmente in grado di garantire protezione. Tra gli altri verranno testati: glutatione, MitoQ, idebenone, memantina,

Verrà studiato se l'eventuale deficit energetico possa influenzare il tipo di morte a cui vanno incontro i ibridi/fibroblasti LHON nel mezzo galattosio.

Infatti, nonostante il significativo rilascio del citocromo c dai mitocondri, non è stata rilevata alcuna attivazione della caspasi-3. Dal momento che la morfologia nucleare dei ibridi LHON è di tipo apoptotico e si è osservato DNA laddering, è possibile che si tratti di un tipo di morte caspasi-indipendente.

Il coinvolgimento di un processo autofagico con intervento di proteasi lisosomiali tipo catepsine, verrà definito determinando se la sopravvivenza cellulare sia significativamente aumentata dalla preincubazione con inibitori specifici (pepstatina A, E-64, etc.). L'eventuale rilascio di catepsine nel citoplasma, verrà analizzato mediante immunofluorescenza.

Se invece gli inibitori delle catepsine risulteranno inefficaci, analizzeremo il possibile coinvolgimento di AIF ed Endonucleasi G, verificando il loro rilascio dai mitocondri nel citoplasma, determinando i livelli nelle frazioni citosoliche e mitocondriali isolate dai ibridi LHON incubati in galattosio, mediante immunoblotting ed immunofluorescenza.

Lo studio del trasporto di glutammato verrà effettuato a livello basale, per valutare la cinetica di trasporto a diverse concentrazioni di glutammato extracellulare, e dopo esposizione agli agenti neuroprotettivi previsti nella ricerca, per valutare l'eventuale modulazione farmacologica di questo parametro, mantenendo una concentrazione di glutammato di riferimento.

Verrà infine studiata l'espressione dei trasportatori e una loro eventuale modificazione ossidativa. Quest'ultimo punto verrà effettuato mediante immunoprecipitazione di EAAT1 e immunoblot con un anticorpo specifico contro gli addotti della 4-idrossinonenale, un noto prodotto di perossidazione lipidica. Infine i composti neuroprotettivi impiegati dalle altre unità verranno testati per verificare una eventuale modulazione del trasporto di glutammato.

#### Fase 5

Sperimentazione dell'effetto di sostanze conferenti protezione: L'effetto di sostanze e condizioni potenzialmente protettive dallo stress ossidativo e dalla morte apoptotica verrà testato nelle diverse condizioni genetiche e nei vari contesti cellulari (fibroblasti, ibridi da osteosarcoma, linee neuronali). Le cellule saranno preincubate con le diverse molecole e poi mantenute in galattosio oppure trattate con BSO per tempi definiti. La vitalità sarà determinata mediante il saggio spettrofotometrico del MTT e la morte mediante conta dei nuclei condensati, marcati con Hoechst; composti neuroprotettivi verranno testati per verificare una eventuale modulazione del trasporto di glutammato.

#### Output del programma

##### Prodotti

- Database integrato di dati clinici e molecolari relativo alla più ampia popolazione italiana con LHON o ADOA
- Collezione di linee immortali di cellule umane con mutazioni patogeniche del mtDNA caratterizzate sia sul piano molecolare che funzionale.
- Linee immortali neuronali umane deplete di mtDNA ( $\rho^0$ ), disponibili per la creazione di ibridi con diverse tipologie genetiche di mtDNA.

##### Informazioni

- Informazioni su condizioni che in situazioni di accentuata suscettibilità geneticamente determinata od acquisita possono condurre ad attivazione di danno neuronale selettivo
- Informazioni su sostanze e condizioni che possono rappresentare elementi di protezione nei confronti delle condizioni di cui sopra

#### Obiettivi intermedi previsti

- caratterizzazione funzionale delle linee da osteosarcoma con tutte le diverse mutazioni patogeniche e le varianti polimorfe più comuni
- creazione e stabilizzazione delle linee neuronali con il medesimo repertorio di varianti del mtDNA
- strutturazione del database clinico-molecolare

## RICERCHE FINALIZZATE REGIONALI

(REALIZZATE  
O IN CORSO DI REALIZZAZIONE:  
ANNI 2003-2004)  
(RAZIONALI)

- Ricerca Regionale Finalizzata n. 22/03/01 - Regione Veneto - “Criteri di selezione e valutazione di sicurezza ed efficacia della stimolazione cerebrale in pazienti distonici” - D.G.R.V. n. 3241 del 30/11/01 - Polo Scientifico di Conegliano Veneto - Responsabile: dr. Andrea Martinuzzi
- Ricerca Regionale Finalizzata n. 81/02 Regione Veneto - “Paraparesi spastica ereditaria associata ai geni SPG3 (atlastina) e SPG4 (spastina): analisi genetica e funzionale in modello animale e cellulare” - D.G.R. V. n. 3604 del 13/12/02 - Polo Scientifico di Conegliano Veneto - Responsabile: dr. Andrea Daga
- Ricerca Sanitaria Finalizzata Regione Veneto anno 2004 - “Modulazione della neurogenesi nel cervello adulto: uno studio clinico e sperimentale” - Ente Coordinatore: Azienda USSL n. 7 - Pieve di Soligo - Polo Scientifico di Conegliano Veneto - Responsabile: dr. Andrea Martinuzzi
- Ricerca Sanitaria Finalizzata Regione Veneto anno 2004 - “Continuità terapeutica e qualità percepita da utenti giovani adulti con esiti da cerebrolezione acquisita” - Ente Coordinatore: USSL n. 6 - Vicenza - Polo Scientifico di Conegliano Veneto - Responsabile: dr. Alec Vestri

**CRITERI DI SELEZIONE E VALUTAZIONE  
DI SICUREZZA ED EFFICACIA DELLA  
STIMOLAZIONE CEREBRALE IN  
PAZIENTI DISTONICI**

**Responsabile:** Andrea Martinuzzi

**Polo Scientifico:**  
Conegliano Veneto (TV)

**Collaborazioni:**  
U.O. di Neurochirurgia dell'Azienda  
Ospedaliera S. Maria della Misericordia  
di Udine

**Tipo di ricerca:**  
Ricerca Regionale Finalizzata  
n.22/03/01

**Date di inizio - fine:**  
27.12.2001-27.08.2004

**Linea di ricerca:**  
Riabilitazione Neuromotoria e  
Neuropsicologia Funzionale

**Razionale**

La ricerca coinvolge 2 U.O.: il Polo Veneto dell'IRCCS "E. Medea" e l'U.O. di Neurochirurgia dell'azienda ospedaliera S. Maria della Misericordia di Udine.

Obiettivi della ricerca sono i seguenti:

- Identificazione degli elementi predittivi di una buona riuscita dell'intervento di posizionamento di stimolatore cerebrale profondo in soggetti con distonia generalizzata
- Descrizione delle principali complicazioni rilevate nella casistica trattata dalle 2 U.O.
- Individuazione e sperimentazione di protocolli di screening pre-intervento e di follow-up post intervento.

**Risultati**

Sono stati studiati in modo dettagliato e sistematico oltre 30 pazienti di varia età affetti da distonia generalizzata giudicata sulla base dell'anamnesi e dell'osservazione clinica come primaria. Il protocollo messo a punto ha permesso una riclassificazione in almeno 4 casi, nei quali sono state individuate cause geneticomolecolari (mutazione nel gene DYT1), o anatomiche (lesioni focali dei nuclei della base) del quadro clinico.

2 soggetti (1 con apparente distonia primaria ed 1 con mutazione DYT1) sono stati sottoposti a impianto DBS, nel primo caso monolaterale, nel secondo bilaterale.

Il follow-up ha dimostrato un netto drammatico miglioramento (modifica di oltre 50% e della scala BFM per la distonia) nel caso con mutazione DYT1, ed un miglioramento solo parziale nel primo caso (modifica di 10% della scala BFM). In entrambi i casi le modificazioni si sono manifestate progressivamente nel corso dei mesi post-intervento.

Non sono state descritte complicazioni chirurgiche. Tuttavia nel caso con impianto monolaterale si è riscontrata una modificazione delle abilità linguistiche stimolazione-dipendente.

Vista l'esperienza clinica, il protocollo di follow-up ha incorporato ulteriori strumenti di indagine in ambito linguistico.

**Prodotti**

Protocollo di valutazione pre-intervento  
Protocollo di valutazione e follow-up post-intervento.

PARAPARESI SPASTICA EREDITARIA

**PARAPRESI SPASTICA EREDITARIA  
ASSOCIATA AI GENI SPG3 (ATLASTINA)  
E SPG4 (SPASTINA):  
ANALISI GENETICA E FUNZIONALE IN  
MODELLO ANIMALE E CELLULARE**

**Responsabile: Andrea Daga**

**Polo Scientifico:**

Conegliano Veneto (TV)

**Tipo di ricerca:**

Ricerca Regionale Finalizzata n.81/02  
Regione Veneto

**Date di inizio - fine:**

11.06.2003-10.06.2005

**Linea di ricerca:**

Neurobiologia

**Obiettivi del progetto**

- Creazione di modelli in *Drosophila* per le forme SPG3 e SPG4. La funzione dei geni per spastina e atlastina sarà studiata utilizzando le numerose tecniche genetiche e molecolari che la *Drosophila* offre.
- Sviluppo di modelli cellulari per lo studio di HSP in linee cellulari di mammifero (HeLa o COS), e di *Drosophila* (S2) trasfettate con i cDNA della spastina e atlastina umana e di moscerino.
- La generazione di anticorpi specifici per determinare la localizzazione endogena delle proteine e il pattern di espressione nei vari tessuti e nelle varie fasi dello sviluppo della *Drosophila*.

**Risultati**

- Clonaggio di D-atlastina e D-spastina.

I cDNA corrispondenti all'atlastina e alla spastina di *Drosophila* sono stati clonati eseguendo una RT-PCR da RNA totale purificato da teste di *Drosophila* adulta. L'analisi della sequenza ha dimostrato che entrambi i geni, denominati D-atlastina e D-spastina, mostrano una elevata omologia con le loro controparti umane

- Costruzione dei plasmidi per la sovraespressione transgenica (gain of function)

Abbiamo anche generato costrutti per l'espressione transgenica di D-atlastina e D-spastina inserendo i cDNA da noi isolati nel vettore di trasformazione pUAST, che ci consentiranno di analizzare le conseguenze della sovraespressione di queste due proteine in modo tessuto specifico sfruttando il sistema binario per l'espressione genica UAS/GAL4. Linee transgeniche di *Drosophila* sono già state ottenute per microiniezione dei costrutti descritti.

- Costruzione dei plasmidi per l'RNA interference (loss of function)

Allo scopo di ottenere mutanti loss of function, abbiamo utilizzato la tecnica dell'RNA interference inducibile per via transgenica. I costrutti adatti a questo scopo sono stati prodotti e microiniettati, e le corrispondenti linee transgeniche sono ora disponibili.

I reagenti genetici ottenuti saranno usati per studiare in maniera dettagliata i fenotipi dovuti a loss e gain of function dei geni D-atlastina e D-spastina in *Drosophila*.

**MODULAZIONE DELLA NEUROGENESI  
NEL CERVELLO ADULTO:  
UNO STUDIO CLINICO E SPERIMENTALE**

**Responsabile:** Andrea Martinuzzi

**Polo Scientifico:**  
Conegliano Veneto (TV)

**Ente Responsabile:**  
Azienda USSL n. 7 Pieve di Soligo

**Tipo di ricerca:**  
Ricerca Sanitaria Finalizzata Regione  
Veneto anno 2004

**Date di inizio - fine:** 2005-2007

**Linea di ricerca:** Neurobiologia

**Obiettivi**

Questa ricerca si propone di affrontare due quesiti di particolare rilevanza per la comprensione del ruolo della neurogenesi nella patologia umana e dei meccanismi che possono portare ad una sua modulazione:

- Quale e quanto sia il ruolo che le modificazioni del potenziale di neurogenesi del SNC hanno in condizioni cliniche caratterizzate da esiti complessi cognitivi a lungo termine,
- Quali siano i segnali molecolari in grado di promuovere o inibire la neurogenesi e quali siano le vie metaboliche attivate.

Lo studio affronterà il primo quesito utilizzando la volumetria ippocampale come indice indiretto del mantenimento del potenziale di neurogenesi di tale area, correlandolo con misure funzionali e con markers biumorali specifici, ed il secondo mediante analisi su microarrays del pattern di espressione evocato in-vitro in colture primarie da ippocampo embrionale di ratto da condizioni pro-neurogeniche o anti-neurogeniche.

In dettaglio quindi la ricerca si pone i seguenti obiettivi:

- 1) Valutare la volumetria ippocampale in soggetti con deficit cognitivi da cerebrolesione acquisita recente, e le sue modificazioni nel tempo.
- 2) Correlare i dati ottenuti in 3) con dati funzionali cognitivi e livelli sierici di BDNF;
- 3) Esplorare il pattern di espressione di cellule neuronali staminali di ratto.
- 4) Descrivere le modificazioni del pattern descritti in 1) indotte da farmaci della classe degli SSRI o da altri agenti farmacologici.

**Materiali e Metodi**

**Parte Sperimentale Clinica**

- 1) Misurazione del volume dell'ippocampo e dell'amigdala separatamente in soggetti con deficit cognitivi da cerebrolesione acquisita recente o sottoposti a radioterapia per neoplasia del SNC, e le sue modificazioni nel tempo
- 2) Valutare eventuali correlazioni tra sintomatologia cognitiva, in particolare con le funzioni cognitive supportate dall'ippocampo, sintomatologia psichiatrica soprattutto depressiva e possibili alterazioni dei volumi delle strutture suddette.
- 3) Valutare le eventuali correlazioni fra volumetria e alterazioni ormonali (cortisoloria) e dei livelli sierici di BDNF.
- 4) Fornire un potenziale strumento di monitoraggio e di indice di risposta all'eventuale trattamento della terapia antidepressiva.

Verranno inclusi pazienti con cerebrolesione acquisita o sottoposti a trattamento con irradiazione per neoplasia cerebrale (entrambi non occorsi prima di 30gg) reclutati presso il Dipartimento di Neuroscienze e presso l'URNA di Pieve di Soligo.

*Criteria di inclusione:*

Soggetti

- 1) di entrambi i sessi
- 2) di età compresa tra i 14 e i 50 anni
- 3) con diagnosi di TBI moderato o grave senza lesioni dirette alle strutture temporali (almeno 12 soggetti)
- 4) sottoposti a ciclo di radioterapia craniospinale per tumori del SNC (almeno 12 soggetti)



*Criteria di esclusione:*

## Soggetti

- 1) di età inferiore a 14 e superiore a 50 anni
- 2) Affetti da abuso e/o dipendenza da alcol e altre sostanze
- 3) terapia in atto con farmaci SSRI
- 4) Affetti da depressione ricorrente, PTSD, distimia, disturbo bipolare, disturbo d'ansia, schizofrenia, disturbo schizoaffective
- 5) Portatori delle seguenti patologie internistiche:
- 6) Patologie epatiche
- 7) Patologie cardiovascolari
- 8) Patologie metaboliche
- 9) Patologie endocrine
- 10) Patologie renali
- 11) Patologie ematologiche
- 12) Turbe emocoagulative (leucosi, trombocitosi, porpora trombotica trombocitopenica)
- 13) Patologie neurologiche (demenza, epilessia, Parkinson, stroke)
- 14) Malattie infiammatorie croniche intestinali
- 15) Donne in gravidanza o che allattano
- 16) Criteri di esclusione per l'esecuzione della RMN: claustrofobia, portatori di pace-maker o di protesi ferromagnetiche e del cristallino

**Test di laboratorio**

Verranno effettuati prelievi ematici per la valutazione di: cortisolemia, ACTH, TSH, FT<sub>4</sub>, e BDNF

Verrà effettuata raccolta delle urine nelle 24 h per 2 giorni per la misurazione della cortisolemia delle 24 h.

**Test psicometrici**

- 1) Test per la valutazione neuropsicologica delle funzioni ippocampali: Test di span di cifre, test di memoria di prosa, test di apprendimento di coppie di parole, test di apprendimento di 10 parole; e di funzioni frontali (FABIT= Frontal Assessment Battery)
- 2) M.I.N.I. Mini International Neuropsychiatric Interview (Sheehan and Lecrubier, 1994)
- 3) Scala di Hamilton per la Depressione (HDRS): è una scala che registra e misura la presenza e l'intensità di specifici sintomi depressivi. Comprende 17 items che devono essere compilati dall'intervistatore sulla base della propria esperienza clinica e delle condizioni del paziente al momento del colloquio. I punteggi di cut-off sono stati fissati, sulla base di numerosi riscontri clinici, sui seguenti valori: 0-7: assenza di depressione; 8-15: depressione minore;  $\geq 16$ : depressione maggiore. La scala è stata ampiamente validata e correla con le principali scale utilizzate per la misurazione dell'intensità dei sintomi depressivi (Hamilton M.A., 1980).
- 4) Beck Depression Inventory (BDI). La Beck Depression Inventory è una scala di autovalutazione per la misurazione dell'intensità dei sintomi depressivi. È costituita da 21 items, ciascuno graduato secondo una scala di quattro livelli di intensità crescente (da 0 a 3). Il punteggio totale può essere compreso tra 0 e 63. È stata utilizzata in numerosi studi psichiatrici ed ha una validità empirica, non diagnostica. È sensibile alle variazioni di intensità dei vissuti depressivi e si è mostrata affidabile in studi test-retest, così come nella valutazione di gruppi diagnostici differenti (Beck, Beamesderfer 1974). I punteggi di cut-off per i diversi livelli di gravità sono arbitrariamente definiti come segue: 0-12: normale; 13-

20: depressione lieve; 21-30: moderata; 30: severa. Valori al di sopra di 16 sono considerati in molti studi, indicativi di un disturbo depressivo in atto.

- 5) Scala di Hamilton per l' Ansia (HAS). Comprende 14 items, alcuni dei quali si riferiscono a segni clinici che l'intervistatore deve rilevare durante il colloquio (la cui durata non deve superare i 30 minuti)
- 6) State-Trait Anxiety Inventory (STAI). Comprende due scale di autovalutazione (STAI Y1 e Y2) che misurano l'ansia di stato e l'ansia di tratto. Ciascuna scala è costituita da 20 items. L'ansia di stato rappresenta l'ansia espressa dal paziente in quel preciso momento ed è sensibile agli eventi maggiori o minori della vita.

**Acquisizioni delle immagini ed Analisi**

Le immagini verranno ottenute mediante l'uso dell'apparecchiatura di Risonanza Magnetica Nucleare ad 1 Tesla (Picker-Marconi, Polaris 1.0T) dell'Unità Operativa di Neuroradiologia dell'Azienda Ospedaliera di Padova. Per tutti i pazienti verrà eseguito uno studio standard cerebrale senza mdc con sequenze T1 assiali e sagittali, DP/T2 e FLAIR assiali e coronali T2, che comprendono l'area che va dal forame occipitale al vertice e dal piano frontale fino a quello occipitale e regione temporale bilaterale. Per lo studio volumetrico verrà effettuata una sequenza T1 pesata 3D volumetrica, ottenendo 108 sezioni sagittali da 1,0 mm, con TE di 4,5 msec, TR di 25 msec e con matrice 192x256. Con tale sequenza otteniamo una acquisizione del volume parenchimale secondo piani sagittali che potranno essere ricostruiti con ottima definizione secondo piani assiali e coronali. L'uso di tale tecnica T1 pesata consente una buona definizione anatomica ed una significativa differenziazione tra la corteccia e la sostanza bianca.

L'esame volumetrico acquisito verrà trasferito alla work-station per la rielaborazione delle immagini, la delimitazione delle regioni d'interesse (ROI) ed i successivi calcoli volumetrici mediante l'applicazione

del software DCMSuite, un prodotto in grado di visualizzare, elaborare, archiviare, inviare, stampare e refertare immagini digitali provenienti da sistemi che aderiscono allo standard DICOM 3.

DCMSuite, sviluppato da Studio Synthesis S.A: si compone di vari moduli, di cui cinque sono quelli principali:

|            |  |
|------------|--|
| DCMService | Storage Service Class Provider (SCP)<br>Query/Retrieve SCP<br>Multi threaded<br>Livelli di protezione configurabili<br>Porte multiple d'ascolto  |
| DCMMonit   | Monitoraggio in tempo reale delle connessioni al DCMService  |
| DCMQuery   | Query/Retrieve SCU, per interrogare il nodo DICOM locale o nodi remoti<br>Storage Service SCU per spedire le immagini<br>Import di serie DICOM da directory  |
| DCMView    | Visualizzazione di serie multiple<br>Ottimizzazione della LUT<br>Zoom dell'immagine<br>Flip dell'immagine<br>Setup del livello di grigio<br>Disegno di regioni di interesse (ROI) in modo manuale e semiautomatico/interattivo<br>Analisi delle immagini di tipo qualitativo e quantitativo<br>Riformattazione delle serie secondo gli assi principali<br>Esportazione dei dati elaborati in formato ACII<br>Export di volumi in vari formati ANALYZE, VOX e Pinnacle, eventualmente mediante FTP<br>Export di immagini DICOM in vari formati immagine standard (TIFF, JPEG, PCX GIF, BMP)<br>Conversione in formato DICOM di immagini TIFF o RAW<br>Importazione in formato DICOM di immagini acquisite con scanner CR o provenienti da acquisizioni con driver TWAIN<br>Esportazione dei dati elaborati in formato ASCII |

**CONTINUITÀ TERAPEUTICA E QUALITÀ PERCEPITA DA UTENTI GIOVANI ADULTI CON ESITI DA CEREBROLESIONE ACQUISITA**

**Responsabile:** Alec Vestri

**Polo Scientifico:**  
Conegliano Veneto (TV)

**Ente Coordinatore:**  
USSL n. 6 - Vicenza

**Tipo di ricerca:**  
Ricerca Sanitaria Finalizzata Regione Veneto anno 2004

**Date di inizio - fine:** 2005-2007

**Linea di ricerca:**  
Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

Valutazione della qualità percepita da pazienti che transitano nei diversi servizi di riabilitazione ospedaliera fino alla proposta di inserimento sociale, familiare, lavorativo - Ricerca, applicazione e validazione di uno strumento di valutazione.

**Obiettivi**

1. Tradurre, adattare e rendere utilizzabile uno strumento di misura della qualità percepita dei servizi nell'area specifica delle cerebrolesioni acquisite.
2. Individuare gli indicatori di qualità dei servizi.
3. Valutare la qualità percepita da utenti e familiari nelle diverse fasi della riabilitazione: acuta, post-acuta precoce, post-acuta tardiva, esiti. Ciò all'interno di due province venete che vedono presenti nel proprio territorio di pertinenza sia unità ospedaliere specializzate nella riabilitazione di cerebrolesioni quali Unità per la Riabilitazione delle Turbe Neuropsicologiche Acquisite - Pieve di Soligo, Treviso, Unità Gravi Cerebrolesioni - Vicenza e l'unità di riabilitazione funzionale dell'ULSS 7 di Pieve di Soligo ospedale civile di Vittorio Veneto che servizi territoriali preposti all'inserimento sociale, familiare e lavorativo anche di persone con esiti da cerebrolesioni
4. Rappresentare il livello di soddisfazione dell'utente in riferimento a:
  - accessibilità
  - equità d'accesso
  - accoglienza
  - sicurezza/fiducia
  - organizzazione
  - economicità
  - comprensione dei processi di cura e riabilitazione
  - informazione
  - adeguatezza della prestazione
  - continuità del servizio di cura e riabilitazione offerto
  - umanizzazione del servizio
  - comunicabilità

5. Individuare le criticità in riferimento alla qualità percepita.
6. Individuare le strategie più efficaci nella rilevazione continua della qualità percepita dei servizi e conseguente definizione dei costi di gestione del processo di rilevazione della qualità percepita dall'utente

**Materiali e Metodi**

**Strumenti**

Questionario PQRS-Montreal 1.0 adattato.  
Pacchetto statistico SPSS  
PC portatile per archiviazione e analisi dati

Procedure

**Fase 1.**

1. Studio dei processi esistenti di valutazione della qualità percepita dagli utenti, nelle seguenti Unità Operative: UGC, Unità di Medicina Fisica e Riabilitazione, URNA - e strutture extra ospedaliere - SILD, SHA - delle ULSS 6 e 7 che partecipano alla ricerca.
2. Analisi dei parametri di trasferibilità e di trasferimento del paziente tra le unità e i servizi territoriali.
3. Studio e applicazione degli indicatori e dei parametri di valutazione per la qualità erogata da servizi di riabilitazione acuta e post-acuta delle cerebrolesioni nelle diverse fasi del percorso
4. Analisi dei sistemi di controllo continuo della qualità percepita:
  - Questionari e scale
  - Interviste telefoniche
  - Interviste individuali
  - Focus group
  - Ufficio relazioni con il pubblico
  - Incontri, seminari e psicoeducazione
5. Analisi dei costi di gestione per la rilevazione da parte di un'azienda sanitaria locale della qualità percepita da utenti giovani adulti con cerebrolesione acquisita in tutto il suo iter terapeutico nel passaggio tra i vari servizi ospedalieri e territoriali.

**Fase 2.**

6. Adattamento del questionario di rilevazione dati per le diverse unità operative
7. Procedura di rilevazione:
  - Analisi retrospettiva mediante gli indicatori controllabili
  - Somministrazione del questionario da parte di personale estraneo alla specifica struttura di cui si valuta la qualità percepita, in ambiente fisico estraneo alle strutture sanitarie.
  - Inizio del periodo di 18 mesi di raccolta dati dei pazienti in carico ai servizi
  - Somministrazione del questionario da parte di personale estraneo alla specifica struttura di cui si valuta la qualità percepita, in ambiente fisico estraneo alle strutture sanitarie.

**Fase 3.**

8. Statistiche descrittive ed inferenziali del database costituito.
9. Analisi approfondita delle criticità che distinguono qualità percepita e qualità erogata.

**Modalità e tempi di esecuzione****Fase 1 - 3 mesi**

*Studio preliminare e analisi delle procedure critiche per la rilevazione della qualità percepita*

Lo studio viene eseguito dai referenti scientifici di ogni struttura che partecipa, coordinati dal responsabile scientifico della ricerca (IRCCS "E. Medea").

**Fase 2 - 18 mesi**

*Raccolta dei dati*

Operatori incaricati dal gruppo di ricerca, mediante utilizzo degli strumenti adattati.

**Fase 3 - 3 mesi**

*Analisi critica dei dati.*

A carico del responsabile scientifico della ricerca (IRCCS "E. Medea") e dei partner del progetto.

**Risultati prevedibili e possibili ricadute per il Servizio Sanitario Regionale**

Determinazione delle procedure più efficaci di rilevazione continua della percezione di qualità dei servizi nell'ambito delle cerebrolesioni acquisite.

1. Descrizione dei livelli di qualità percepita dagli utenti.
2. Proposta di linee guida alla Regione per il miglioramento della qualità erogata dai servizi.
3. Proposta di indicazioni da fornire ai dirigenti e agli operatori dei servizi.
4. Elaborazione di una carta dei servizi in grado di fornire agli utenti le informazioni sulla rete dei servizi nella sua globalità.
5. Evento divulgativo dei risultati agli addetti ai lavori e alla popolazione (educational program)

## RICERCHE TELETHON

(REALIZZATE  
O IN CORSO DI REALIZZAZIONE:  
ANNI 2003-2004  
(RAZIONALI)

- Pilot study of ACE inhibitor in McArdle's Disease - Polo Scientifico di Conegliano Veneto - Responsabile: dr. Andrea Martinuzzi
- Leber's Hereditary Optic Neuropathy: Systematic Investigation of Energy Depletion and Oxidative Stress and their Relevance to Cell Death, Using Cybrid Cell Lines with 11778, 3460, 14484 and 14459 Mutant Mitochondria" - classificato con n° GGP02323 - Polo Scientifico di Conegliano Veneto - Responsabile: dr. Andrea Martinuzzi
- Molecular and functional analysis of the drosophila homolog of human apoptosis inducing factor (aif)- Polo Scientifico di Conegliano Veneto - Responsabile: dr. Andrea Daga
- Language and reading in Duchenne Muscular Dystrophy: neuropsychological evaluation- Polo Scientifico di Bosisio Parini - Responsabile: dr.ssa Anna Carla Turconi

**PILOT STUDY OF ACE INHIBITOR  
IN MCARDLE'S DISEASE****Responsabile:** Andrea Martinuzzi**Polo Scientifico:**

Conegliano Veneto (TV)

**Collaborazioni:**Dipartimento di Medicina Clinica e  
Biotecnologia Applicata, Università di  
Bologna**Tipo di ricerca:** Telethon**Date inizio - fine:**

25.03.2004-25.03.2005

**Linea di ricerca:** Neurobiologia**Premesse**

Il progetto trae origine dall'osservazione (1) che un polimorfismo inserzione/delezione nel gene per l'enzima convertente l'angiotensina (ACE) associato a minore attività ACE è prevalente in pazienti che presentano forme cliniche più lievi della miopatia da difetto di miofosforilasi (miopatia di McArdle). Lo stesso polimorfismo è anche più frequente in atleti che eccellono in specialità sportive caratterizzate dalla resistenza e in reclute che presentano una migliore risposta all'allenamento alla resistenza (2,3).

L'ipotesi è che riducendo artificialmente l'attività ACE con un inibitore come il Ramipril, un farmaco comunemente usato per trattare l'ipertensione e la insufficienza cardiaca congestizia, si possa riprodurre la condizione di quei pazienti con il fenotipo più lieve di malattia, e si possa determinare una attenuazione dei sintomi della malattia quali intolleranza all'esercizio, mioglobinuria indotta dallo sforzo e debolezza muscolare fissa. Tale ipotesi è ulteriormente sostenuta da studi che hanno dimostrato in pazienti in trattamento con Ramipril per problemi cardiovascolari un aumento della forza e della resistenza all'esercizio (4).

**Disegno dello studio**

Il disegno scelto è un doppio cieco randomizzato controllato contro placebo "n of one", con due braccia nelle quali ogni partecipante sia alternativamente esposto al farmaco o al placebo.

I partecipanti sono pazienti di entrambi i sessi e di età tra i 18 e i 55 anni con diagnosi di miopatia di McArdle stabilita biochimicamente e/o molecolarmente. Data la natura di studio pilota l'obiettivo di reclutamento è stato fissato a 8 soggetti. Obiettivi primari sono: i) modificazioni significative della VO<sub>2</sub>max misurata durante prova da sforzo incrementale su ciclo ergometro; ii) modificazioni significative del metabolismo dell'ATP a riposo e dopo sforzo misurato mediante spettroscopia NMR muscolare.

Obiettivi secondari sono: modificazioni della qualità di vita percepita dai pazienti rilevata mediante SF36 o WHO-DAS II.

Una visita medica ed esami ematici sono previsti per ogni soggetto dopo un mese dall'inizio del trattamento per rilevare eventuali effetti indesiderati.

Lo studio è stato approvato dal comitato d'etica delle rispettive Istituzioni e registrato nell'anagrafe ministeriale degli studi clinici. Sia il farmaco che il placebo, in forma non riconoscibile, sono stati gentilmente offerti dalla ditta produttrice (Aventis Pharma).

**Risultati**

Il reclutamento è iniziato il 9 Luglio 2004 ed ha finora arruolato 6 soggetti (4 maschi e 2 femmine, età media 37.33±9.3), che sono stati casualmente assegnati a trattamento con placebo o farmaco attivo. In questo gruppo vi sono due coppie di fratelli discordanti sia per genotipo ACE che per severità clinica. Tutti i soggetti hanno completato il previsto protocollo di valutazione, e nessuno ha lamentato o presentato segni di effetti indesiderati.

**Conclusioni e prospettive**

Prevediamo di completare l'arruolamento nei prossimi 2 mesi, ed i risultati in termini di efficacia saranno disponibili entro la fine dell'anno. Si può già rilevare come in tutti i soggetti finora arruolati il trattamento sia stato ben tollerato, senza alcuno degli effetti indesiderati comunemente associati al trattamento con ACE inibitori.

**Bibliografia**

- 1) Martinuzzi A et al. Ann.Neurol. 2003
- 2) Montgomery H et al. Lancet 1999; 353: 541
- 3) Williams AG et al. Nature 2000; 403:614
- 4) Onder G et al. Lancet 2002; 359: 926

**LEBER'S HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY: SYSTEMATIC INVESTIGATION OF ENERGY DEPLETION AND OXIDATIVE STRESS AND THEIR RELEVANCE TO CELL DEATH, USING CYBRID CELL LINES WITH 11778, 3460, 14484 AND 14459 MUTANT MITOCHONDRIA**

**Responsabile:** Andrea Martinuzzi

**Polo Scientifico:**  
Conegliano Veneto (TV)

**Ente capofila:**  
Istituto di Neurologia dell'Università di Bologna

**Collaborazioni:**  
Dipartimento di Biologia Evoluzionistica dell'Università di Bologna, Dipartimento di Biochimica dell'Università di Bologna

**Tipo di ricerca:** Ricerca Telethon

**Date di inizio - fine:**  
01.01.2003-31.12.2004

**Linea di ricerca:** Neurobiologia

Il progetto coinvolge 4 U.O.: L'Istituto di Neurologia dall'Università di Bologna, il Dipartimento di Biologia Evoluzionistica dell'Università di Bologna, il Dipartimento di Biochimica dell'Università di Bologna, e il Polo Veneto dell'IRCCS "E. Medea".

**Obiettivi**

- caratterizzare il quadro fenotipico funzionale di ibridi cellulari (cibridi) contenenti le principali mutazioni patologiche per la neuropatia ereditaria ottica di Leber (LHON),
- definire il ruolo dello stress ossidativo nella patogenesi cellulare della LHON,
- caratterizzare la modalità di morte cellulare osservata in cellule LHON sottoposte a stress.

**Risultati**

- Cibridi LHON presentano una riduzione della capacità respiratoria totale senza una alterazione evidente della attività del complesso I della catena respiratoria nelle mutazioni 11778/ND5 e 14484/ND6.
- Nelle stesse linee si riscontra una elevata produzione di specie reattive dell'ossigeno ed una modificazione delle difese antiossidanti,
- Esposte a stress le cellule contenenti mutazioni LHON vanno incontro a rapida attivazione della cascata apoptotica che tuttavia sembra essere caspasi indipendente,
- L'attivazione di apoptosi coincide con una marcata riduzione della sintesi di ATP nelle cellule mutate.

**Prodotti**

Severe Defect of Complex I-Dependent ATP Synthesis Shapes the Mitochondria-Driven Path of Apoptotic Cell Death in Lebers Hereditary Optic Neuropathy (LHON).

Valerio Carelli, Bologna Italy, Anna Ghelli, Bologna Italy, Alessandra Baracca, Bologna Italy and Andrea Martinuzzi, Conegliano, TV, Italy. (2004) Neurology, submitted.

**MOLECULAR AND FUNCTIONAL  
ANALYSIS OF THE DROSOPHILA  
HOMOLOG OF HUMAN APOPTOSIS  
INDUCING FACTOR (AIF)**

**Responsabile:** Andrea Daga

**Polo Scientifico:**  
Conegliano Veneto (TV)

**Tipo di ricerca:** Ricerca Telethon

**Date di inizio - fine:**  
24.04.2001-24.04.2003

**Linea di ricerca:** Neurobiologia

**Obiettivi e risultati**

Lo scopo di questo progetto é stato lo studio della funzione di AIF (Apoptosis Inducing Factor) in *Drosophila*. Il nostro interesse in questa proteina era dovuto al suo possibile ruolo nell'apoptosi non mediata da caspasi, ovvero una via alternativa di morte cellulare. Poiché i fenomeni apoptotici hanno grande importanza nelle malattie neurodegenerative, si voleva capire quanto la neurodegenerazione cosiddetta caspasi indipendente potesse essere cruciale nell'insorgenza di queste patologie usando la *Drosophila* come modello per capire il normale ruolo fisiologico di AIF.

A questo fine, abbiamo generato numerosi mutanti per il gene AIF di *Drosophila*. Grazie al metodo della RNA interference abbiamo eliminato l'espressione del gene, abbiamo sovraespresso la proteina AIF per via transgenica nella sua forma normale e deleta. Sulla base di dati ottenuti nei mammiferi quest'ultima, che manca della sequenza di localizzazione mitocondriale, dovrebbe essere un induttore dell'apoptosi ancor più forte di AIF normale.

Poiché AIF é ritenuto un attivatore dell'apoptosi, ci saremmo aspettati che la sua assenza causasse una diminuzione e la sua sovraespressione un aumento del normale livello di apoptosi osservato nello sviluppo di *Drosophila*.

L'eliminazione della proteina in *drosophila* causa un fenotipo letale a livello embrionale molto precoce. Tuttavia, i nostri dati hanno dimostrato che questa letalità non é in alcun modo correlata ad una diminuzione della morte cellulare embrionale. Allo stesso modo, la sovraespressione di AIF pur risultando letale non modifica in nessun modo la normale apoptosi che avviene nell'embrione. Quindi possiamo dire che in *Drosophila* non sembra che AIF sia in alcun modo un induttore di morte cellulare, ma abbia una funzione diversa, non correlata a fenomeni apoptotici.



**LANGUAGE AND READING DISORDERS  
IN DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY:  
NEUROPSYCHOLOGICAL EVALUATION**

**Responsabile:** Anna Carla Turconi

**Polo Scientifico:** Bosisio Parini (LC)

**Tipo di ricerca:**

Ricerca Telethon UILDM Grant number  
GUP04001

**Date di inizio - fine:**

gennaio 2005 gennaio 2007

**Linea di ricerca:**

Riabilitazione Neuromotoria e  
Neuropsicologia Funzionale

Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) is a fatal recessive x-linked muscular disease caused by the absence of dystrophin. Dystrophin isoforms are also expressed in the cerebral neocortex and in the cerebellum. Cognitive impairment is described in 1/3 of DMD patients, particularly in patients carrying deletions in the distal part of the gene.

Difficulties in verbal skills and reading abilities are more frequently described in English speaking patients. These observations suggest that in some cases dystrophinopathy may be associated to language disorders.

**Aims** of the study are: 1) to describe the language and reading ability in a group of Italian DMD children, 2) to clarify the nature of the language and reading deficits

**Methods:** We will recruit 40 children affected by Duchenne Muscular Dystrophy, 20 children with Spinal Muscular Atrophy and 20 children with Osteogenesis Imperfecta.

Language and Reading abilities are analysed through specific battery for language and reading. To exclude additional cognitive deficits attention/executive functions domain and memory and learning domain thought a Developmental Neuropsychological Assessment will be evaluated.

**Preliminary Results:** the majority of our patients showed difficulties in receptive language. Reading difficulties were found for some of the patients: for half of them, these difficulties were specific (not correlated with intellectual level). A dissociation between the auditory (good) and visual (impaired) modalities, both in attention and in memory tasks was found.

**Conclusion:** These preliminary results suggest that language attention and memory deficits are present in Duchenne children. More detailed studies (are the proposed one) are mandatory to clarify first of all the cognitive deficit then the possible correlation with the dystrophin gene. An early identification of the language and eventually attention/memory difficulties, would be important to support DMD children in their learning course.

## ALTRE RICERCHE (SOLO TITOLI)

- Regione Lombardia - Progetto FSE n. 158691 - Dispositivo Multimisura Azioni di Sistema - bando 2002 - "Progetto Dis...Abilità" - Ente Responsabile: Politecnico di Milano - Partner del Progetto: - Polo Scientifico di Bosisio Parini - Responsabile di U.O. - dott.ssa Anna Carla Turconi
  - Regione Lombardia - Programma finalizzato al completamento del rilancio delle attività consultoriali in Lombardia (DGR 1 marzo 2000 n° 6/48846) Convenzione con ASL di Lecco nell'ambito del - "Progetto sperimentale di attività consultoriali a sostegno di ragazzi con esiti da traumi cranio-encefalici e delle loro famiglie" - "La presa in carico dei familiari di pazienti post-traumatici: progetto per un sostegno psicologico integrato" - Polo Scientifico di Bosisio Parini - Responsabile: dr. Enrico Castelli
  - Progetto Regione Veneto: L.34/96 "Promozione dell'integrazione dei servizi consultoriali con le altre componenti del Dipartimento materno infantile territoriale ospedaliero e del distretto, nella gestione degli esiti delle lesioni accidentali gravi, con particolare riferimento agli esiti dei gravi traumi cranio-encefalici e dei deficit anossici" - Polo Scientifico di Conegliano Veneto - Responsabile: dr. Andrea Martinuzzi
  - Standardizzazione delle Conners Rating Scales - Polo Scientifico di Bosisio Parini - Responsabile dr.ssa Maria Nobile
  - INTEGRAUTISMO - Un modello per promuovere la qualità dell'inserimento scolastico di bambini e adolescenti con autismo - Polo Scientifico di Bosisio Parini - Responsabile: Molteni Massimo
  - ADHD: disturbo da deficit dell'attenzione ed iperattività): impatto sociale ed economico della malattia (BAD) Ricerca osservazionale retrospettiva per valutare l'impatto sociale ed economico dell'ADHD in Italia - Polo Scientifico di Bosisio Parini - Responsabile: Molteni Massimo
  - Studio osservazionale sul Disturbo da Deficit dell'Attenzione e Iperattività in Europa ADORE - Polo Scientifico di Bosisio Parini - Responsabile: Molteni Massimo
  - Studio su alcuni possibili precursori dei disturbi del comportamento alimentare in adolescenza - Polo Scientifico di Bosisio Parini - Responsabile: dr. Gianluigi Mansi
  - Plasticità corticale e recupero funzionale nell'afasia - Coordinatore: Dipartimento di Psicologia Generale - Università di Padova - Polo Scientifico di Conegliano Veneto Responsabile dr. Alec Vestri
  - Ottimizzazione del trattamento medico e chirurgico in pazienti distonici: criteri di selezione dei pazienti e valutazione di efficacia delle attuali opzioni terapeutiche - Polo Scientifico di Conegliano Veneto - Responsabile dr. Andrea Martinuzzi
  - Pilot study on neurocognitive rehabilitation in long term survivors of childhood brain tumours - Ente Capofila: Università degli Studi di Padova - Polo Scientifico di Conegliano Veneto - Responsabile dr. Andrea Martinuzzi
- Ricerche/progetti VI Programma Quadro dell'Unione Europea**
- European Network for Research on Alternating Hemiplegia in Childhood for Promoting SMEs integration - ENRAH for SMEs - Responsabile del progetto: Dr. Claudio Zucca
  - Thought in action - TACT - Responsabile del progetto: Dr. Massimo Molteni
  - A new diagnostic Fingersprint of genetic, Neural and behavioural markers of Dyslexia - FiND - Responsabile del progetto: Dr.ssa Maria Luisa Lorusso

**ALTRE RICERCHE**

Di seguito vengono elencati i progetti di ricerca realizzati o in corso di realizzazione negli anni 2003-2004 che sono direttamente finanziati dall'Istituto con il concorso di enti pubblici o privati:

**Progetto Dis... Abilità**

Regione Lombardia - Progetto FSE n. 158691 Dispositivo Multimisura Azioni di Sistema bando 2002 - Ente Responsabile: Politecnico di Milano

*Responsabile di U.O.:*  
dr.ssa Anna Carla Turconi

*Partner del Progetto:*  
Polo Scientifico di Bosisio Parini

*Date di inizio - fine:*  
30.09.2003-31.07.2004

*Linea di ricerca:*  
Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

**La presa in carico dei familiari di pazienti post-traumatici: progetto per un sostegno psicologico integrato**

Regione Lombardia - Programma finalizzato al completamento del rilancio delle attività consultoriali in Lombardia (DGR 1 marzo 2000 n° 6/48846) Convenzione con ASL di Lecco nell'ambito del "Progetto sperimentale di attività consultoriali a sostegno di ragazzi con esiti da traumi cranio-encefalici e delle loro famiglie"

*Responsabile:* dr. Enrico Castelli

*Polo Scientifico* di Bosisio Parini

*Date di inizio - fine:*  
01.01.2003-31.12.2003

*Linea di ricerca:*  
Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

**Promozione dell'integrazione dei servizi consultoriali con le altre componenti del Dipartimento materno infantile territoriale ospedaliero e del distretto, nella gestione degli esiti delle lesioni accidentali gravi, con particolare riferimento agli esiti dei gravi traumi cranio-encefalici e dei deficit atossici**

*Responsabile:* dr. Andrea Martinuzzi

*Polo Scientifico* di Conegliano Veneto

*Progetto Regione Veneto:* L.34/96

*Collaborazioni:*  
USSLL della Regione Veneto

*Date di inizio - fine:*  
31.10.2002-30.06.2004

*Linea di ricerca:*  
Organizzazione Servizi Sanitari

**Standardizzazione delle Conners Rating Scales-Revised**

*Responsabile:* Maria Nobile

*Polo Scientifico:* Bosisio Parini (LC)

*Ente Capofila:*  
Università degli Studi di Cagliari  
Facoltà di Medicina

*Collaborazioni:*  
Università degli Studi di Bari Facoltà di Medicina

*Date di inizio - fine:*  
15.01.2004-15.01.2005

*Linea di ricerca:*  
Psicopatologia dello Sviluppo, del Linguaggio e dell'Apprendimento

**INTEGRAUTISMO - Un modello per promuovere la qualità dell'inserimento scolastico di bambini e adolescenti con Autismo**

*Responsabile:* Massimo Molteni

*Polo Scientifico:* Bosisio Parini (LC)

*Collaborazioni:*

Autismo Italia, Fondazione Fabietti

*Tipo di ricerca:*

Progetto Associazione Autismo Italia - Onlus

*Date di inizio - fine:*

15.01.2002-30.01.2004

*Linea di ricerca:*

Psicopatologia dello Sviluppo, del Linguaggio e dell'Apprendimento

**ADHD: disturbo da deficit dell'attenzione ed iperattività): impatto sociale ed economico della malattia (BAD) Ricerca osservazionale retrospettiva per valutare l'impatto sociale ed economico dell'ADHD in Italia**

*Responsabile:* Massimo Molteni

*Polo Scientifico:* Bosisio Parini (LC)

*Tipo di ricerca:*

Progetto finanziato dalla Società Eli Lilly Italia

*Date inizio - fine:*

17.05.2004-31.12.2004

*Linea di ricerca:*

Psicopatologia dello Sviluppo, del Linguaggio e dell'Apprendimento

**Studio osservazionale sul Disturbo da Deficit dell'Attenzione e Iperattività in Europa - ADORE**

*Responsabile:* Massimo Molteni

*Polo Scientifico:* Bosisio Parini (LC)

*Tipo di ricerca:*

Progetto finanziato dalla Società Eli Lilly Italia

*Date di inizio - fine:*

02.09.2003-02.09.2005

*Linea di ricerca:*

Psicopatologia dello Sviluppo, del Linguaggio e dell'Apprendimento

### **Studio su alcuni possibili precursori dei disturbi del comportamento alimentare in adolescenza**

*Responsabile:* Gianluigi Mansi

*Polo Scientifico:* Bosisio Parini (LC)

*Tipo di ricerca:*

Progetto finanziato da Fondazione Bianca Maria Corno

*Date inizio - fine:*

15.09.2003-15.09.2005

*Linea di ricerca:*

Psicopatologia dello Sviluppo, del Linguaggio e dell'Apprendimento

### **Plasticità corticale e recupero funzionale nell'afasia**

*Responsabile:* Vestri Alec

*Polo Scientifico:* Conegliano Veneto

*Tipo di ricerca:*

Progetto autofinanziato dall'IRCCS "E. Medea"

*Coordinatore:*

Dipartimento di Psicologia Generale  
Università di Padova

*Date di inizio - fine:*

15.03.2004-14.03.2005

*Linea di ricerca:*

Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

### **Ottimizzazione del trattamento medico e chirurgico in pazienti distonici: criteri di selezione dei pazienti e valutazione di efficacia delle attuali opzioni terapeutiche**

*Responsabile:* Andrea Martinuzzi

*Polo Scientifico:*

Conegliano Veneto (TV)

*Tipo di ricerca:*

Progetto finanziato da Ditta Medtronic

*Date di inizio - fine:*

28.03.2002-31.12.2002

*Linea di ricerca:* Neurobiologia

### **Pilot study on neurocognitive rehabilitation in long term survivors of childhood brain tumours**

*Responsabile:* Andrea Martinuzzi

*Polo Scientifico:*

Conegliano Veneto (TV)

*Ente Capofila:* Università di Padova

*Tipo di ricerca:*

Progetto finanziato da Fondazione "Città della Speranza" Onlus Malo (VI)

*Date inizio - fine:*

01.10.2004-30.09.2007

*Linea di ricerca:*

Riabilitazione Neuromotoria e Neuropsicologia Funzionale

### **Ricerche/progetti VI Programma Quadro dell'Unione Europea**

European Network for Research on Alternating Hemiplegia in Childhood for Promoting SMEs integration - ENRAH for SMEs - Responsabile del progetto: Dr. Claudio Zucca

Thought in action TACT - Responsabile del progetto: Dr. Massimo Molteni

A new diagnostic Fingersprint of genetic, Neural and behavioural markers of Dyslexia FiND - Responsabile del progetto: Dr.ssa Maria Luisa Lorusso

## PUBBLICAZIONI ANNO 2003

### Articoli pubblicati su riviste recensite

Ascenzi Paolo, Clementi Emilio, Polticelli Fabio (2003); THE RHODOCOCCUS SP. COCAINE ESTERASE: A BACTERIAL CANDIDATE FOR NOVEL PHARMACOKINETIC-BASED THERAPIES FOR COCAINE ABUSE; *IUBMB Life*, 55,7:397-402

Battisti C., Bonaglia Maria Clara, Giglio Sabrina, Anichini A., Pucci L., Dotti M.T., Zuffardi Orsetta, Federico A. (2003); DE NOVO DOUBLE TRANSLOCATION 3;13 AND 4;8;18 IN A PATIENT WITH MENTAL RETARDATION AND SKELETAL ABNORMALITIES; *American Journal of Medical Genetics*, 117A,3:207-211

Begni Barbara, Brighina Laura, Fumagalli Lorenzo, Androni Simona, Castelli Enrico, Francescani Claudia, Del Bo Roberto, Bresolin Nereo, Ferrarese Carlo (2003); ALTERED GLUTAMATE UPTAKE IN PERIPHERAL TISSUES FROM DOWN SYNDROME PATIENTS; *Neuroscience Letters*, 343(2):73-76

Beretta Simone, Sala Gessica, Mattavelli Laura, Ceresa Chiara, Casciati Arianna, Ferri Alberto, Carrì Maria Teresa, Ferrarese Carlo (2003); MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION DUE TO MUTANT COPPER/ZINC SUPEROXIDE DISMUTASE ASSOCIATED WITH AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS IS REVERSED BY N-ACETYLCYSTEINE; *Neurobiology of Disease*, 13:213-221

Beretta Simone, Begni Barbara, Ferrarese Carlo (2003); PHARMACOLOGICAL MANIPULATION OF GLUTAMATE TRANSPORT; *Drug News Perspect*, 16,7:435-445

Beretta Simone, Carrì Maria Teresa, Beghi Ettore, Chiò Adriano, Ferrarese Carlo (2003); THE SINISTER SIDE OF ITALIAN SOCCER; *Lancet*, 2,11:656-657

Bianchi Amedeo, Viaggi Stefano, Chiossi E., Zucca Claudio, Radice Lucia, Spreafico Giaeale, Zanutta Nicoletta, Episcreeen Group Lice (2003); FAMILY STUDY OF EPILEPSY IN FIRST DEGREE RELATIVES: DATA FROM THE ITALIAN EPISCREEN STUDY; *Seizure - European Journal of Epilepsy*, 12,4:203-210

Borgatti Renato, Piccinelli Paolo, Passoni Davide, Romeo Antonino, Viri Maurizio, Musumeci Sebastiano, Elia Maurizio, Cogliati Tiziana, Valserti Daniela, Grasso Rita, Raggi Maria Elisabetta, Ferrarese Carlo (2003); PERIPHERAL MARKERS OF THE GAMMA-AMINOBUTYRIC ACID (GABA)ergic SYSTEMS IN ANGELMAN'S SYNDROME; *Journal of Child Neurology*, 18,1:21-25

Cagliani Rachele, Bresolin Nereo, PELLE Alessandro, Gallanti Andrea, Fortunato Francesco, Sironi Manuela, Ciscato Patrizia, Fagiolari Gigliola, Bonato Sara, Galbiati Sara, Corti Stefania, Lamperti Costanza, Moggio Maurizio, Comi Giacomo Pietro (2003); A CAV3 MICRODELETION DIFFERENTIALLY AFFECTS SKELETAL MUSCLE AND MYOCARDIUM; *Neurology*, 61:1513-1519

Cagliani Rachele, Fortunato Francesco, Giorda Roberto, Rodolico M., Bonaglia Maria Clara, Sironi Manuela, D'Angelo Maria Grazia, PELLE Alessandro, Locatelli Federica, Toscano Antonio, Bresolin Nereo, Comi Giacomo Pietro (2003); MOLECULAR ANALYSIS OF LGMD-2B AND MM PATIENTS: IDENTIFICATION OF NOVEL DYSF MUTATIONS AND POSSIBLE FOUNDER EFFECT IN THE ITALIAN POPULATION; *Neuromuscular Disorders*, 13,10:788-795

Clementi Emilio (2003); THE CONTRIBUTION OF SALVADOR MONCADA TO OUR UNDERSTANDING OF THE BIOLOGY OF NITRIC OXIDE; *IUBMB Life*, 55,10-11:563-565

Clementi Emilio, Borgese Nica, Meldolesi Jacopo (2003); INTERACTIONS BETWEEN NITRIC OXIDE AND SPHINGOLIPIDS AND THE POTENTIAL CONSEQUENCES IN PHYSIOLOGY AND PATHOLOGY; *Trends in Pharmacological Sciences*, 24,10:518-523

Crimi Marco, Galbiati Sara, Perini Maria Paola, Bordoni Andreina, Malferrari Giulia, Sciacco Monica, Biunno Ida, Strazzer Sandra, Moggio Maurizio, Bresolin Nereo, Comi Giacomo Pietro (2003); A MITOCHONDRIAL tRNA<sup>His</sup> GENE MUTATION CAUSING PIGMENTARY RETINOPATHY AND NEUROSENSORIAL DEAFNESS; *Neurology*, 60,1:1200-1203

Dal Pozzo Francesca, Rossetto Maria Giovanna, Boaretto F, Sartori Elena, Mostacciolo M.L., Daga Andrea, Bassi Maria Teresa, Martinuzzi Andrea (2003); INFANCY ONSET HEREDITARY SPASTIC PARAPLEGIA ASSOCIATED WITH A NOVEL ATLASTIN MUTATION; *Neurology*, 61(4):580-581

Del Bo Roberto, Marco Crimi, Monica Sciacco, Giulia Malferrari, Andreina Bordoni, Laura Napoli, Alessandro Pelle, Ida Biunno, Maurizio Moggio, Nereo Bresolin, Guglielmo Scarlato, Giacomo Pietro Comi (2003); HIGH MUTATIONAL BURDEN IN THE mtDNA CONTROL REGION FROM AGED MUSCLES: A SINGLE-FIBER STUDY; *Neurobiology of Aging*, 24:829-838

Del Bo Roberto, Bordoni Andreina, Sciacco Monica, Di Fonzo Alessio, Galbiati Sara, Crimi Marco, Bresolin Nereo, Comi Giacomo Pietro (2003); REMARKABLE INFIDELITY OF POLYMERASE  $\gamma$ A ASSOCIATED WITH MUTATIONS IN POLG1 EXONUCLEASE DOMAIN; *Neurology*, 61(7):903-908

Del Bo Roberto, Comi Giacomo Pietro, Giorda Roberto, Crimi Marco, Locatelli Federica, Martinelli Boneschi Filippo, Pozzoli Uberto, Castelli Enrico, Bresolin Nereo, Scarlato Guglielmo (2003); THE 129 CODON POLYMORPHISM OF THE PRION PROTEIN GENE INFLUENCES EARLIER COGNITIVE PERFORMANCE IN DOWN SYNDROME SUBJECTS; *Journal of Neurology*, 250,6:688-692

Di Lazzaro Vincenzo, Oliviero A., Profice Paolo, Pennisi M.A., Pilato F., Zito G., Dileone M., Nicoletti R., Pasqualetti P., Tonali P. (2003); KETAMINE INCREASES HUMAN MOTOR CORTEX EXCITABILITY TO TRANSCRANIAL MAGNETIC STIMULATION; *Journal of Physiology (London)*, 547,2:485-496

Facoetti Andrea, Lorusso Maria Luisa, Paganoni Pierluigi, Cattaneo Carmen, Galli Raffaella, Mascetti Gian Gastone (2003); THE TIME COURSE OF ATTENTIONAL FOCUSING IN DYSLEXIC AND NORMALLY READING CHILDREN; *Brain and Cognition*, 53:181-184

Fertig Evan, Lincoln Anne, Martinuzzi Andrea, Mattson Richard H., Hisama Fuki M. (2003); NOVEL LGI1 MUTATION IN A FAMILY WITH AUTOSOMAL DOMINANT PARTIAL EPILEPSY WITH AUDITORY FEATURES; *Neurology*, 60:1687-1690

Gagliardi Chiara, Frigerio Elisa, Burt Michael, Cazzaniga Ilaria, Perret David I., Borgatti Renato (2003); FACIAL EXPRESSION RECOGNITION IN WILLIAMS SYNDROME; *Neuropsychologia*, 41,6:733-738

Ghelli Anna, Zanna Claudia, Porcelli Anna Maria, Schapira Anthony H.V., Martinuzzi Andrea, Carelli Valerio, Rugolo Michela (2003); LEBER'S HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY (LHON) PATHOGENIC MUTATIONS INDUCE MITOCHONDRIAL-DEPENDENT APOPTOTIC DEATH IN TRANSMITOCHONDRIAL CELLS INCUBATED WITH GALACTOSE MEDIUM; *Journal of Biological Chemistry*, 278,6:4145-4150

Greco Marilena, Villani Gaetano, Mazzucchelli Franca, Bresolin Nereo, Papa Sergio, Attardi Giuseppe (2003); MARKED AGING-RELATED DECLINE IN EFFICIENCY OF OXIDATIVE PHOSPHORYLATION IN HUMAN SKIN FIBROBLASTS; *Faseb Journal*, 17(12):1706-1708

Landi Andrea, Parolin M., Piolti Roberto, Antonini M., Grimaldi Marco, Crespi M., Iurlaro Simona, Aliprandi Angelo, Pezzoli G., Ferrarese Carlo, Gaini S.M. (2003); DEEP BRAIN STIMULATION FOR THE TREATMENT OF PARKINSON'S DISEASE: THE EXPERIENCE OF THE NEUROSURGICAL DEPARTMENT IN MONZA; *Neurological Sciences*, 24:S43-S44

Locatelli Federica, Corti Stefania, Donadoni C., Guglieri Michela, Capra F., Strazzer Sandra, Salani Sabrina, Del Bo Roberto, Fortunato Francesco, Bordoni Andreina, Comi Giacomo Pietro (2003); NEURONAL DIFFERENTIATION OF MURINE BONE MARROW THY-1 AND SCA-1-POSITIVE CELLS; *Journal of Hematotherapy & Stem Cell Research*, 12:727-734

Marino Cecilia, Giorda Roberto, Vanzin Laura, Molteni Massimo, Lorusso Maria Luisa, Nobile Maria, Baschiroto Cinzia, Alda M., Battaglia Marco (2003); NO EVIDENCE FOR ASSOCIATION AND LINKAGE DISEQUILIBRIUM BETWEEN DYSLEXIA AND MARKERS OF FOUR DOPAMINE-RELATED GENES; *European Child and Adolescent Psychiatry*, 12,4:198-202

Martinuzzi Andrea, Sartori Elena, Fanin Marina, Nascimbeni Annachiara, Valente Lucia, Angelini Corrado, Siciliano Gabriele, Mongini Tiziana, Tonin Paola, Tomelleri Giuliano, Toscano Antonio, Merlini Luciano, Bindoff Laurence A., Bertelli Stefano (2003); PHENOTYPE MODULATORS IN MYOPHOSPHORYLASE DEFICIENCY; *Annals of Neurology*, 53,4:497-502

Nobile Maria, Cataldo Maria Giulia, Marino Cecilia, Molteni Massimo (2003); DIAGNOSIS AND TREATMENT OF DYSTHYMIA IN CHILDREN AND ADOLESCENT; *CNS DRUGS*, 17(13):927-946

Poggi Geraldina, Liscio Mariarosaria, Adduci Annarita, Galbiati Susanna, Sommovigo Michela, Degrate Alessandro, Strazzer Sandra, Castelli Enrico (2003); NEUROPSYCHIATRIC SEQUELAE IN TBI: A COMPARISON ACROSS DIFFERENT AGE GROUPS; *Brain Injury*, 17,10:835-846

Pozzoli Uberto, Elgar Greg, Cagliani Rachele, Riva Laura, Comi Giacomo Pietro, Bresolin Nereo, Bardoni Alessandra, Sironi Manuela (2003); COMPARATIVE ANALYSIS OF VERTEBRATE DYSTROPHIN LOCI INDICATE INTRON GIGANTISM AS A COMMON FEATURE; *Genome Research*, 13,5:764-772

Sala Gessica, Galimberti Gloria, Canevari Carla, Raggi Maria Elisabetta, Isella Valeria, Facheris Maurizio, Appolonio Ildebrando, Ferrarese Carlo (2003); PERIPHERAL CYTOKINE RELEASE IN ALZHEIMER PATIENTS: CORRELATION WITH DISEASE SEVERITY; *Neurobiology of Aging*, 24,7:909-914

Sampaolesi Maurilio, Torrente Yvan, Innocenzi Anna, Tonlorenzi Rossana, D'Antona Giuseppe, Pellegrino M. Antonietta, Barresi Rita, Bresolin Nereo, Cusella De Angelis M. Gabriella, Campbell Kerry S., Bottinelli Roberto, Cossu Giulio (2003); CELL THERAPY OF ALPHA-SARCOGLYCAN NULL DYSTROPHIC MICE THROUGH INTRA-ARTERIAL DELIVERY OF MESOANGIOBLASTS; *Science*, 301:487-492

Simeonsson E.J., Leonardi M., Lollar D., Bjorck-Akesson E., Hollenweger J., Martinuzzi Andrea (2003); APPLYING THE INTERNATIONAL CLASSIFICATION OF FUNCTIONING, DISABILITY AND HEALTH (ICF) TO MEASURE CHILDHOOD DISABILITY; *Disability and Rehabilitation*, 25:11-12:602-610

Sironi Manuela, Cagliani Rachele, Comi Giacomo Pietro, Pozzoli Uberto, Bardoni Alessandra, Giorda Roberto, Bresolin Nereo (2003); TRANS-ACTING FACTORS MAY CAUSE DYSTROPHIN SPLICING MISREGULATION IN BMD SKELETAL MUSCLES; *Febs Letters*, 537:30-34

Sironi Manuela, Pozzoli Uberto, Cagliani Rachele, Giorda Roberto, Comi Giacomo Pietro, Bardoni Alessandra, Menozzi Giorgia, Bresolin Nereo (2003); RELEVANCE OF SEQUENCE AND STRUCTURE ELEMENTS FOR DELETION EVENTS IN THE DYSTROPHIN GENE MAJOR HOT-SPOT; *Human Genetics*, 112,3:272-288

Torrente Yvan, Camirand Geoffrey, Pisati Federica, Belicchi Marzia, Rossi Barbara, Colombo Fabio, El Fahime Mosthapha, Caron Nicolas J., Issekutz Andrew C., Constantin Gabriela, Tremblay Jacques P., Bresolin Nereo (2003); IDENTIFICATION OF A PUTATIVE PATHWAY FOR THE MUSCLE HOMING OF STEM CELLS IN A MUSCULAR DYSTROPHY MODEL; *The Journal of Cell Biology*, 162,3:511-520

Zanna Claudia, Ghelli Anna, Porcelli Anna Maria, Carelli Valerio, Martinuzzi Andrea, Rugolo Michela (2003); APOPTOTIC CELL DEATH OF CYBRID CELLS BEARING LEBER'S HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY MUTATIONS IS CASPASE INDEPENDENT; *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1010: 213-217

Zucca Claudio, Binda Sandro, Borgatti Renato, Triulzi Fabio, Radice Lucia, Buttè Cinzia, Barkhaus Paul E., Barbi Maria (2003); RETROSPECTIVE DIAGNOSIS OF CONGENITAL CYTOMEGALOVIRUS INFECTION AND CORTICAL MALDEVELOPMENT; *Neurology*, 61(5):710-712

### Articoli pubblicati su riviste non recensite

Aceti Giuseppe, Villa Susanna, Molteni Massimo (2003); L'EVALUATION FONCTIONNELLE POUR L'INTERVENTION (EFI) PER ADOLESCENTI E ADULTI; *Autismo e Disturbi dello Sviluppo - Giornale italiano di ricerca clinica e psicoeducativa*, 1,3:347-359

Aiello Monica, Cozzi Patrizia, Montiroso Rosario, Borgatti Renato (2003); IL GIOCO COME METODO DI INDAGINE PSICOLOGICA TRA ESPRESSIVITÀ SPONTANEA E RIGORE SCIENTIFICO: I RISULTATI DI UNA RICERCA; *Pagine di Psicomotricità*, 76 Aprile-Giugno: 4-12

Albani F., Grassi Barbara, Ferrara R., Turrini R., Baruzzi A., Primo Study Group (2003); STUDIO CLINICO DI VALUTAZIONE DELL'EQUIVALENZA TERAPEUTICA DELLE DUE MODALITÀ DI PASSAGGIO (IMMEDIATA E PROGRESSIVA) DALLA MONOTERAPIA CON CARBAMAZEPINA A QUELLA CON OXCARBAZEPINA IN PAZIENTI AFFETTI DA EPILESSIA FOCALE - Immediate (overnight) switching from Carbamazepine to Oxcarbazepine monotherapy is equivalent to a more progressive switch; *Bollettino Lega Italiana contro l'Epilessia*, 121/122, Suppl. 1:13-18

Antonetti R., Antonini F., Bandettini R., Berna P., Bonetti C., Bruno R., Calanca P., Camporese A., Ceccarelli, Cenni G., Cerletti M., Cherubini P., Chioetto T., Giaccio V., Conti A., Cristiano L., Crotti D., Daniel L., Del Gaudio T., Dettori S., Di Santo R., Draghin E., Dusi P., Esposito S., Farinatti T., Farinelli S., Fazio A., Ferrari L., Fianchino B., Gelmi M., Giacobone E., Guidi M.T., Lanzafame P., La Rosa U., Lo Monaco G.P., Maiola M., Malandrino M., Maranini B., Mascolo M., Mazzarello M.G., Mazzoni P., Melioli G., Meo R., Merlino F., Monastero R., Muresu E., Nicolosi V., Nocera E., Olgiati A., Panella L., Pappacena R., Perugini D., Piacentini E., Pirali F., Piscina A., Podda R., Raggi Maria Elisabetta, Repetto A., Reverso Giovantin E., Ricci L., Riscaldati T., Rossetti R., Rossi M.R., Salemi A., Savarino A., Scarazzati E., Sacrin M., Sciarra G., Serra D., Silvestri M.A., Sperring R., Sturla C., Terramocci R. (2003); STUDIO EPIDEMIOLOGICO, MEDIANTE L'USO DI INTERNET, SULLE RESISTENZE "IN VITRO" DI CEPPI DI STREPTOCOCCUS PYOGENES AI MACROLIDI E ALLA CLINDAMICINA. ANNI 2001 E 2002; *Microbiologia Medica*, 18,4:299-304



Badioni Valeria, Castelli Enrico (2003); DEFINITIONS AND ASSESSMENT SCALES; Saggi - Child Development & Disabilities, 3:77-90

Bardoni Alessandra (2003); PATHOPHYSIOLOGIC ASPECTS IN SEVERE HEAD INJURY; - Saggi - Child Development & Disabilities, 2:19-26

Bigoni Anna, Piccolo Barbara, Tavano Alessandro, Csillaghy A.L., Fabbro Franco (2003); SVILUPPO DEL LINGUAGGIO IN BAMBINI SORDI TRATTATI CON IL METODO ORALE; Saggi - Child Development & Disabilities, 1:25-39

Castelli Enrico (2003); TBI REHABILITATION IN CHILDHOOD AND ADOLESCENCE; - Saggi - Child Development & Disabilities, 2:41-50

Corti Stefania, Locatelli Federica, Strazzer Sandra, Guglieri M., Comi Giacomo Pietro (2003); NEURONAL GENERATION FROM SOMATIC STEM CELLS: CURRENT KNOWLEDGE AND PERSPECTIVES ON THE TREATMENT OF ACQUIRED AND DEGENERATIVE CENTRAL NERVOUS SYSTEM DISORDERS; Current Gene Therapy, 3:247-272

De Iaco M.G., Guerzoni Letizia, Trabacca Antonio (2003); LA RIABILITAZIONE DEL BAMBINO IPACUSICO CON IMPIANTO COCLEARE: DESCRIZIONE DI UN CASO; Saggi - Child Development & Disabilities, 1:47-53

Fabbro Franco (2003); SPEECH AND LANGUAGE DISORDERS AFTER TBI IN CHILDREN; Saggi - Child Development & Disabilities, 2:65-72

Facoetti Andrea, Turatto Massimo, Molteni Massimo, Paganoni Pierluigi, Mascetti Gian Gastone (2003); INATTENZIONE SINISTRA NEL DISTURBO SPECIFICO DELLA LETTURA: UN DEFICIT DELLE FUNZIONI VISUO-SPAZIALI DEL LOBO PARIETALE DESTRO?; - Giornale Italiano di Psicologia, 1:95-104

Fara Donatella, Seassaro Ulla Carola, Sorrentino Anna Maria, Cattaneo Maria Caterina, Del Piccolo Lidia, Molteni Massimo (2003); Titolo: FRATELLI SANI DI BAMBINI DISABILI: STILI DI FUNZIONAMENTO FAMILIARE E POSSIBILI INDICATORI DI EVOLUZIONE PSICOPATOLOGICA; Terapia Familiare, 73:35-56

Galbiati Susanna (2003); NEUROPSYCHOLOGICAL DISORDERS AFTER TBI IN DEVELOPMENTAL AGE; Saggi - Child Development & Disabilities, 2:51-64

Liscio Mariarosaria, Poggi Geraldina, Sommovigo Michela, Galbiati Susanna, Adduci Annarita (2003); RELATIONAL COMMUNICATION AND MANAGEMENT: VOCATIONAL WORKSHOP WITH CAREGIVERS; Saggi - Child Development & Disabilities, 3:41-47

Marzocchi Gian Marco, Cornoldi Cesare (2003); QUALE TERAPIA PER IL BAMBINO CON DISTURBO DA DEFICIT DI ATTENZIONE/IPERATTIVITÀ? IN CHE MISURA VANNO USATI GLI PSICOFARMACI IN ETÀ EVOLUTIVA; Psicologia Clinica dello Sviluppo, 2:287-319

Marzocchi Gian Marco, Oosterlaan Jaap, De Meo Tiziana, Di Pietro Mario, Ancilletta Bernadette, Pezzica Sara, Sergeant Joseph A., Zuddas Alessandro (2002); DISTURBI DI ATTENZIONE, IPERATTIVITÀ E OPPOSITIVITÀ SECONDO I GENITORI: UN QUESTIONARIO PER LA VALUTAZIONE DEI COMPORTAMENTI DIROMPENTI (SCOD-G) IN ETÀ EVOLUTIVA; Psichiatria dell'Infanzia e dell'Adolescenza, 70:17-28

Marzocchi Gian Marco, Cornoldi Cesare (2003); RIFLESSIONI FINALI DOPO LA DISCUSSIONE SU "QUALE TERAPIA PER IL BAMBINO CON IL DISTURBO DA DEFICIT DI ATTENZIONE/IPERATTIVITÀ? IN CHE MISURA VANNO USATI GLI PSICOFARMACI IN ETÀ EVOLUTIVA"; Psicologia Clinica dello Sviluppo, 3:517

Poggi Geraldina, Liscio Mariarosaria, Galbiati Susanna, Adduci Annarita, Milani Orietta, Paldauf Angela (2003); BRAIN INJURY AND FAMILY-RELATED ISSUES; Saggi - Child Development & Disabilities, 3:25-30

Poggi Geraldina, Liscio Mariarosaria, Adduci Annarita, Galbiati Susanna (2003); PSYCHIATRIC AND BEHAVIORAL DISORDERS; Saggi - Child Development & Disabilities, 3:7-15

Radice Lucia, Zanotta Nicoletta, Tadeo Carlo Sebastiano, Zucca Claudio (2003); TRAUMATIC BRAIN INJURY AND EPILEPTIC SEIZURES; Saggi - Child Development & Disabilities, 3:57-68

Rossi Sonia, Premarini Claudio, Borgatti Renato (2003); LA RIABILITAZIONE PSICOPEDAGOGICA E PSICOSOCIALE NELLA PERSONA CON RITARDO MENTALE; *Giornale di Neuropsichiatria dell'Età Evolutiva*, 23:313-325

Russo Emanuela, Battaglia Maria Amalia, Martinuzzi Andrea (2003); IMPLEMENTAZIONE E ADATTAMENTO DELL'ICF: L'ESPERIENZA DI UN ISTITUTO DI NEURORIABILITAZIONE PEDIATRICA; LA PROFESSIONE DI PSICOLOGO - *Giornale dell'Ordine Nazionale degli Psicologi dello 01/01/03*; pagg. 56-58

Salati Roberto, Giammari Aldè Giuseppina, Cavallini Anna, Polenghi Francesco, Bianchi Paolo Emilio, Borgatti Renato (2003); CLINICAL FEATURES OF OCULAR MOTILITY IN CEREBRAL VISUAL IMPAIRMENT (CVI); *Italian Journal of Pediatrics*, 29:265-275

Soi Daniela, Brambilla Daniele (2003); SORDITÀ INFANTILE. ASPETTI EPIDEMIOLOGICI ED EZIOLOGICI; *Saggi - Child Development & Disabilities*, 1:11-23

Strazzer Sandra, Castelli Enrico (2003); CORTICAL EVOKED RESPONSES AFTER TBI IN ADULTS AND DEVELOPMENTAL AGE; *Saggi - Child Development & Disabilities*, 2:33-40

Tressoldi Patrizio, Vio Claudio, Lorusso Maria Luisa, Facchetti Andrea, Iozzino R. (2003); CONFRONTO DI EFFICACIA ED EFFICIENZA TRA TRATTAMENTI PER IL MIGLIORAMENTO DELLA LETTURA IN SOGGETTI DISLESSICI; *Psicologia Clinica dello Sviluppo*, 3:481-494

### Letters pubblicate su riviste recensite

Bonaglia Maria Clara, Giorda Roberto, Cavallini Anna, Pramparo T., Rocchi Mariano, Borgatti Renato, Zuffardi Orsetta (2003); DISTAL TRISOMY 6p AND 20q OWING TO THE CONCURRENT TRANSPOSITION OF DISTAL 6p AND 20q TO THE 22q TELOMERE: A GENOMIC POLYMORPHISM?; *Journal of Medical Genetics*, 40,8:E94

Gagliardi Chiara, Bonaglia Maria Clara, Selicorni Angelo, Borgatti Renato, Giorda Roberto (2003); UNUSUAL COGNITIVE AND BEHAVIOURAL PROFILE IN A WILLIAMS SYNDROME PATIENT WITH ATYPICAL 7q11.23 DELETION; *Journal of Medical Genetics*, 40,7:526-530

Longatti Pierluigi, Fiorindi Alessandro, Caroli F., Carteri Alessandro, Martinuzzi Andrea (2003); EXPANDING CEREBRAL CYSTS (LACUNAE): A TREATABLE CAUSE OF PROGRESSIVE MIDBRAIN SYNDROME; *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 74:393-394

Ventura Mario, Mudge Jonathan M., Palumbo Valeria, Burn Sally, Blennow Elisabeth, Pierluigi Mauro, Giorda Roberto, Zuffardi Orsetta, Archidiacono Nicoletta, Jackson Michael S., Rocchi Mariano (2003); NEOCENTROMERES IN 15q24-26 MAP TO DUPLICATIONS WHICH FLANKED AN ANCESTRAL CENTROMERE IN 15q25; *Genome Research*, 13,9:2059-2068

**Reports e simili pubblicati su riviste recensite**

Cagliani Rachele, Bardoni Alessandra, Sironi Manuela, Fortunato Francesco, Prella Alessandro, Felisari Giorgio, Bonaglia Maria Clara, D'Angelo Maria Grazia, Moggio Maurizio, Bresolin Nereo, Comi Giacomo Pietro (2003); TWO DYSTROPHIN PROTEINS AND TRANSCRIPTS IN A MILD DYSTROPHINOPATHIC PATIENT; *Neuromuscular Disorders*, 13,1:13-16 Case Report

Crimi Marco, Del Bo Roberto, Galbiati Sara, Sciacco Monica, Bordoni Andreina, Bresolin Nereo, Comi Giacomo Pietro (2003); MITOCHONDRIAL A12308G POLYMORPHISM AFFECTS CLINICAL FEATURES IN PATIENTS WITH SINGLE mtDNA MACRODELETION; *European Journal of Human Genetics*, 11,11:896-898 Short Report

D'Angelo Maria Grazia, Bresolin Nereo (2003); REPORT OF THE 95th EUROPEAN NEUROMUSCULAR CENTRE (ENMC) SPONSORED INTERNATIONAL WORKSHOP COGNITIVE IMPAIRMENT IN NEUROMUSCULAR DISORDERS, NAARDEN, THE NETHERLANDS, 13-15 JULY 2001; *Neuromuscular Disorders*, 13:72-79 - Report

Del Bo Roberto, Baron Pierluigi, Prella Alessandro, Serafini Massimo, Moggio Maurizio, Di Fonzo Alessio, Castagni Marina, Bresolin Nereo, Comi Giacomo Pietro (2003); NOVEL MISSENSE MUTATION AND LARGE DELETION OF GNE GENE IN AUTOSOMAL-RECESSIVE INCLUSION-BODY MYOPATHY; *Muscle and Nerve*, 28:113-117 Short Report

Facoetti Andrea, Lorusso Maria Luisa, Paganoni Pierluigi, Cattaneo Carmen, Galli Raffaella, Umiltà Carlo, Mascetti Gian Gastone (2003); AUDITORY AND VISUAL AUTOMATIC ATTENTION DEFICITS IN DEVELOPMENTAL DYSLEXIA; *Cognitive Brain Research*, 16,2:185-191 Research Report

Facoetti Andrea, Lorusso Maria Luisa, Paganoni Pierluigi, Umiltà Carlo, Mascetti Gian Gastone (2003); THE ROLE OF VISUOSPATIAL ATTENTION IN DEVELOPMENTAL DYSLEXIA: EVIDENCE FROM A REHABILITATION STUDY; *Cognitive Brain Research*, 15:154-164 Research Report

Ferrarese Carlo, Di Luca Monica (2003); BIOLOGICAL MARKERS IN ALZHEIMER DISEASE; *Neurobiology of Aging*, 24,1:191-193 - Meeting Report

Isella Valeria, Iurlaro Simona, Piolti Roberto, Ferrarese Carlo, Frattola Lodovico, Appolonio Ildebrando (2003); PHYSICAL ANHEDONIA IN PARKINSON'S DISEASE; *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 74:1308-1311 Short Report

Longatti Pierluigi, Martinuzzi Andrea, Fiorindi Alessandro, Malobabic Slobodan, Carteri Alessandro (2003); ENDOSCOPIC ANATOMY OF THE TRIANGULAR RECESS; *Neurosurgery*, 52(6):1493-1494 Discussion

**Libri o capitoli di libri**

Adducci Annarita, Michela Sommovigo (2003); ASSESSMENT; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Mariarosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 61-98

Adducci Annarita (2003); IL TRATTAMENTO DI PSICOSTIMOLAZIONE COGNITIVO-COMPORTAMENTALE; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Mariarosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 165-196

Bardoni Alessandra (2003); TRATTAMENTO FARMACOLOGICO; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Mariarosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 261-276

Castelli Enrico, Bernasconi Simona (2003); IL TRAUMA CRANICO: ASPETTI NEUROLOGICI; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Maria Rosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 1-23

Corti Marinella (2003); LE PROBLEMATICHE SOCIALI; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Maria Rosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 323-331

Galbiati Susanna (2003); DISTURBI NEUROPSICOLOGICI; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Maria Rosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 45-60

Galbiati Susanna, Sommovigo Michela (2003); TRATTAMENTO DEI DISTURBI COMPORTAMENTALI E PSICOLOGICI; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Maria Rosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 197-260

Guerreschi Massimo (2003); IL PERSONAL COMPUTER ENTRA NEI SERVIZI EDUCATIVI: SPUNTI E RIFLESSIONI; in "LA RETE EDUCATIVA TRA SCUOLA E SERVIZI SOCIO-SANITARI" a cura di Olga Liverta Sempio, Carocci, pagg. 114-130

Guerreschi Massimo (2003); AUSILI TECNOLOGICI E AUTONOMIA; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Maria Rosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 277-322

Liscio Mariarosaria (2003); LA PSICOLOGIA COGNITIVO-COMPORTAMENTALE; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Maria Rosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 149-164

Lomascolo Tina, Vaccaro Ascanio, Villa Susanna (2003); AUTISMO: MODELLI APPLICATIVI NEI SERVIZI; Vanini Editrice

Milani Enrica (2003); SUPERVISIONE PEDAGOGICA E OSSERVAZIONE EDUCATIVA DEL BAMBINO DISABILE IN SCUOLA MATERNA; in "LA RETE EDUCATIVA TRA SCUOLA E SERVIZI SOCIO-SANITARI" a cura di Olga Liverta Sempio; Carocci, pagg. 93-113

Poggi Geraldina (2003); DISTURBI PSICHIATRICI E COMPORTAMENTALI; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Maria Rosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 99-125

Poggi Geraldina (2003); LA RIABILITAZIONE; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Maria Rosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 127-148

Strazzer Sandra (2003); DISTURBI SENSITIVI E SENSORIALI NEL TRAUMATIZZATO CRANICO; in "DAL COMA AL REINSERIMENTO. Psicostimolazioni cognitive e trattamento dei disturbi comportamentali nel paziente post-traumatico" a cura di Mariarosaria Liscio, Susanna Galbiati, Geraldina Poggi; Milano, McGraw-Hill, pagg. 25-43

### Comunicazioni Scientifiche pubblicate su riviste recensite

Battaglia Maria Amalia, Russo Emanuela, Pellegri Alda, Martinuzzi Andrea (2003); CORRELATION BETWEEN ICF CHECKLIST AND VERBAL I.Q., G.M.F.M., F.I.M.: EXPERIENCE IN PEDIATRIC NEUROREHABILITATION; Abstract 55th Annual Meeting - American Academy of Neurology - Honolulu, Hawaii, 29/03-05/04/2003; Neurology, 60,5(1):A31

Borgatti Renato, Cavallini Anna, Ferrario Mariella, Panzeri Chris, Zucca Claudio, Fontana E., Tagliatela M., Bresolin Nereo, Bassi Maria Teresa (2003); A NOVEL MISSENSE MUTATION IN KCNQ2 K+ CHANNEL IN A FAMILY WITH BFNC, WEST SYNDROME AND MENTAL RETARDATION; Abstract Thirteenth Meeting of the European Neurological Society - Istanbul, TURKEY, 14-18/06/2003; Journal of Neurology, 250, Suppl. 2:II/73-II/74

Bresolin Nereo, D'Angelo Maria Grazia, Bardoni Alessandra, Civati Federica (2003); DISTURBI DELLE FUNZIONI SUPERIORI NELLE MALATTIE MUSCOLARI; Sillabus XXXIV Congresso Società Italiana di Neurologia, Roma, 11-15.10.2003; Neurological Sciences, 24

Castelli Enrico, Poggi Geraldina, Liscio Mariarosaria, Strazzer Sandra, Adduci Annarita, Massimino Maura, Gandola L., Fossati-Bellani Maura (2003); OUTCOME AND PSYCHOLOGICAL PROBLEMS AFTER BRAIN TUMORS IN DEVELOPMENTAL AGE; Abstract 13° Meeting of the European Neurological Society, Istanbul, 14-18/06/2003; Journal of Neurology, 250, Suppl. 2:45

Corti Stefania, Locatelli Federica, Guglieri Michela, Papadimitriou Dimitra, Montesissa Lorena, Strazzer Sandra, Salani Sabrina, Bendotti Caterina, Comi Giacomo P. (2003); BM DERIVED STEM CELLS CONTRIBUTE TO CNS, HEART AND SKELETAL MUSCLE REGENERATION IN SOD1-G93A MICE; Abstract 55th Annual Meeting - American Academy of Neurology - Honolulu, Hawaii, 29/03-05/04/2003; Neurology, 60,5(1):A77

Daga Andrea, Orso Genny, Rossetto Maria Giovanna, Sartori Elena, Martinuzzi Andrea (2003); A DROSOPHILA MODEL FOR HEREDITARY SPASTIC PARAPLEGIA. FUNCTIONAL ANALYSIS OF FLY SPASTIN; Abstract 55th Annual Meeting - American Academy of Neurology - Honolulu, Hawai, 29/03-05/04/2003; Neurology, 60,5(1):A523

Guy John, Xiaoping Qi, Carelli Valerio, Martinuzzi Andrea, Hauswirth William W., Lewin Alfred S. (2003); EVALUATION OF POTENTIAL TREATMENT STRATEGIES FOR LEBER HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY; Abstract 55th Annual Meeting - American Academy Of Neurology - Honolulu, Hawai, 29/03-05/04/2003; Neurology, 60,5(1):A26

Locatelli Federica, Corti Stefania, Donadoni C., Montesissa Lorena, Guglieri Michela, Capra F., Strazzer Sandra, Salani Sabrina, Del Bo Roberto, Fortunato Francesco, Bresolin Nereo, Comi Giacomo Pietro (2003); GENERATION OF NEURAL PROGENITORS FORM MURINE BONE MARROW; Abstract 13° Meeting of the European Neurological Society - Istanbul, 14-18/6/2003; Journal of Neurology, 250, Suppl. 2:205

Strazzer Sandra, Bardoni Alessandra, Brambilla Daniele, Bernasconi Simona, Poggi Geraldina, Castelli Enrico (2003); MISDIAGNOSIS OF HYSTERIA IN A CASE OF GLUTEN SENSITIVITY AND NEUROLOGICAL DYSFUNCTION; Abstract 13° Meeting of the European Neurological Society - Istanbul, 14-18/6/2003; Journal of Neurology, 250, Suppl. 2:133

### **Comunicazioni Scientifiche pubblicate su riviste non recensite o in Atti**

Albani F, Baruzzi A., Gruppo Studio Primo (Zanotta Nicoletta) (2003); STUDIO CLINICO DI VALUTAZIONE DELL'EQUIVALENZA TERAPEUTICA DELLE DUE MODALITÀ DI PASSAGGIO (IMMEDIATA E PROGRESSIVA) DALLA MONOTERAPIA CON CARBAMAZEPINA A QUELLA CON OXCARBAZEPINA IN PZ AFFETTI DA EPILESSIA PARZIALE; Abstract 26° Congresso Nazionale LICE - Chia Laguna, 28-31/06/2003; Bollettino Lega Italiana contro l'Epilessia, 120, aprile/giugno:41

Bolla Alessandra, Dal Pos Marisa, Martinuzzi Andrea (2003); MIGLIORAMENTO DELLA EFFICACIA COMUNICATIVA IN UN SOGGETTO AFFETTO DA AFASIA GLOBALE: UN APPROCCIO INTEGRATO; Atti 3° Congresso Nazionale "Disabilità Trattamento Integrazione" a cura di M. Giuseppin - Padova, 29-31/05/2003; pag. 53

Cannao Milena (2003); IL DISABILE GRAVE È UNA PRESENZA PARADOSSALE IN CLASSE?; Atti del Convegno "Quando nella scuola nasce l'emergenza - Qualche possibile rimedio" - Milano, 21-22/11/2003; pagg. 45-50

Colombo Enrica, Marinoni Cinzia, Pozzoni Elisa (2003); DISTURBO DEL RICONOSCIMENTO VISIVO CONSEGUENTE A INTOSSICAZIONE DA MONOSSIDO DI CARBONIO; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 181-182

Cordaro Claudia, Caucci Sabina, Geotti Simonetta, Olimpi Ida (2003); OSSERVAZIONE DI UN BAMBINO IPOVEDENTE CON SOSPETTA RETINOPATIA. La riabilitazione dei disturbi associati; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 187-188

Cristofori Guido, Bearzotti Federica, Cruciatti B. (2003); EFFETTI EMOZIONALI DELLA MALATTIA EPILETTICA SUL SUO ITINERARIO E SULLA FAMIGLIA DEL PZ: DALLA COMUNICAZIONE DELLA DIAGNOSI A QUELLA DI GUARIGIONE; Abstract EP12 26° Congresso Nazionale LICE - Chia Laguna, 28-31.05.2003; Bollettino Lega Italiana contro l'Epilessia, 130, giugno 2003:80-81

Galluzzi Rita, Massagli Angelo, Russo Luigi, Trabacca Antonio (2003); PROGETTO "SPAZIO VERDE": PRIMI RISULTATI DI UNA ESPERIENZA RIABILITATIVA CON BAMBINI AUTISTICI; Abstract 3° Congresso Nazionale "Disabilità Trattamento Integrazione" - Padova, 29-31/05/2003; pag. 65-66

Giammari Aldè Giuseppina (2003); SVILUPPO DELLA FUNZIONE VISIVA; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 11-14

Grassi Barbara, Bignucolo Iliaria, Vestri Alec, Toschi Pier Giorgio, Martinuzzi Andrea (2003); APPROCCIO MULTIDISCIPLINARE NELL'ASSESSMENT PER I DISTURBI NEUROVISIVI IN PERSONE CON CEREBROLESIONI ACQUISITE; Atti 3° Congresso Nazionale "Disabilità Trattamento Integrazione" a cura di M. Giuseppin - Padova, 29-31/05/2003; pag. 123

Guerreschi Massimo (2003); LE AMBIVALENTI ACCOGLIENZE PER I DISABILI; Atti del Convegno "Quando nella scuola nasce l'emergenza - Qualche possibile rimedio" - Milano, 21-22/11/2003; pagg. 81-92

Landi Andrea, Antonini Angelo, Ferrarese Carlo, Mariani Claudio, Parolin Michele, Iurlaro Simona, Aliprandi Angelo, Pezzoli Gianni, Gaini Sergio M. (2003); STIMOLAZIONE CRONICA SUBTALAMICA PER IL TRATTAMENTO DELLA MALATTIA DI PARKINSON: ANALISI DEI RISULTATI A 12 MESI DI FOLLOW-UP; Atti Corso di Aggiornamento "Update in Terapia Neurologica: dal Presente al Futuro" - Garbagnate Milanese, 2003; pagg. 28-33

Lorusso Maria Luisa, Facoetti Andrea (2003); ASPETTI VISIVI NELLA DISLESSIA EVOLUTIVA; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 51-53

Mancarella Giorgio, Salati Roberto, Spaggiari Elio, Nicolini Patrizia, Polenghi Francesco (2003); RITARDO DI MATURAZIONE VISIVA: PRESENTAZIONE DI UN CASO; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 183-186

Mazzone Paola, Rigamonti Marisa, Pezzoli Sara, Polenghi Francesco (2003); MICROSTRABISMO CON IDENTITÀ; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 195-197

Orso Genny, Rossetto Maria Giovanna, Sartori Elena, Martinuzzi Andrea, Daga Andrea (2003); FUNCTIONAL ANALYSIS OF THE DROSOPHILA SPASTIN GENE; Abstract Book "Molecular Mechanisms of Neurodegeneration from triplet repeat expansions to protein toxicity" - MILANO, 2-4/05/2003 - OC01

Pasini Paola, Grassi Barbara, Ciol Francesca, Viel Danila, Boscarato Paolo (2003); ASSESSMENT, SETTING E SPAZI DI INTERVENTO IN TERAPIA OCCUPAZIONALE PER LE CEREBROLESIONI ACQUISITE; Atti 3° Congresso Nazionale "Disabilità Trattamento Integrazione" a cura di M. Giuseppin - Padova, 29-31/05/2003; pag. 44

Pezzoli Sara, Rigamonti Marisa, Mazzone Paola, Polenghi Francesco (2003); IPERFUNZIONE PRIMARIA BILATERALE DEL MUSCOLO PICCOLO OBLIQUO CON DVD; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 175-176

Polenghi Francesco (2003); NISTAGMO CONGENITO: QUESITI DIAGNOSTICI; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 75-80

Polenghi Francesco, Salati Roberto (2003); PARAMETRI SENSORIALI E INDICAZIONE CHIRURGICA; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 129-135

Polenghi Francesco, Giammari Aldè Giuseppina (2003); RIASSETTO CHIRURGICO DEI DISORDINI OCULOMOTORI NELLE MINORAZIONI VISIVE INFANTILI; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 137-143

Russo Luigi, Massagli Angelo, Galluzzi Rita, Quarta Gaetano, De Mitri Sara, Trabacca Antonio (2003); AUTISMO E STRESS GENITORIALE: UN'INDAGINE ATTRAVERSO IL PARENT

STRESS INDEZ DI R. ABIDIN; Abstract 3° Congresso Nazionale "Disabilità Trattamento Integrazione" - Padova, 29-31/05/2003; pag. 69

Salati Roberto (2003); SVILUPPO DELLA VISIONE BINOCULARE: METODICHE SPERIMENTALI DI STUDIO; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 23-30

Salati Roberto (2003); SEGNI CLINICI DIRETTI E INDIRETTI DEL DANNO VISIVO PRECOCE; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 57-65

Salati Roberto, Polenghi Francesco (2003); SIGNIFICATO E PROBLEMI DELLA CORREZIONE OTTICA; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 115-126

Spaggiari Elio (2003); SIGNIFICATO DELLE INDAGINI ELETTROFISIOLOGICHE NELLA PRIMA INFANZIA; in "APPUNTI DI STRABOLOGIA. Contributi alle giornate di studio anni 1999 - 2000 - 2001" a cura di Francesco Polenghi e Roberto Salati Atti Convegni tenutisi presso IRCCS E. Medea, Bosisio Parini (LC), pagg. 67-73

Trevisi Enrico, Facchin Dina, Battaglia Maria Amalia, Zulian E., Martinuzzi Andrea (2003); EFFECTIVENESS OF INTENSIVE REHABILITATION TREATMENT IN JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS (JIA); Atti 2nd World Congress ISPRM, Prague, Czech Republic, 18-22/05/2003; pagg. 305-308

Vestri Alec, Sallemi Giovanni, Martinuzzi Andrea (2003); MODELLI DI LAVORO DI EQUIPE A CONFRONTO IN UNA STRUTTURA OSPEDALIERA DI TERZO LIVELLO (URNA): CULTURALE, ORGANISMICO, GERARCHICO E MISTO; Atti 3° Convegno Nazionale "Disabilità Trattamento Integrazione" a cura di M. Giuseppin - Padova, 29-31/05/2003; pag. 153

Zanotta Nicoletta, Radice Lucia, Zucca Claudio, Raggi Maria Elisabetta, Bresolin Nereo (2003); TERAPIA ANTIEPILETTICA CON TOPIRAMATO (TPM): STUDIO CLINICO E DEI LIVELLI PLASMATICI; Abstract TL17 26° Congresso Nazionale LICE - Chia Laguna, 28-31/05/2003; Bollettino Lega Italiana contro l'Epilessia, 120, aprile/giugno: 39

# PUBBLICAZIONI

## ANNO 2004

### Articoli pubblicati su riviste recensite

Albani F, Grassi Barbara, Ferrara R., Turrini R., Baruzzi A., The Primo Studi Group (Zucca Claudio) (2004); IMMEDIATE (OVERNIGHT) SWITCHING FROM CARBAMAZEPINE TO OXCARBAZEPINE MONOTHERAPY IS EQUIVALENT TO A PROGRESSIVE SWITCH; Seizure - European Journal of Epilepsy, 13:254-263

Aldred M.A., Sanford R.O.C., Thomas N.S., Barrow M.A., Wilson L.C., Brueton L.A., Bonaglia Maria Clara, Hennekam R.C.M., Eng C., Dennis N.R., Trembath R.C. (2004); MOLECULAR ANALYSIS OF 20 PATIENTS WITH 2Q37.3 MONOSOMY: DEFINITION OF MINIMUM DELETION INTERVALS FOR KEY PHENOTYPES; Journal of Medical Genetics, 41:433-439

Balottin Umberto, Nicoli Francesca, Pitillo Giovanni, Ferrari Ginevra Oreste, Borgatti Renato, Lanzi Giovanni (2004); MIGRAINE AND TENSION HEADACHE IN CHILDREN UNDER 6 YEARS OF AGE; European Journal of Pain, 8:307-314

Baracca Alessandra, Solaini Giancarlo, Sgarbi Gianluca, Lenaz Giorgio, Baruzzi Agostino, Schapira Anthony H.V., Martinuzzi Andrea, Carelli Valerio (2004); SEVERE IMPAIRMENT OF COMPLEX I-DRIVEN ATP SYNTHESIS IN LEBER'S HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY CYBRIDS; Archives of Neurology, in press

Bassi Maria Teresa, Manzoni Marta, Bresciani Roberto, Pizzo Maria Teresa, Della Monica Antonella, Barlati Sergio, Monti Eugenio, Borsani Giuseppe (2004); CELLULAR EXPRESSION AND ALTERNATIVE SPLICING OF SLC25A23, A MEMBER OF THE MITOCHONDRIAL CA<sup>2+</sup>-DEPENDENT SOLUTE CARRIER PROTEIN FAMILY; Gene, in press

Battaglia Maria Amalia, Russo Emanuela, Bolla Alessandra, Chiusso Alessio, Bertelli Stefano, Pellegri Alda, Borri Gabriella, Martinuzzi Andrea (2004); INTERNATIONAL CLASSIFICATION OF FUNCTIONING, DISABILITY AND HEALTH IN A COHORT OF CHILDREN WITH COGNITIVE, MOTOR, AND COMPLEX DISABILITIES; Developmental Medicine and Child Neurology, 46,2:98-106

Begni Barbara, Brighina Laura, Sirtori Elena, Fumagalli Lorenzo, Andreoni Simona, Beretta Simone, Oster Thierry, Malaplate-Armand Catherine, Isella Valeria, Appolonio Ildebrando, Ferrarese Carlo (2003); OXIDATIVE STRESS IMPAIRS GLUTAMATE UPTAKE IN FIBROBLASTS FROM PATIENTS WITH ALZHEIMER'S DISEASE; Free Radical Biology and Medicine, 37,6:892-901



Belicchi Marzia\*, Pisati Federica\*, Lopa Raffaella, Porretti Laura, Fortunato Francesco, Sironi Manuela, Scalamogna Mario, Parati Eugenio A., Bresolin Nereo, Torrente Yvan (2004); HUMAN SKIN-DERIVED STEM CELLS MIGRATE THROUGHOUT FOREBRAIN AND DIFFERENTIATE INTO ASTROCYTES AFTER INJECTION INTO ADULT MOUSE BRAIN; *Journal of Neuroscience Research*, 77:477-486

\*Autori che hanno contribuito egualmente al lavoro

Beretta Simone, Mattavelli Laura, Sala Gessica, Tremolizzo Lucio, Schapira Anthony H.V., Martinuzzi Andrea, Carelli Valerio, Ferrarese Carlo (2004); LEBER HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY mtDNA MUTATIONS DISRUPT GLUTAMATE TRANSPORT IN CYBRID CELL LINES; *Brain*, 127:2183-2192

Borgatti Renato, Piccinelli Paolo, Montiroso Rosario, Donati Gemma, Rampani Alessandra, Molteni Laura, Tofani Annalisa, Nicoli Francesca, Zucca Claudio, Bresolin Nereo, Balottin Umberto (2004); STUDY OF ATTENTIONAL PROCESSES IN CHILDREN WITH IDIOPATHIC EPILEPSY BY CONNERS' CONTINUOUS PERFORMANCE TEST; *Journal of Child Neurology*, 19(7):509-515

Borgatti Renato, Zucca Claudio, Cavallini Anna, Ferrario Massimo, Panzeri Chris, Castaldo P., Soldovieri M.V., Baschiroto Cinzia, Bresolin Nereo, Dalla Bernardina B., Tagliatela M., Bassi Maria Teresa (2004); A NOVEL MUTATION IN KCNQ2 ASSOCIATED WITH BFNC, DRUG RESISTANT EPILEPSY, AND MENTAL RETARDATION; *Journal of Neurology*, 63(1):57-65

Bossolasco Patrizia\*, Corti Stefania\*, Strazzer Sandra, Borsotti Chiara, Del Bo Roberto, Fortunato Francesco, Salani Sabrina, Quirici Nadia, Bertolini Francesco, Gobbi Alberto, Lambertenghi Delilieri Giorgio, Comi Giacomo Pietro, Soligo Davide (2004); SKELETAL MUSCLE DIFFERENTIATION POTENTIAL OF HUMAN ADULT BONE MARROW CELLS; *Experimental Cell Research*, 295,1:66-78

\*Autori che hanno contribuito egualmente al lavoro

Cagliani Rachele, Sironi Manuela, Ciafaloni Emma, Bardoni Alessandra, Fortunato Francesco, Prella Alessandro, Serafini Massimo, Bresolin Nereo, Comi Giacomo Pietro (2004); AN INTRAGENIC DELETION/INVERSION EVENT IN THE DMD GENE DETERMINES A NOVEL EXON CREATION AND RESULTS IN A DMD PHENOTYPE; *Human Genetics*, 115:13-18

Canafoglia L., Ciano C., Panzica F., Scaioli Widmer, Zucca Claudio, Agazzi P., Visani E., Avanzini Giuliano, Franceschetti Silvana (2004); SENSORY MOTOR CORTEX EXCITABILITY IN UNVERRICHT-LUNDBORG DISEASE AND LAFORA BODY DISEASE; *Neurology*, 63:2309-2315

Cavaletti Guido, Perseghin P., Dassi M., Oggioni N., Sala F., Braga M., Lolli F., Riccio P., Carlone G., Zoia Chiara, Tagliabue Elena, Stanzani Lorenzo, Galbiati Sara, Rigamonti L., Marmiroli P., Ferrarese Carlo, Frattola Lodovico, Tredici G. (2004); EXTRACORPOREAL PHOTOCHEMOTHERAPY REDUCES THE SEVERITY OF LEWIS RAT EXPERIMENTAL ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS THROUGH A MODULATION OF THE FUNCTION OF PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS; *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 18,1:9-17

Corti Stefania, Locatelli Federica, Donadoni Chiara, Guglieri Michela, Papadimitriou Dimitra, Strazzer Sandra, Del Bo Roberto, Comi Giacomo Pietro (2004); WILD-TYPER BONE MARROW CELLS AMELIORATE THE PHENOTYPE OF SOD1-G93A ALS MICE AND CONTRIBUTE TO CNS, HEART AND SKELETAL MUSCLE TISSUES; *Brain*, 127(11):2518-2532

Crimi Marco, Papadimitriou Alexandros, Galbiati Sara, Palamidou Phani, Fortunato Francesco, Bordoni Andreina, Papandreou Urania, Papadimitriou Dimitra, Hadjigeorgiou George M., Drogari Eurydiki, Bresolin Nereo, Comi Giacomo Pietro (2004); A NEW MITOCHONDRIAL DNA MUTATION IN ND3 GENE CAUSING SEVERE LEIGH SYNDROME WITH EARLY LETHALITY; *Pediatric Research*, 55,5:842-846

Crimi Marco, Galbiati Sara, Sciacco Monica, Bordoni Andreina, Natali Maria Grazia, Raimondi Monica, Bresolin Nereo, Comi Giacomo Pietro (2004); MITOCHONDRIAL-DNA NUCLEOTIDES 4298 AND 10010 AS PATHOGENIC MUTATION: THE CONFIRMATION IN TWO NEW CASES; *Mitochondrion*, in press

Donadoni Chiara, Corti Stefania, Locatelli Federica, Papadimitriou Dimitra, Guglieri Michela, Strazzer Sandra, Bossolasco Patrizia, Salani Sabrina, Comi Giacomo Pietro (2004); IMPROVEMENT OF COMBINED FISH AND IMMUNOFLUORESCENCE TO TRACE THE FATE OF SOMATIC STEM CELLS AFTER TRANSPLANTATION; *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 52(10):1333-1339

Fabbro Franco, Tavano Alessandro, Corti Stefania, Bresolin Nereo, De Fabritiis Paola, Borgatti Renato (2004); LONG-TERM NEUROPSYCHOLOGICAL DEFICITS AFTER CEREBELLAR INFARCTIONS IN TWO YOUNG ADULT TWINS; *Neuropsychologia*, 42,4:536-545

Facheris Maurizio, Beretta Simone, Ferrarese Carlo (2004); PERIPHERAL MARKERS OF OXIDATIVE STRESS AND EXCITOTOXICITY IN NEURODEGENERATIVE DISORDERS: TOOLS FOR DIAGNOSIS AND THERAPY?; *Journal of Alzheimer's Disease*, 6(2):177-184

Falcone Sestina, Perrotta Cristiana, De Palma Clara, Pisconti Addolorata, Sciorati Clara, Capobianco Annalisa, Rovere-Querini Patrizia, Manfredi Angelo A., Clementi Emilio (2004); ACTIVATION OF ACID SPHINGOMYELINASE AND ITS INHIBITION BY THE NITRIC OXIDE/CYCLIC GUANOSINE 3',5'-MONOPHOSPHATE PATHWAY: KEY EVENTS IN ESCHERICHIA COLI-ELICITED APOPTOSIS OF DENDRITIC CELLS; *Journal of Immunology (The)*, 173:4452-4463

Frigerio Alessandra, Cattaneo Carmen, Cataldo Maria Giulia, Schiatti Alessia, Molteni Massimo, Battaglia Marco (2004); BEHAVIORAL AND EMOTIONAL PROBLEMS AMONG ITALIAN CHILDREN AND ADOLESCENTS AGED 4 TO 18 YEARS AS REPORTED BY PARENTS AND TEACHERS; *European Journal of Psychological Assessment*, 20,2:124-133

Gorio Alfredo, Torrente Yvan, Madaschi L., Di Stefano A.B., Pisati Federica, Marchesi C., Belicchi Marzia, Di Giulio A.M., Bresolin Nereo (2004); FATE OF AUTOLOGOUS DERMAL STEM CELLS TRANSPLANTED INTO THE SPINAL CORD AFTER TRAUMATIC INJURY (TSCI); *Neuroscience*, 125,1: 179-189

GRIT Study Group (Mani Elisa) (2004); INFANT WELLBEING AT 2 YEARS OF AGE IN THE GROWTH RESTRICTION INTERVENTION TRIAL (GRIT): MULTICENTRED RANDOMISED CONTROLLED TRIAL; *Lancet*, 364:513-520

Longatti Pierluigi, Fiorindi Alessandro, Martinuzzi Andrea (2004); FAILURE OF ENDOSCOPIC THIRD VENTRICULOSTOMY IN THE TREATMENT OF IDIOPATHIC NORMAL PRESSURE HYDROCEPHALUS; *Minimally Invasive Neurosurgery*, in press

Lorusso Maria Luisa, Facoetti Andrea, Molteni Massimo (2004); HEMISPHERIC, ATTENTIONAL, AND PROCESSING SPEED FACTORS IN THE TREATMENT OF DEVELOPMENTAL DYSLEXIA; *Brain and Cognition*, 55:341-348

Lorusso Maria Luisa, Facoetti Andrea, Toraldo Alessio, Molteni Massimo (2004) TACHISTOSCOPIC TREATMENT OF DYSLEXIA CHANGES THE DISTRIBUTION OF VISUAL SPATIAL ATTENTION; *Brain and Cognition*, in press

Lorusso Maria Luisa, Facoetti Andrea, Pesenti Silvia, Cattaneo Carmen, Molteni Massimo, Geiger Gadi (2004); WIDER RECOGNITION IN PERIPHERAL VISION COMMON TO DIFFERENT SUBTYPES OF DYSLEXIA; *Vision Research*, 44(20):2413-2424

Manzoni Marta, Monti Eugenio, Bresciani Roberto, Bozzato A., Barlati Sergio, Bassi Maria Teresa, Borsani Giuseppe (2004); OVEREXPRESSION OF WILD-TYPE AND MUTANT MUCOLIPIN PROTEINS IN MAMMALIAN CELLS: EFFECTS ON THE LATE ENDOCYTIC COMPARTMENT ORGANIZATION; *Febs Letters*, 567:219-224

Marino Cecilia, Vanzin Laura, Giorda Roberto, Frigerio Alessandra, Lorusso Maria Luisa, Nobile Maria, Molteni Massimo, Battaglia Marco (2004); AN ASSESSMENT OF TRANSMISSION DISEQUILIBRIUM BETWEEN QUANTITATIVE MEASURES OF CHILDHOOD PROBLEM BEHAVIORS AND DRD2/TAQ1 AND DRD4/48BP-REPEAT POLYMORPHISMS; *Behavior Genetics*, 34,5:495-502

Marino Cecilia, Giorda Roberto, Lorusso Maria Luisa, Vanzin Laura, Salandi Antonio, Nobile Maria, Citterio Alessandra, Beri Silvana, Crespi Valentina, Battaglia Marco, Molteni Massimo (2004); A FAMILY-BASED ASSOCIATION STUDY DOES NOT SUPPORT DYX1C1 ON 15q21.3 AS A CANDIDATE GENE IN DEVELOPMENTAL DYSLEXIA; *European Journal of Human Genetics*, in press

Marzocchi Gian Marco, Capron Christiane, Di Pietro Mario, Duran Tauleria Enric, Duyme Michel, Frigerio Alessandra, Gaspar Maria Filomena, Hamilton Helena, Pithon Gerard, Simoes Alexandra, Therond Carine (2004); THE USE OF THE STRENGTHS AND DIFFICULTIES QUESTIONNAIRE (SDQ) IN SOUTHERN EUROPEAN COUNTRIES; *European Child and Adolescent Psychiatry*, 13,2:40-46

Monti Eugenio, Bassi Maria Teresa, Bresciani Roberto, Civini Sara, Croci G.L., Papini N., Riboni M., Zanchetti G., Ballabio A., Preti A., Tettamanti G., Venerando B., Borsani Giuseppe (2004); MOLECULAR CLONING AND CHARACTERIZATION OF NEU4, THE FOURTH MEMBER OF THE HUMAN SIALIDASE GENE FAMILY; *Genomics*, 83:445-453

Nisoli Enzo, Clementi Emilio, Tonello Cristina, Moncada Salvador, Carruba Michele O. (2004); CAN ENDOGENOUS GASEOUS MESSENGERS CONTROL MITOCHONDRIAL BIOGENESIS IN MAMMALIAN CELLS?; Prostaglandins and other Lipid Mediators, 73:9-27

Nisoli Enzo, Falcone Sestina, Tonello Cristina, Cozzi Valeria, Palomba Letizia, Fiorani Mara, Pisconti Addolorata, Brunelli Silvia, Cardile Annalisa, Francolini Maura, Cantoni Orazio, Carruba Michele O., Moncada Salvador, Clementi Emilio (2004); MITOCHONDRIAL BIOGENESIS BY NO YIELDS FUNCTIONALLY ACTIVE MITOCHONDRIA IN MAMMALS; Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS), 101,47:16507-16512

Perrotta Cristiana, Falcone Sestina, Capobianco Annalisa, Camporeale Annalisa, Sciorati Clara, De Palma Clara, Pisconti Addolorata, Rovere-Querini Patrizia, Bellone Matteo, Manfredi Angelo A., Clementi Emilio (2004); NITRIC OXIDE CONFERS THERAPEUTIC ACTIVITY TO DENDRITIC CELLS IN A MOUSE MODEL OF MELANOMA; *Cancer Research*, 64:3767-3771

Pineda Marta, Font Mariona, Bassi Maria Teresa, Manzoni Marta, Borsani Giuseppe, Marigo Valeria, Fernandez Esperanza, Del Rio Rafael Martin, Purroy Jesus, Zorzano Antonio, Nunez Virginia, Palacin Manuel (2004); THE AMINO ACID TRANSPORTER ASC-1 IS NOT INVOLVED IN CYSTINURIA; *Kidney International*, 66,4:1453-1464

Pitto Marina, Raimondo Francesca, Zoia Chiara, Brighina Laura, Ferrarese Carlo, Masserini Massimo (2004); ENHANCED GM1 GANGLIOSIDE CATABOLISM IN CULTURED FIBROBLASTS FROM ALZHEIMER PATIENTS; *Neurobiology of Aging*, in press

Poggi Geraldina, Liscio Mariarosaria, Galbiati Susanna, Adduci Annarita, Massimino Maura, Gandola Lorenza, Spreafico Filippo, Clerici Carlo Alfredo, Fossati-Bellani Maura, Sommovigo Michela, Castelli Enrico (2004); BRAINTUMORS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS: COGNITIVE AND PSYCHOLOGICAL DISORDERS AT DIFFERENT AGES; *Psycho-Oncology*, 13, in press

Pozzoli Uberto, Riva Laura, Menozzi Giorgia, Cagliani Rachele, Comi Giacomo Pietro, Bresolin Nereo, Giorda Roberto, Sironi Manuela (2004); OVER-REPRESENTATION OF EXONIC SPLICING ENHANCERS IN HUMAN INTRONLESS GENES SUGGESTS MULTIPLE FUNCTIONS IN mRNA PROCESSING; *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 322,2:470-476

Pramparo Tiziano, Giglio Sabrina, Gregato Giuliana, De Gregori Manuela, Patricelli Maria Grazia, Ciccone Roberto, Scappaticci Susi, Mannino Gaetano, Lombardi Claudio, Pirola Barbara, Giorda Roberto, Rocchi Mariano, Zuffardi Orsetta (2004); INVERTED DUPLICATIONS: HOW MANY OF THEM ARE MOSAIC?; *European Journal of Human Genetics*, 12,9:713-717

Reni Gianluigi, Molteni Massimo, Arlotti Stefano, Pincioli Francesco (2004); CHIEF MEDICAL OFFICER ACTIONS ON INFORMATION SECURITY IN AN ITALIAN REHABILITATION CENTRE; *International Journal of Medical Informatics*, 73,3:271-279

Sala Gessica, Beretta Simone, Ceresa Chiara, Mattavelli Laura, Zoia Chiara, Tremolizzo Lucio, Ferri Alberto, Carrì Maria Teresa, Ferrarese Carlo (2004); IMPAIRMENT OF GLUTAMATE TRANSPORT AND INCREASED VULNERABILITY TO OXIDATIVE STRESS IN NEUROBLASTOMA SH-SY5Y CELLS EXPRESSING A CU,ZN SUPEROXIDE DISMUTASE TYPICAL OF FAMILIAL AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS; *Neurochemistry International*, in press

Salani Sabrina, Lucchiari Sabrina, Fortunato Francesco, Crimi Marco, Corti Stefania, Locatelli Federica, Bossolasco Patrizia, Bresolin Nereo, Comi Giacomo Pietro (2004); DEVELOPMENTAL AND TISSUE-SPECIFIC REGULATION OF A NOVEL DYSFERLIN ISOFORM; *Muscle & Nerve*, 30,3 :366-374

Sironi Manuela, Menozzi Giorgia, Riva Laura, Cagliani Rachele, Comi Giacomo Pietro, Bresolin Nereo, Giorda Roberto, Pozzoli Uberto (2004); SILENCER ELEMENTS AS POSSIBLE INHIBITORS OF PSEUDOEXON SPLICING; *Nucleic Acids Research*, 32,5:1783-1791

Torrente Yvan, Belicchi Marzia, Sampaolesi Maurilio, Pisati Federica, Meregalli Mirella, D'Antona Giuseppe, Tonlorenzi Rossana, Porretti Laura, Gavina Manuela, Mamchaoui Kamel, Pellegrino M. Antonietta, Furling Denis, Mouly Vincent, Butler-Browne Gillian S., Bottinelli Roberto, Cossu Giulio, Bresolin Nereo (2004); HUMAN CIRCULATING AC133+ STEM CELLS RESTORE DYSTROPHY EXPRESSION AND AMELIORATE FUNCTION IN DYSTROPHIC SKELETAL MUSCLE; *Journal of Clinical Investigation*, 114,2:182-195

Trotta Nick\*, Orso Genny\*, Rossetto Maria Giovanna, Daga Andrea, Broadie Kendal (2004); THE HEREDITARY SPASTIC PARAPLEGIA GENE, SPASTIN, REGULATES MICROTUBULE STABILITY TO MODULATE SYNAPTIC STRUCTURE AND FUNCTION; *Current Biology*, 14(13):1135-1147

\*Autori che hanno contribuito egualmente al lavoro

Vicari Stefano, Bates Elisabeth, Caselli Maria Cristina, Pasqualetti Patrizio, Gagliardi Chiara, Tonucci Francesca, Volterra Virginia (2004); NEUROPSYCHOLOGICAL PROFILE OF ITALIANS WITH WILLIAMS SYNDROME: AN EXAMPLE OF A DISSOCIATION BETWEEN LANGUAGE AND COGNITION?; *Journal of the International Neuropsychological Society*, 10:862-876

Zanini S., Tavano Alessandro, Vorano Lorenza, Schiavo F., Gigli G.L., Aglioti Salvatore, Fabbro Franco (2004); GREATER SYNTACTIC IMPAIRMENTS IN NATIVE LANGUAGE IN BILINGUAL PARKINSONIAN PATIENTS; *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 75:1678-1681

Zoia Chiara, Cogliati Tiziana, Tagliabue Elena, Cavaletti Guido, Sala Gessica, Galimberti Gloria, Rivolta Iliaria, Rossi Vincenzo, Frattola Lodovico, Ferrarese Carlo (2004); GLUTAMATE TRANSPORTES IN PLATELETS: EAAT1 DECREASE IN AGING AND IN ALZHEIMER'S DISEASE; *Neurobiology of Aging*, 25,2:149-157

Zoia Chiara, Tagliabue Elena, Isella Valeria, Begni Barbara, Fumagalli Lorenzo, Brighina Laura, Appollonio Ildebrando, Racchi Marco, Ferrarese Carlo (2004); FIBROBLAST GLUTAMATE TRANSPORT IN AGING AND IN AD: CORRELATIONS WITH DISEASE SEVERITY; *Neurobiology of Aging*, in press

### Articoli pubblicati su riviste non recensite

Basile Emanuele, Fara Donatella (2004); DINAMICHE FAMILIARI NEI DISTURBI D'ANSIA DELL'ETA' EVOLUTIVA; *Saggi - Child Development & Disabilities*, 4:57-76

Bearzotti Federica, Tavano Alessandro, Pecile P., Skrap Miran, Fabbro Franco (2004); NEUROPSYCHOLOGICAL AND LANGUAGE DISORDERS IN 12 CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH BRAIN TUMOR; *Saggi - Child Development & Disabilities*, 2:69-84

Boscarato Paolo, Vestri Alec, Pasini Paola, Giurati Raffaella, Martinuzzi Andrea (2004); UN'ESPERIENZA DI INTEGRAZIONE DEI CENTRI AUSILI CON I SERVIZI DI RIABILITAZIONE; *Saggi - Child Development & Disabilities*, 1:41-52

Brambilla Daniele (2004); L'OCULAR TILT REACTION; *Otoneurologia* 2000, 16, marzo: 28-31

Citterio Alessandra, Marino Cecilia (2004); LA GENETICA DELLA DISLESSIA; DA - dalla Diversità alla Diversa Abilità, 3:64-72

Galbusera Carmen, Facheris Maurizio, Magni Fulvio, Galimberti Gloria, Sala Gessica, Tremolada Celestina, Isella Valeria, Guerini Franca Rosa, Appollonio Ildebrando, Gallikienle Marzia, Ferrarese Carlo (2004); INCREASED SUSCEPTIBILITY TO PLASMA LIPID PEROXIDATION IN ALZHEIMER DISEASE PATIENTS; *Current Alzheimer Research*, 1:103-109

Guerreschi Massimo, Fassina Marco (2004); OBIETTIVO "ACCESSIBILITÀ"; *Saggi - Child Development & Disabilities*, 1: 11-30

Guerreschi Massimo, Milani Enrica, Gheller Fausto (2004); UN'ESPERIENZA DI FACILITAZIONE INFORMATICA DELLA COMUNICAZIONE; *Saggi - Child Development & Disabilities*, 1:61-78

Guerreschi Massimo (2004); SCHOOL RE-ENTRY; *Saggi - Child Development & Disabilities*, 3:35-41

Liscio Mariarosaria, Adduci Annarita (2004); COGNITIVE-BEHAVIORAL THERAPY: CLINICAL EXPERIENCES; *Saggi - Child Development & Disabilities*, 3:43-49

Martinuzzi Andrea, Battaglia Maria Amalia (2004); TREATMENT OF SENSORIMOTOR AND SENSORIAL DEFICITS IN PEDIATRIC NEURO-ONCOLOGY; *Saggi - Child Development & Disabilities*, 3:15-18

Poggi Geraldina (2004); THE PSYCHOLOGICAL SEQUELAE OF BRAIN TUMOR IN PEDIATRIC PATIENTS; *Saggi - Child Development & Disabilities*, 3:19-28

**Letters pubblicate su riviste recensite**

Bassi Maria Teresa, Bresolin Nereo, Tonelli Alessandra, Nazos K., Crippa Francesca, Baschiroto Cinzia, Zucca Claudio, Bersano A., Dolcetta D, Martinelli Boneschi Filippo, Barone V., Casari G. (2004); A NOVEL MUTATION IN THE ATP1A2 GENE CAUSES ALTERNATING HEMIPLEGIA OF CHILDHOOD; *Journal of Medical Genetics*, 41:621-628 Letter to the Editor

Cagliani Rachele, Comi Giacomo P. (2004); A CAV3 MICRO-DELETION DIFFERENTIALLY AFFECTS SKELETAL MUSCLE AND MYOCARDIUM; *Neurology*, 63, Letter to the Editor in press

Giorda Roberto, Cerritello Abramo, Bonaglia Maria Clara, Bova Stefania, Lanzi Giovanni, Repetti Elena, Giglio Sabrina, Baschiroto Cinzia, Pramparo Tiziano, Avolio Luigi, Bragheri Romano, Maraschio Paola, Zuffardi Orsetta (2004); SELECTIVE DISRUPTION OF MUSCLE AND BRAIN-SPECIFIC BPAG1 ISOFORMS IN A GIRL WITH A 6;15 TRANSLOCATION, COGNITIVE AND MOTOR DELAY AND TRACHEO-OESOPHAGEAL ATRESIA; *Journal of Medical Genetics*, 41,6: E71 Electronic Letter

Marino Cecilia, Giorda Roberto, Vanzin Laura, Nobile Maria, Lorusso Maria Luisa, Baschiroto Cinzia, Riva Laura, Molteni Massimo, Battaglia Marco (2004); A LOCUS ON 15Q15-15QTER INFLUENCES DYSLEXIA: FURTHER SUPPORT FROM A TRANSMISSION/DISEQUILIBRIUM STUDY IN AN ITALIAN SPEAKING POPULATION; *Journal of Medical Genetics*, 41:42-46 Letter to the Editor

Zucca Claudio, Borgatti Renato, Radice Lucia (2004); RETROSPECTIVE DIAGNOSIS OF CONGENITAL CYTOMEGALOVIRUS INFECTION AND CORTICAL MALDEVELOPMENT; *Neurology*, 2:1453-1454 Letter to the Editor

**Reports e simili pubblicati su riviste recensite**

Carelli Valerio, Rugolo Michela, Sgarbi Gianluca, Ghelli Anna, Zanna Claudia, Baracca Alessandra, Lenaz Giorgio, Napoli Eleonora, Martinuzzi Andrea, Solaini Giancarlo (2004); BIOENERGETICS SHAPES CELLULAR DEATH PATHWAYS IN LEBER'S HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY: A MODEL OF MITOCHONDRIAL NEURODEGENERATION; *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 1658,1-2:172-179 - Review

Longatti Pierluigi, Martinuzzi Andrea, Fiorindi Alessandro, Maistrello L., Carteri Alessandro (2004); NEUROENDOSCOPIC MANAGEMENT OF INTRAVENTRICULAR HEMORRHAGE; *Stroke*, 35,1:E35-E38 Research Report

Nisoli Enzo, Clementi Emilio, Moncada Salvador, Carruba Michele O. (2004); MITOCHONDRIAL BIOGENESIS AS A CELLULAR SIGNALING FRAMEWORK; *Biochemical Pharmacology*, 67:1-15 Commentary

Nobile Maria, Cataldo Maria Giulia, Giorda Roberto, Battaglia Marco, Baschiroto Cinzia, Bellina Monica, Marino Cecilia, Molteni Massimo (2004); A CASE-CONTROL AND FAMILY-BASED ASSOCIATION STUDY OF THE 5-HTTLPR IN PEDIATRIC-ONSET DEPRESSIVE DISORDERS; *Biological Psychiatry*, 56,4:292-295 Brief Report

**Libri o capitoli di libri**

Fabbro Franco (2004); "NEUROGENIC LANGUAGE DISORDERS IN CHILDREN"; Oxford, UK, Elsevier

Guerreschi Massimo, Fassina Marco (2004); UNA CASA PIÙ FACILE - piccola guida per una migliore accessibilità domestica

Maino Eleonora (2004); INTIMACY IN COUPLES: EVALUATING A WORKBOOK; Chapter 13, in L'Abate Luciano "USING WORKBOOKS IN MENTAL HEALTH", Binghamton, NY, USA, The Haworth Reference Press, pagg. 265-280

Maino Eleonora, Pasinato Silvia, Fara Donatella, Talpone Umberto, Molteni Massimo (2004); COUPLES WITH A HANDICAPPED CHILD: EXPERIENCING INTIMACY; Chapter 16, in L'Abate Luciano "USING WORKBOOKS IN MENTAL HEALTH", Binghamton, The Haworth Reference Press, pagg. 327-347

Montirosso Rosario, Pupino Chiara, Borgatti Renato (2004); MENTALIZZAZIONE DELLE EMOZIONI IN ADOLESCENZA: ANALISI DEI PROCESSI NARRATIVI; in "LA COMPETENZA EMOTIVA" a cura di Ilaria Grazzani Gavazzi; Milano, Edizioni Unicopli, pagg. 243-273

Sartori Irene, con la supervisione di Milena Cannao (2004); ESPERIENZE IN... LOGOPEDIA. Una proposta di lavoro per la comunicazione alternativa; IRCCS "E. Medea Associazione La Nostra Famiglia

**Comunicazioni Scientifiche pubblicate su riviste recensite**

Carelli Valerio, Ghelli Anna, Baracca Alessandra, Zanna Claudia, Sgarbi Gianluca, Martinuzzi Andrea (2004); SEVERE DEFECT OF COMPLEX I-DEPENDENT ATP SYNTHESIS SHAPES THE MITOCHONDRIA-DRIVEN PATH OF APOPTOTIC CELL DEATH IN LEBER'S HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY (LHON); Abstract 56th Annual Meeting American Academy of Neurology, San Francisco, CA, 24/4-1/5/2004; Neurology, 62,7(S5):A62

Carelli Valerio, Rugolo Michela, Sgarbi Gianluca, Ghelli Anna, Zanna Claudia, Baracca Alessandra, Lenaz Giorgio, Napoli Eleonora, Martinuzzi Andrea, Solaini Giancarlo (2004); BIOENERGETICS SHAPES CELLULAR DEATH PATHWAYS IN LEBER'S HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY (LHON): A MODEL OF MITOCHONDRIAL NEURODEGENERATION; Abstract Book 13th European Bioenergetics Conference, Pisa, 21-26/08/2004; Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics, 13:58

Carelli Valerio, Ghelli Anna, Baracca Alessandra, Zanna Claudia, Sgarbi Gianluca, Solaini Giancarlo, Lenaz Giorgio, Rugolo Michela, Martinuzzi Andrea (2004); SEVERE DEFECT OF COMPLEX I-DEPENDENT ATP SYNTHESIS SHAPES THE MITOCHONDRIA-DRIVEN PATH OF APOPTOTIC CELL DEATH IN LEBER'S HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY; Abstract P-126 - Abstract Book EUROMIT6, Nijmegen, The Netherlands, 1-4/7/2004; Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics; pag. 70

**Comunicazioni Scientifiche pubblicate su riviste non recensite o in Atti**

Milani Orietta, Molteni Massimo, Morosini Margherita, Viglienghi Francesco (2004); LA PREVENZIONE DEL RISCHIO INFETTIVO IN RIABILITAZIONE; Abstract A55 1° Congresso Nazionale SIMPIOS (Società Italiana Multidisciplinare per la Prevenzione delle Infezioni nelle Organizzazioni Sanitarie) Bergamo, 20-22 Maggio 2004; Giornale Italiano delle Infezioni Ospedaliere, 11, Suppl. al n. 1:11-12

Patrosso M.C., Lando G., Penco S., Maldera U., Mazzocca M., Manfredini E., Marocchi A., Giorda Roberto, Brambilla Daniele, Primignani P., Perroni L., Castorina Pierangela, Ambrosetti U., Lalatta F. (2004); AN INTERDISCIPLINARY APPROACH TO IMPROVE THE ETIOLOGIC DIAGNOSIS OF DEAFNESS IN INFANTS; Book of Abstracts - Poster Session I - N. 2 - NHS 2004 - The International Conference on Newborn Hearing Screening Diagnosis and Intervention, Villa Erba, Como, 27-29.05.2004

Russo Emanuela, Battaglia Maria Amalia, Viel Danila, Perilongo G., Viscardi E., Martinuzzi Andrea (2004); COGNITIVE AND PSYCHOLOGICAL REHABILITATION WITH A GROUP OF PATIENTS WITH BRAIN TUMOR; Abstract First Congress of the European Neuropsychological Societies, Modena, 18-20/4/2004; pag. 208

Zanotta Nicoletta, Radice Lucia, Degrate Alessandro, Zucca Claudio (2004); EPILESSIE SINTOMATICHE FARMACORESISTENTI: CARATTERISTICHE ELETTROENCEFALOGRAFICHE; Atti Congresso LICE 2004; Bollettino Lega Italiana Contro l'Epilessia, 125/126:223-224

Zucca Claudio, Radice Lucia, Bettinelli A. (2004); TRATTAMENTO CON VALPROATO DI SODIO ED EFFETTI INDESIDERATI NEFROLOGICI; Abstract Congresso LICE 2004; Bollettino Lega Italiana contro l'Epilessia, 125/126:47-49

## BREVETTI DI INVENZIONE INDUSTRIALE

Nel corso dell'anno 2003, l'Istituto ha depositato i seguenti brevetti d'invenzione industriale:

### **Nazionale**

*Titolare:* IRCCS "Eugenio Medea" Associazione La Nostra Famiglia

*Inventori:* CAVALLERI Matteo

° Perito informatico dipendente dall'11/05/1993

*Titolo:* **Dispositivo di comando per elaboratori elettronici, in particolare per l'emulazione di un mouse.**

*Data deposito:* 25.03.2003

N. della domanda/Appln. No. MI2003A000583

### **Breve descrizione:**

Il dispositivo di comando per elaboratori elettronici permette l'uso di un tipico calcolatore elettronico dotato di interfaccia grafica (GUI) mediante l'emulazione di un mouse completamente comandato con i movimenti del capo.

Tale apparecchiatura è stata realizzata utilizzando dispositivi che impiegano una tecnologia innovativa (M.E.M.S.), caratterizzati da una miniaturizzazione spinta di elementi semiconduttori in congiunzione con elementi elettromeccanici.

In particolare i dispositivi impiegati integrano un considerevole numero di strutture di silicio che godono di alcuni gradi di libertà di movimento all'interno del dispositivo stesso.

La posizione di tali strutture può venire elettrostaticamente impostata con frequenze molto elevate, consentendo poi la rilevazione di accelerazioni costanti.

È dunque possibile rilevare anche minimi spostamenti del capo nelle quattro direzioni utilizzando un dispositivo dal peso e volume estremamente ridotti.

È stato messo a punto un metodo di navigazione innovativo che permette di utilizzare i quattro ingressi direzionali sia per la movimentazione del cursore sia per la selezione con pulsanti diversi.

Sino ad ora infatti dispositivi simili richiedevano un ingresso ulteriore rispetto ai quattro utilizzati per identificare gli spostamenti nelle quattro direzioni, al fine di simulare la pressione dei pulsanti di selezione del mouse.



**Nazionale**

*Titolare:* IRCCS "Eugenio Medea" Associazione La Nostra Famiglia

*Inventori:* **CAVALLERI Matteo**<sup>°</sup>, **RENI Gianluigi**\*

<sup>°</sup> Perito informatico dipendente dall'11/05/1993

\* Bioingegnere consulente dallo 02/04/1999

**Titolo: Apparecchiatura per fornire informazioni di guida ed orientamento, in particolare per pazienti in Istituti di cura**

*Data deposito:* 30.04.2003

N. della domanda/Appln. No. MI2003A000880

**Breve descrizione:**

In questi ultimi anni sono stati realizzati alcuni sistemi di guida per non vedenti basati su differenti tecnologie. Purtroppo i sistemi sino ad ora realizzati presentano diversi svantaggi tra cui soprattutto gli alti costi da sostenere per la cablatura ed il relativo impatto sull'ambiente da attrezzare.

Il dispositivo oggetto di brevetto è un sistema di guida in grado di fornire funzioni di: a) NAVIGAZIONE : capacità di segnalare in anticipo la presenza di ostacoli fissi come scale, rampe, sciogli; b) ORIENTAMENTO: possibilità di conoscere la propria posizione all'interno dell'ambiente attrezzato; c) GUIDA: possibilità di predisporre molteplici percorsi lungo i quali il paziente potrà essere "accompagnato automaticamente".

Il dispositivo è portatile e dispone di un'interfaccia verso l'utente basata sulla sintesi vocale. Può essere facilmente utilizzato da qualunque tipologia di soggetti, ad esempio soggetti non vedenti, soggetti vedenti con difficoltà di orientamento spaziale, soggetti normodotati.

Il sistema è costituito da un wearable-device, in dotazione al paziente, e da una serie di guide-points che operano come transponder e che vengono strategicamente dislocati in prossimità di bivi, raccordi, punti particolarmente importanti o pericolosi, facilmente montabili a parete senza richiedere la posa di cavi di alimentazione o per trasmissione dati. L'impostazione o la variazione dei percorsi, dei messaggi di allerta e di orientamento non richiede agli operatori alcuna interazione ambientale con le zone già attrezzate con guide-point.

**TRIALS CLINICI REALIZZATI  
O IN CORSO DI REALIZZAZIONE**

1) **TITOLO:** Open naturalistic individual dose optimisation trial assessing tolerability and efficacy of **topiramate** monotherapy in recently diagnosed patients with epilepsy who are treatment naive or have failed one anti-epileptic drug treatment in monotherapy

Codice dello studio: TOP- EMEA- 1 (PRI/TOP - INT- 51)

Approvato dal Comitato Etico dell'Istituto

Fase: IIIb/IV

Casa farmaceutica coinvolta: Sponsor: Janssen-Cilag

2) **TITOLO:** Open-label, randomized, parallel-group multicenter study comparing two methods, "immediate" versus "progressive", of switching treatment to **oxcarbazepine** (Tolep) monotherapy in patients with partial seizures unsatisfactorily treated with carbamazepine monotherapy

Codice dello studio: CTRI476BIT01

Approvato dal Comitato Etico dell'Istituto

Fase: IV

Casa farmaceutica coinvolta: Novartis

3) **TITOLO:** An assessor-blind, prospective, randomised chronic study to compare the long term efficacy and safety of two differing Dysport dosage regimens of lower limb spasticity in children with cerebral palsy

Codice dello studio: DYSP/041

Approvato dal Comitato Etico dell'Istituto

Casa Farmaceutica: IPSEN

4) **TITOLO:** Studio osservazionale sul disturbo da Deficit dell'Attenzione e Iperattività in Europa (ADORE)

Codice dello studio: B4ZEW S006

Approvato dal Comitato Etico dell'Istituto

Casa farmaceutica coinvolta: Ely Lilly - Italia

5) **TITOLO:** Pilot Study of ACE-inihibitor ramipril in McArdle's disease

Codice dello studio: B4ZEW S006

Approvato dal Comitato Etico dell'Istituto

Casa farmaceutica coinvolta: Aventis Pharma

6) **TITOLO:** An Italian Randomised, Double-blind Placebo Controlled Study of the Efficacy of Atomoxetine Hydrochloride in the Treatment of Children and Adolescents with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Comorbid Oppositional Defiant Disorder

Codice dello studio: B4Z-ITLYLY

Approvato dal Comitato Etico dell'Istituto

Casa farmaceutica coinvolta: Ely Lilly - Italia

In fase di definizione

## LINEE GUIDA

L'IRCCS "Eugenio Medea" ha sviluppato le seguenti linee guida:

- Linee guida riabilitazione Paralisi Cerebrali Infantili (SIMFER, SINPIA) approvate dal Ministero e pubblicate
- Linee guida riabilitazione neuromuscolari infantili (SIMFER) approvate dal Ministero pubblicate.

*Referente: Dr.ssa Anna Carla Turconi Polo Scientifico di Bosisio Parini*

Ha inoltre prodotto:

- Revisione e adattamenti terapeutici per l'età evolutiva per la classificazione ICF Gruppo di lavoro OMS

*Referente: Dr. Andrea Martinuzzi - Polo Scientifico di Conegliano Veneto*

## COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI E NAZIONALI

L'attività di ricerca, in questo ultimo triennio, ha portato a diverse collaborazioni con Istituti, Università ed Enti di ricerca sia italiani che stranieri.

### Collaborazioni Internazionali

- Albert Einstein College New York (Usa)
- Associazione La Nostra Famiglia di SANTANA (Brasile)
- Centre Médico-Chirurgicale Foche, Suresnes Cedex, Paris
- Cornelia De Lange Syndrome Foundation, Collinsville, CT, USA
- Dartmouth College, USA
- Department of Human Genetics, University of Chicago, USA
- Department of Neurology, Neurosurgery and Neurolingu, McGill University, Montreal, Canada
- Department of Genetics and Harvard Medical School, Boston, USA
- Department of Neurobiochemistry, Max-Planck Institute of Psychiatry, Germania
- Department of Neurology, University of Minnesota Medical School, Minneapolis, Minnesota, USA
- Department of Uro-Neurology, The National Hospital for Neurology and Neurosurgery, London, UK
- Department of Psychiatry, University of Vermont, USA
- Dipartimento di Neurologia Pediatrica, Università Cattolica di Lovanio, Cliniques Universitaires Saint Luc, Bruxelles
- Division of Neurogenetics, Department of Neurology, Beth Israel Deaconess Medical Center and Biological and Biomedical Sciences, Harvard Medical School, Boston MA, USA
- Eskeskoln, Orebro, Svezia
- Gillette Children Speciality Healthcare, University of Minnesota, Saint Paul Minnesota, USA
- Institut de Réadaptation en Déficience Physique de Québec, Québec, Canada

- Institute of Ophthalmology, University of Nimega, The Netherlands
- Institute of Cognitive Neuroscience, University College, London, UK
- Karolinska Hospital, Stoccolma, Sweden
- Laboratoire de Neuro-Heuristique de l'Institut de Physiologie de la Faculté de Médecine de l'Université de Lausanne - CH
- Massachusetts Institute of Technology, Boston, USA
- Medical Center/ Wilhelmina Child Hospital Utrecht, The Netherlands
- MRC, Cambridge, UK
- National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA
- Perception Laboratory, School of Psychology, St. Andrews University, Edinburgh, UK
- Research Centre for the Education of Visually Handicapped, University of Birmingham, UK
- Sahlgrenska University, Hospital of Gotheborg, Svezia
- School of Biological Sciences, Division of Biochemistry, Royal Holloway, University of London, UK
- Service de Neurologie et de Rééducation Infantile - Hopital Raymond Poincaré, Paris
- Unité de Recherche en Genetique Humaine, Centre de Recherche du Pavillon CHUL, Centre Hospitalier Universitaire du Québec, Sainte-Foy, Québec, Canada
- Unità di Scienze Cognitive CNRS - Francia
- Università di Anversa, Dipartimento di Neurologia
- Università Libera di Bruxelles, Dipartimento di Neuropsicologia
- Università di Cambridge, UK
- Università di Ginevra, CH
- Università di Liegi, Dipartimento di Psicologia del Linguaggio
- Università Emory, Facoltà di Medicina - Atlanta (USA), Prof. Jerrold L. Vitek
- Università di Tirana

### **Collaborazioni Nazionali**

- AISIWH - Associazione Italiana Sindrome di Wolf-Hirshborn
- ASL di Brindisi
- ASL di Lecco
- ASL di Otranto
- Associazione Italiana di Volontariato Cornelia De Lange, Pesaro
- Associazione Italiana per la Sindrome di Moebius
- Azienda Ospedaliera "S. Maria della Misericordia", Udine - Unità Operativa di Neurochirurgia
- Azienda Ospedaliera di Bergamo - U.O. di Neuropsichiatria Infantile e dell'Adolescenza
- Azienda Ospedaliera "S. Paolo", Unità Operativa di Neuropsichiatria per l'Infanzia e l'Adolescenza, Milano
- Centri di accoglienza per minori immigrati - Regione Puglia
- CNR, Centro Nazionale delle Ricerche, Milano - Istituto di Tecnologie Biomediche Avanzate
- CNR, Centro Nazionale delle Ricerche, Pavia - Istituto di Genetica e Biologia Evoluzionistica
- Centro Regionale dell'Epilessia dell'Età Evolutiva, Milano
- CUM, Comunità Università del Mediterraneo
- Dipartimento di Bioingegneria, Politecnico, Milano
- Telethon Institute of Genetics and Medicine, TIGEM, Milano
- Telethon Institute of Genetics and Medicine - Napoli
- Politecnico di Milano - Laboratorio di Movement Analysis
- E.R.M.I. (Ente Regionale per i Problemi dei Migranti Friuli Venezia Giulia)
- Gruppo Gipci, Milano
- Institute for Systems, Informatics and Safety, Joint Research Centre, Ispra, Varese
- IRCCS Fondazione Salvatore Maugeri, Cassano delle Murge, Bari
- IRCCS Giannina Gaslini, Genova
- IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Milano
- IRCCS Istituto per l'Infanzia Burlo Garofalo, Trieste
- IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano
- IRCCS "C. Mondino", Pavia
- IRCCS Neurologico Carlo Besta, Milano
- IRCCS Oasi Maria SS, Troina
- IRCCS Ospedale Bambin Gesù, Roma

- IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Milano
- IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano - Dipartimento di Scienze Neuropsichiatriche - Servizio di Genetica Medica - Unità di Neuroradiologia Pediatrica Istituto SCRI
- IRCCS Stella Maris, Pisa
- I.R.E.S. (Istituto Ricerche Economiche-Sociali del Friuli Venezia Giulia)
- Istituto Superiore di Sanità, Roma
- Ospedale Buzzi, Milano - Clinica Pediatrica
- Ospedale Civile, Pordenone
- Ospedale Galiera Genova, Laboratorio di Genetica Umana, Genova
- Ospedale San Gerardo dei Tintori, Monza
- Regione Lombardia - Direzione Generale Sanità
- Regione Lombardia - ASL Milano 3 - Dipartimento Servizi Sanitari di Base
- R.U.E. (Risorse Umane Europa - Provincia di Udine)
- Scuola Internazionale di Studi Avanzati, SISSA, Trieste
- Servizi Sociali Territoriali delle ASL delle Regioni Veneto Friuli Venezia Giulia
- USSL 7, Dipartimento di Immagini, Conegliano Veneto
- Università di Brescia
- Università degli Studi di Bari - Dipartimenti di Sociologia e Psicologia
- Università di Cagliari, Dipartimento di Neuroscienze
- Università Cattolica, Milano
- Università Cattolica, Roma - Istituto di Genetica Medica
- Università di Ferrara - Sezione Otorinolaringoiatria e Audiologia
- Università degli Studi di Firenze - Istituto di Ottica Fisiopatologica
- Università degli Studi di Milano - Ambulatorio di Sindromologia e Genetica Clinica, II Clinica Pediatrica, Clinica Neurochirurgia, Dipartimento di Scienze dell'Informazione, Istituto di Clinica Neurologica, Istituto di Virologia
- Università degli Studi di Milano-Bicocca
- Università degli Studi di Bologna - Dipartimento di Botanica, Dipartimento di Neurologia
- Università degli Studi di Padova - Clinica Neurologica II<sup>^</sup>, Centro Neuromuscolare, Dipartimento di Pediatria, Dipartimento di Psicologia Generale, Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione, Dipartimento di Scienze Neurologiche e Psichiatriche, Dipartimento di Farmacologia, Laboratorio di Psicofisiologica Clinica
- Università di Parma - Dipartimento di Clinica Oculistica
- Università degli Studi di Pavia - Dipartimento di Clinica Oculistica, Istituto di Anatomia Patologica Umana ed Ereditaria, Sezione di Biologia Generale e di Genetica Medica
- Università degli Studi "La Sapienza", Roma
- Università di Siena Istituto Scienze Neurologiche
- Università di Sassari, Istituto di Audiofonologia
- Università di Trieste - Facoltà di Medicina e Facoltà di Psicologia
- Università di Udine - Facoltà di Medicina e Facoltà di Psicologia
- Università degli Studi di Verona, Dipartimento di Patologia, Dipartimento di Scienze Neurologiche
- Università Insubria di Varese
- U.O. Neuropatologia ASL8 Veneto
- U.O. Radiologia ASL 7 e ASL 8 Veneto
- U.O. Medicina Nucleare ASL 7 e 8 Veneto
- U.O. Neuropsichiatria Infantile AUSL di Rimini

**PARTECIPAZIONE A SOCIETÀ SCIENTIFICHE NAZIONALI O INTERNAZIONALI**

Numerosi ricercatori dell'Istituto partecipano alle attività delle principali Società Scientifiche Nazionali e Internazionali. In particolare si segnalano:

**Società Scientifiche Nazionali**

|        |   |   |
|--------|---|---|
| AIAMC  | Associazione Italiana di Analisi e Modificazione del Comportamento e Terapia Comportamentale e Cognitiva<br>Dr.ssa Susanna Galbiati<br>Dr.ssa Mariarosaria Liscio<br>Dr.ssa Susanna Villa | Associazione Italiana di Psicologia - Sezione di Psicologia Clinica<br>Prof. Marco Battaglia  |
| AID    | Associazione Italiana Dislessia<br>Dr.ssa Maria Luisa Lorusso (Comitato Scientifico Sede di Lecco)  | Associazione Italiana per lo Studio dei Disturbi di Personalità<br>Prof. Marco Battaglia  |
| AIDAI  | Associazione Italiana Disturbi dell'Attenzione con Iperattività<br>Dr. Silvano Coser<br>Dr.ssa Maria Luisa Lorusso  | BITS Società Italiana di Bioinformatica<br>Ing. Uberto Pozzoli<br>Dr.ssa Manuela Sironi   |
| AINR   | Associazione Italiana di Neuroradiologia<br>Dr. Guido Cristofori  | Disability Italian Network<br>Andrea Martinuzzi (socio fondatore e segretario)  |
| AIRIPA | Associazione Italiana per la Ricerca e l'Intervento in Psicopatologia dell'Apprendimento<br>Dr.ssa Carmen Cattaneo<br>Dr.ssa Maria Luisa Lorusso<br>Dr.ssa Cinzia Poli                    | GISI Gruppo Italiano Studio Iprovisione<br>Dr.ssa Claudia Cordaro   |
| AIMS   | Associazione Italiana di Medicina del Sonno<br>Dr. Claudio Zucca  | IFREP Istituto Formazione Ricerca Psicoterapia<br>Dr.ssa Cinzia Poli  |
| AISACE | Associazione Infermieri Specializzati in Area Critica ed Emergenza<br>Dr. Gianni De Polo<br>Dr.ssa Anita Nogarol  | IRPIR Istituto di Ricerca sui Processi Intrapsichici<br>Dr. Silvano Coser   |
| AMCLI  | Associazione Microbiologi Clinici Italiani<br>Dr.ssa Maria Elisabetta Raggi   | LICE Lega Italiana contro l'Epilessia<br>Dr. Renato Borgatti<br>Dr. Guido Cristofori<br>Dr. Gianni De Polo<br>Dr. Angelo Massagli<br>Dr.ssa Lucia Radice<br>Dr.ssa Nicoletta Zanotta<br>Dr. Claudio Zucca |
| ANMA   | Associazione Nazionale Medici d'Azienda e Competenti<br>Dr. Francesco Viglienghi  | SIA Società Italiana Audiologia<br>Dr. Daniele Brambilla  |
| ANUPI  | Associazione Nazionale Unitaria Psicomotricisti<br>Dr. Vittorino Faggian  | SIAT Società Italiana di Analisi Transazionale<br>Dr. Silvano Coser<br>Dr.ssa Mara Frare<br>Dr.ssa Silvia Marchi<br>Dr.ssa Cinzia Poli  |
| ARIR   | Associazione per la Riabilitazione dell'Insufficienza Respiratoria<br>Dr.ssa Raffaella Giurati  | SIBIOC Società Italiana Biochimica Clinica e Biologia Molecolare<br>Dr.ssa Maria Elisabetta Raggi   |
|        |   | SIE Società Italiana di Endodonzia<br>Dr.ssa Antonietta Monco   |
|        |   | SIFEL Società Italiana di Foniatria e Logopedia<br>Dr.ssa Valeria Amorelli  |
|        |   | SIGU Società Italiana di Genetica Umana<br>Dr.ssa Maria Clara Bonaglia<br>Dr. Roberto Giorda<br>Dr.ssa Manuela Sironi   |

|        |   |  |   |
|--------|---|--|---|
| SIMFER | Società Italiana Medicina Fisica e Riabilitazione<br>Dr. Enrico Castelli<br>Dr. Francesco Cavallo<br>Dr.ssa Monica Cazzagon<br>Dr. Paolo Fraschini<br>Dr.ssa Elisabetta Gaiatto<br>Dr.ssa Cristina Magrini<br>Dr.ssa Anita Nogarol<br>Dr.ssa Alda Pellegri<br>Dr.ssa Antonella Rebesco<br>Dr.ssa Anna Carla Turconi | SIP  | Società Italiana di Pediatria<br>Dr.ssa Maria Amalia Battaglia<br>Dr. Paolo Ducolin<br>Dr. Antonio Longo  |
| SIMI   | Società Italiana di Medicina Interna<br>Dr.ssa Antonietta Monco   | SIPO                                       | Società Italiana di Psico Oncologia<br>Dr.ssa Geraldina Poggi   |
| SIMLII | Società Italiana Medicina del Lavoro e Igiene Industriale<br>Dr. Francesco Viglienghi   | Società Italiana di Miologia               | Dr. Andrea Martinuzzi (socio fondatore)   |
| SIN    | Società Italiana di Neurologia (Segretario eletto dalla Sezione Triveneto)<br>Dr. Andrea Martinuzzi   | Società Italiana di Psichiatria Biologica  | Prof. Marco Battaglia (Membro del Consiglio Direttivo)  |
| SINC   | Società Italiana Neurofisiologia Clinica<br>Dr. Paolo Proficue  | SISC                                       | Società Italiana per lo Studio delle Cefalee<br>Dr. Antonio Trabacca  |
| SINP   | Società Italiana di Neuropsicologia<br>Dr.ssa Maria Amalia Battaglia<br>Prof. Franco Fabbro<br>Dr. Alec Vestri  | SITTC                                      | Società Italiana Terapia Comportamentale Cognitiva<br>Dr. Alec Vestri   |
| SINPIA | Società Italiana di Neuropsichiatria Infanzia e Adolescenza<br>Dr. Renato Borgatti<br>Dr.ssa Ombretta Carnet<br>Dr. Gianni De Polo<br>Dr.ssa Rita Galluzzi<br>Dr. Angelo Massagli<br>Dr.ssa Alda Pellegri<br>Dr. Marco Pessina<br>Dr.ssa Geraldina Poggi<br>Dr. Antonio Salandi<br>Dr. Amerigo Zanella              | Società Triveneta Neuroradiologia aff. SIN | Dr. Sergio Imelio   |
| SIO    | Società Italiana Otorinolaringoiatria<br>Dr.ssa Valeria Amorelli<br>Dr. Daniele Brambilla<br>Dr.ssa Daniela Soi   | Società Scientifica e Tecnologica Friulana | Prof. Franco Fabbro   |
| SIOP   | Società Italiana di Oftalmologia Pediatrica<br>Dr.ssa Claudia Cordaro<br>Dr. Pietro Mazzocchi<br>Prof. Francesco Polenghi<br>Dr. Roberto Salati   | SOI  | Società Oftalmologica Italiana, ente morale<br>Dr. Paolo Cecchini<br>Dr.ssa Claudia Cordaro<br>Dr. Pietro Mazzocchi<br>Dr.ssa Paola Michieletto<br>Prof. Francesco Polenghi<br>Dr. Roberto Salati |
|        |   | SOL  | Società Oftalmologica Lombarda<br>Dr. Pietro Mazzocchi<br>Prof. Francesco Polenghi<br>Dr. Roberto Salati  |
|        |   | SOMIPAR                                    | Società Medica Italiana di Paraplegia<br>Dr.ssa Antonella Rebesco   |
|        |   | SOT  | Società Oftalmologica Triveneta<br>Dr.ssa Claudia Cordaro   |

**Società Scientifiche Internazionali**

- AAN American Academy of Neurology  
Dr. Andrea Martinuzzi (Corresponding Fellow)
- American Academy for Cerebral Palsy and Developmental  
Medicine  
Dr. Luigi Piccinini
- American Association for the Advancement of Science  
Prof. Marco Battaglia  
Dr. Andrea Martinuzzi
- American Neurological Association  
Dr. Andrea Martinuzzi
- ASLHA American Speech Language Hearing Association  
Prof. Franco Fabbro
- BGA Behavior Genetics Association  
Prof. Marco Battaglia  
Dr.ssa Cecilia Marino
- EBIS European Brain Injury Society  
Dr. Enrico Castelli
- EMBS-IEEE - Engineering in Medicine and Biology Society of  
the IEEE  
Ing. Gianluigi Reni
- ENS European Neurological Society  
Dr. Enrico Castelli
- ESHG European Society of Human Genetics  
Dr.ssa Maria Clara Bonaglia
- IEEE The Institute of Electrical and Electronics Engineers  
Ing. Gianluigi Reni
- INS International Neuropsychological Society  
Dr.ssa Maria Luisa Lorusso
- International Association of Physicians in Audiology  
Dr. Daniele Brambilla
- International Myochemistry Society  
Dr. Andrea Martinuzzi
- International Society for the Study of Personality Disorders  
Prof. Marco Battaglia
- FATA European Association Analisi Transazionale  
Dr.ssa Mara Frare  
Dr.ssa Silvia Marchi  
Dr.ssa Cinzia Poli
- International Association of Logopaedic and Phoniatics  
Dr. Franco Fabbro
- WMS World Muscle Society  
Dr. Andrea Martinuzzi

## SETTORE SVILUPPO E FORMAZIONE

### **Attività di comunicazione, formazione e sviluppo**

Attraverso appositi settori operativi, l'Istituto cura e valorizza attività che sono complementari a quelle cliniche e di ricerca dell'IRCCS "Eugenio Medea", anche allo scopo di diffondere con la maggiore ampiezza possibile la conoscenza dei risultati raggiunti.

Ci si riferisce in particolare all'attività editoriale e di informazione scientifica, all'attività formativa, all'attività di documentazione e di ricerca bibliografica e ad altri servizi di supporto.

Per ciascuno di questi ambiti si danno di seguito alcune informazioni su quanto realizzato nel 2003/2004.

#### **1) ATTIVITÀ EDITORIALE**

Attivo da sempre nel campo della pubblicistica specializzata, l'Istituto ha costituito nel 2000 un settore "dedicato" per la propria attività editoriale. Il settore, di cui è Responsabile la Dr.ssa Milena Cannao, è stato organizzato fin dall'inizio secondo criteri molto moderni, con uno specifico mandato relativo all'attuazione di una comunicazione integrata rivolta soprattutto agli interlocutori esterni, individuando questi ultimi sia nei referenti istituzionali (Ministeri ed altri Enti pubblici), sia nella comunità scientifica (Università ed Enti di ricerca), sia nel grande pubblico.

Il progetto editoriale si ispira alla logica di conferire la massima visibilità alle competenze presenti nell'Istituto, che non si limitano al campo della riabilitazione infantile ma coprono anche molte aree della medicina specialistica, della prevenzione, della psicologia, dell'educazione, della didattica, delle tecnologie applicate alla sanità.

Il programma editoriale è stato quindi calibrato sull'obiettivo di raggiungere un target molto ampio e molto eterogeneo; ciò ha richiesto la segmentazione della produzione editoriale in rapporto a differenti profili di domanda.

Sono state pertanto attivate le seguenti linee editoriali, ciascuna delle quali comprende pubblicazioni singole e collane:

#### **Linea Medea Scientifica**

##### *Destinatari:*

comunità scientifica nazionale e internazionale, comunità medica nazionale, referenti ministeriali.

##### *Contenuti:*

risultati dell'attività dei settori di ricerca dell'Istituto, materiale scientifico proveniente dalle collaborazioni strutturate con Università e altri Centri di ricerca, monografie relative alle tematiche di pertinenza dell'Istituto.

Capofila di questa linea editoriale è la rivista SAGGI-Child Development & Disabilities, fondata nel 1975 e attualmente pubblicata con periodicità trimestrale.

Sono stati finora pubblicati i seguenti numeri:

- n. 1/2000 - Language disorders in children
- n. 2/2000 - Computer e sviluppo cognitivo nei bambini disabili
- n. 3/2000 - Behavioral problems in child psychopathology
- n. 4/2000 - Guida alla gestione del traumatizzato cranico in età evolutiva
- n. 1/2001 - Food: neuropathology and psychopathology
- n. 2/2001 - Protocolli di valutazione e trattamento nella spasticità infantile
- n. 3/2001 - Oculomotor disorders in children
- n. 4/2001 - Modelli dell'errore umano
- n. 1/2002 - Il bambino con malattia rara: dalla diagnosi alla riabilitazione
- n. 2/2002 - Bioetica, diritti umani e disabilità
- n. 3/2002 - Continuità e discontinuità tra Disturbi Mentali del bambino e dell'adulto - Parte I



- n. 4/2002 - Continuità e discontinuità tra Disturbi Mentali del bambino e dell'adulto - Parte II
- n. 1/2003 - Sordità: aspetti riabilitativi, educativi e linguistici
- n. 2/2003 - Traumatic brain injury in children and adolescents. Evaluation and treatment - Part I
- n. 3/2003 - Traumatic brain injury in children and adolescents. Evaluation and treatment - Part II
- n. 4/2003 - Disabilità e integrazione nel pensiero di Giorgio Moretti
- n. 1/2004 - Tecnologie per l'autonomia di vita del disabile
- n. 2/2004 - Toward rehabilitation in pediatric neuro-oncology - Part I
- n. 3/2004 - Toward rehabilitation in pediatric neuro-oncology - Part II
- n. 4/2004 - Le relazioni familiari tra ricerca e intervento - Parte I

#### *Altre pubblicazioni:*

- Traumi cranici in età evolutiva Peculiarità cliniche e riabilitative
- Lo sviluppo emotivo-comportamentale del bambino in età prescolare: i risultati di una ricerca
- Annuario scientifico 1998-2000
- Annuario scientifico 2001-2002

#### **Linea Medea Strumenti**

##### *Destinatari:*

terapisti, insegnanti, laureati non medici

##### *Contenuti:*

esperienze cliniche condotte presso l'Istituto tradotte in protocolli di presa in carico e metodologie d'intervento; iniziative di formazione e aggiornamento realizzate dall'Istituto in campo riabilitativo, pedagogico, psicologico, didattico, assistenziale.

Sono stati finora pubblicati i seguenti volumi:

- Vademecum di oftalmologia pediatrica
- Test dello Sviluppo Morfosintattico (TSM)
- Traumi cranici nel bambino - Aspetti psicosociali
- Obiettivo autonomia - Processi e percorsi nella formazione al lavoro del disabile psichico
- Child Behavior Checklist/4-18 (CBCL/4-18)
- Progetto Empower (versione italiana e inglese)
- Conoscere la psicologia
- Appunti di strabologia
- Programma MOVE Destinato ai bambini e agli adulti gravemente disabili
- Una proposta di lavoro per la comunicazione alternativa

#### **Linea Medea Informa**

##### *Destinatari:*

grande pubblico

##### *Contenuti:*

tematiche di pertinenza dell'Istituto sia nel campo degli interventi terapeutici sia in quello della tutela della salute fisica e psichica del bambino, trattate in chiave divulgativa.

Sono stati finora pubblicati i seguenti volumi:

- Il bambino e le emozioni
- Il bambino e il computer
- Il bambino e il linguaggio

Appartiene inoltre a questa linea il periodico "In Salute", che propone un'informazione ad ampio raggio su attività ed esperienze nazionali ed internazionali nel campo delle problematiche infantili, con particolare riguardo alla riabilitazione. Del periodico sono stati finora pubblicati 10 numeri, il cui contenuto è disponibile sul sito [www.emedeait.it](http://www.emedeait.it).

#### **2) BIBLIOTECA**

Per informazioni dettagliate si rimanda alla presentazione a pag. 19.

#### **3) ATTIVITÀ DI INFORMAZIONE SCIENTIFICA**

È l'attività che si traduce normalmente in convegni, corsi o seminari e che condivide con l'attività editoriale lo scopo di divulgare le conoscenze acquisite attraverso la ricerca e la sperimentazione in ambito clinico, raggiungendo sia il mondo scientifico che opera nelle stesse aree o in settori affini, sia il mondo più vasto delle persone che possono essere interessate a conoscere l'evoluzione delle possibilità di cura e di riabilitazione delle varie patologie: gli stessi soggetti affetti da patologie, i loro familiari, gli operatori, etc.

#### **Congressi, convegni, conferenze e seminari**

##### **Anno 2003**

- IV Convegno Nazionale AIDAI "Il Disturbo da Deficit di Attenzione /Iperattività: la complessità della valutazione diagnostica" In collaborazione con AIDAI Ostuni (Br) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**
- Meeting Internazionale "Toward Rehabilitation in Pediatric Neurooncology: Methodology and Perspectives" In collaborazione con l'Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori di Milano - Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**
- Simposio Internazionale "Neurogenic Language Disorders in Children" Cividale del Friuli (Ud) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**
- Riunione Primavera SIN Triveneta "La Neurologia nell'era della post-genomica. Attualità in tema di malformazioni cerebrali" - Conegliano (Tv) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**
- Corso di aggiornamento - X Incontro di Strabologia "Ambliopia: recenti acquisizioni" - Bosisio Parini (Lc) **ac-**

#### creditato dalla Commissione Ministeriale ECM

- Corso di aggiornamento "Attualità in tema di neuroriabilitazione dell'adulto e del bambino" Pasion di Prato (Ud) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**
- Corso di aggiornamento "Le psicostimolazioni cognitive nel paziente in coma e in fase di risveglio" - Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**

#### Anno 2004

- Corso di aggiornamento - XI Incontro di Strabologia "Cerebral Visual Impairment: valutazione interdisciplinare" - Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**
- Convegno "ADHD: il punto della situazione" In collaborazione con Università degli Studi di Udine In collaborazione con Università degli Studi - Fac. di Scienze della Formazione - Udine
- Convegno "Odontoiatria e disabilità in età evolutiva" - Ostuni (Br) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**
- Convegno "Ricerca biomedica e innovazione tecnologica in riabilitazione: sinergie e prospettive - Il Progetto HINT@Lecco" - Bosisio Parini (Lc)
- Simposio "Aspetti bioetici nella neuroriabilitazione" - S. Vito (Pn) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**
- Convegno "Lesioni cerebrali acquisite nel bambino e nell'adolescente: un ritorno al futuro" Bosisio Parini (Lc)
- Convegno "Il bambino autistico tra ricerca clinica e riabilitazione" - Ostuni (Br) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**
- Convegno "La neuroriabilitazione dell'età evolutiva tra passato e futuro" Bosisio Parini (Lc)

#### 4) ATTIVITÀ FORMATIVA

La formazione all'interno de "La Nostra Famiglia" ha sempre avuto uno spazio significativo.

Le iniziative realizzate hanno trovato forma in:

- Corsi di Laurea, di specializzazione o master per la preparazione di figure professionali operanti nel campo della riabilitazione, dell'assistenza, dell'educazione e dell'insegnamento a soggetti disabili, o comunque a persone in difficoltà
- Iniziative più occasionali, quali seminari, giornate di studio e convegni determinati dalla necessità di approfondire metodi e tecniche di intervento innovativi o di divulgare esperienze che avevano dimostrato una efficacia tale da meritare di essere conosciute all'esterno dell'Associazione.

Nel realizzare le varie iniziative formative l'Associazione ha ritenuto di perseguire le finalità proprie dell'Ente e che ne hanno motivato la nascita: "La Nostra Famiglia" è nata infatti per essere all'interno della comunità sociale segno dell'attenzione, del rispetto, della solidarietà umana e cristiana verso qualunque persona, ma specialmente verso coloro che per motivi diversi sono ai margini della società e corrono il rischio di vedersi negati i diritti fondamentali dell'uomo, non tanto nelle affermazioni di principio, quanto nella concretezza della vita. L'aiuto agli altri per essere efficace deve essere offerto da persone motivate e preparate, quindi la formazione è un percorso irrinunciabile per garantire la qualità dell'intervento.

Accreditamenti:

- Regione Lombardia per FORMAZIONE PROFESSIONALE (Settori con Certificazione di Qualità DNV UNI EN ISO 9001:2000)
  - Orientamento
  - Obbligo Formativo
  - Formazione Superiore
  - Formazione Continua

- Ministero della Salute
  - Provider per Educazione Continua in Medicina (E.C.M.)
- Ministero Istruzione Università e Ricerca
  - Formazione continua e aggiornamento degli Insegnanti e del personale della Scuola

#### a. Corsi di laurea

Si tratta di un campo di intervento nel quale l'Associazione "La Nostra Famiglia" vanta una lunga tradizione e che negli ultimi anni ha dovuto tenere il passo con le trasformazioni molto consistenti dell'intero sistema universitario, stipulando apposite convenzioni con le Università.

CORSI DI LAUREA ATTUALMENTE PRESENTI:

#### Corso di Laurea per Fisioterapisti nelle sedi di:

Bosisio Parini, in convenzione con la Facoltà di Medicina dell'**Università degli Studi dell'Insubria (Como e Varese)** - Preside Prof. Giorgio Pilato, responsabile di Sede Dr. Enrico Castelli

Conegliano, in convenzione con la Facoltà di Medicina dell'**Università di Padova** - Preside Prof. Marco Ortolani, responsabile di Sede T.d.R. Gina Zucca

Il corso ha l'obiettivo di formare la figura del fisioterapista. Il fisioterapista è l'operatore sanitario, in possesso del diploma universitario abilitante, che svolge in via autonoma o in collaborazione con altre figure sanitarie gli interventi di prevenzione, cura e riabilitazione delle aree della motricità, delle funzioni corticali superiori e di quelle viscerali conseguenti a eventi patologici di varia eziologia (acquisita o congenita).

In riferimento alla diagnosi e alle prescrizioni del medico, il fisioterapista:

- elabora la definizione del programma di riabilitazione
- pratica autonomamente attività terapeutica per la rieducazione funzionale
- propone l'adozione di protesi e ausili.

Iscritti anno formativo 2002/03

Bosisio Parini: 1° anno n. 20  
2° anno n. 20  
3° anno n. 25

Conegliano: 1° anno n. 30  
2° anno n. 30  
3° anno n. 31

Iscritti anno formativo 2003/04

Bosisio Parini: 1° anno n. 21  
2° anno n. 14  
3° anno n. 20

Conegliano: 1° anno n. 31  
2° anno n. 29  
3° anno n. 30

Diplomati anno 2002

Bosisio Parini n. 19  
Conegliano n. 41

Diplomati anno 2003

Bosisio Parini n. 21  
Conegliano n. 31

Diplomati anno 2004

Bosisio Parini n. 22  
Conegliano n. 30

Sedi di Tirocinio utilizzate nell'anno 2002/03:

Bosisio Parini n. 47  
Conegliano n. 90

Sedi di Tirocinio utilizzate nell'anno 2003/04:

Bosisio Parini n. 49  
Conegliano n. 90

**Corso di Laurea in Scienze del Servizio Sociale** (precedentemente denominato, nell'anno 2002/03, Corso di Laurea in Servizio Sociale) nella Sede di Bosisio Parini in convenzione con l'**Università Cattolica del Sacro Cuore di Milano** - Facoltà di Sociologia - Preside Prof. Colasanto, Coordinatrice Generale Prof.ssa Bianca Barbero Avanzini, Coordinatrice Tecnica del Polo esterno di Bosisio Parini Prof.ssa Geneviève Ninnin Dell'Acqua.

Il Corso ha lo scopo di:

- fornire agli studenti conoscenza delle discipline sociologiche, psicologiche e giuridiche e sicura padronanza dei principi, metodi e tecniche propri del Servizio Sociale;
- fornire competenze pratiche ed operative volte a prevenire, rilevare e risolvere situazioni di disagio di singoli, gruppi o comunità nell'ambito del sistema organizzato delle risorse sociali; a promuovere e coordinare nuove risorse, anche di volontariato; a svolgere compiti di gestione, organizzazione, programmazione e direzione dei Servizi Sociali e a contribuire ad una diffusione delle strategie di informazione sociale sui servizi sociali e sui diritti degli utenti.

Iscritti anno formativo 2002/03

1° anno n. 22  
2° anno n. 25  
3° anno n. 20

Iscritti anno formativo 2003/04

1° anno n. 19  
2° anno n. 22  
3° anno n. 24

Diplomati anno 2002 n. 13  
con Università Cattolica

Diplomati anno 2003 n. 17  
con Università Cattolica

Diplomati anno 2004 n. 22  
con Università Cattolica

Sedi di Tirocinio utilizzate nell'anno 2002/03: n. 34

Sedi di Tirocinio utilizzate nell'anno 2003/04: n. 35

### Corso di Laurea per Educatori Professionali

Riguarda una figura che solo dal 1998 è stata inserita con decreto del Ministero della Sanità tra le figure sanitarie, con formazione di laurea triennale di competenza delle Facoltà di Medicina.

Precedentemente la formazione era realizzata con Corsi Regionali.

In convenzione con l'**Università dell'Insubria**, Preside Prof. Simone Vender. Responsabile di Sede dr. Mario Cocchi.

Il corso ha lo scopo di formare un operatore che svolga la propria attività mediante la formulazione e la realizzazione di progetti educativi, volti a promuovere lo sviluppo equilibrato della personalità, il recupero e il reinserimento sociale di soggetti portatori di menomazioni psico-fisiche e di persone a rischio e in situazione di emarginazione sociale.

Per il perseguimento di tali obiettivi, nell'ambito del sistema delle risorse sociali e sanitarie, egli svolge interventi riguardanti i rapporti interpersonali, la famiglia, i gruppi e le istituzioni, le strutture, i servizi sociali, sanitari ed educativi, in contesto ambientale. Gli strumenti di cui si avvale sono relativi a metodologia di operatività psicopedagogica e di riabilitazione psicosociale. Conduce attività di studio, ricerca e documentazione indirizzate a intervento educativo.

I corsi in fase di realizzazione prevedono anche itinerari formativi specifici per il conseguimento del titolo da parte di operatori in servizio.

Iscritti anno formativo 2002/03

1° anno n. 32  
2° anno n. 35  
3° anno n. 78

(Scuola per Operatori Sociali)

Iscritti anno formativo 2003/04

1° anno n. 26  
2° anno n. 32  
3° anno n. 35

|   |        |
|---|--------|
| Diplomati anno 2002                             | n. 49  |
| Diplomati anno 2003                             | n. 166 |
| Diplomati anno 2004                             | n. 3   |
| Sedi di Tirocinio utilizzate nell'anno 2002/03: | n. 58  |
| Sedi di Tirocinio utilizzate nell'anno 2003/04: | n. 59  |

### **b. Altri Corsi di Formazione Professionale per Operatori dei Servizi alla Persona**

#### **Corso per Operatore Socio Sanitario**

La figura e il profilo professionale dell'Operatore Socio Sanitario trova le premesse normative nel D. Lgs. 229/99, nel D. Lgs. 502/92 e nella L. 8/11/00 n. 328, nonché nell'accordo Nazionale della conferenza Stato/Regioni n. 9 del 19 aprile '01, nonché in provvedimenti della Regione Lombardia.

L'Operatore Socio Sanitario svolge attività indirizzata a soddisfare i bisogni primari della persona e a favorire il suo benessere e la sua autonomia sia nel contesto di servizi sociali che sanitari (ospedali, strutture residenziali o semiresidenziali), sia a domicilio dell'utente. Nell'assolvimento delle sue mansioni agisce come figura di supporto in base alle proprie competenze e in applicazione dei piani di lavoro e di protocolli operativi predisposti dal personale sanitario e sociale preposto; per alcune funzioni opera in autonomia, per altre coopera con altri professionisti, per altre ancora collabora eseguendo quanto programmato da altre figure responsabili. Le sue attività sono riconducibili alle seguenti tipologie: assistenza diretta alla persona e aiuto domestico alberghiero; intervento igienico sanitario e di carattere sociale; attività di supporto e integrazione al per-

sonale sanitario nel contesto organizzativo dei Servizi. A tale scopo deve possedere competenze tecniche e relazionali. Alla formazione, che prevede corsi della durata di almeno 1000 ore e che è costituita da teoria, esercitazioni, stages e tirocinio pratico, sono ammesse persone che hanno assolto l'obbligo scolastico e che hanno compiuto almeno 17 anni alla data di iscrizione.

Sede del Corso: IRCCS "E. Medea" - Bosisio Parini

Direttore del Corso: dr. Mario Cocchi

Iscritti anno formativo 2002/03  
n. 27

Iscritti anno formativo 2003/04  
n. 30

Sedi di Tirocinio utilizzate nell'anno 2002/03:  
n. 13

Sedi di Tirocinio utilizzate nell'anno 2003/04:  
n. 22

### **c. Formazione Superiore**

#### **Corso IFTS per Esperti in promozione e gestione di percorsi di cura domiciliare e residenziale anno 2002/03**

Il "Promoter Socio-Sanitario" è un operatore che offre un servizio avanzato nel campo della cura domiciliare e residenziale attraverso la qualificazione delle funzioni di caregiver.

Il Corso per "Esperti in promozione e gestione di percorsi di cura domiciliare e residenziale" favorisce l'acquisizione di competenze di case management e di governo delle risorse socio-sanitarie, con lo sviluppo di capacità organizzative e di coordinamento degli interventi.

Organizzato in associazione temporanea di scopo tra l'Associazione "La Nostra Famiglia", l'Università Cattolica del Sacro Cuore, l'Istituto "Bertacchi" di Lecco, l'ASL di Lecco e la CISL di Lecco, per 20 iscritti, ha avuto la durata di 1200 ore, suddivise in due semestri, con circa 640 ore di formazione teorico pratica, 360 ore di tirocinio e 240 ore per esercitazioni individuali.

Direttore del Corso: dr. Mario Cocchi.

Sedi di Tirocinio utilizzate n. 12

#### **Corso IFTS per Tecnico superiore di informatica medica anno 2003/04**

Il tecnico superiore di informatica medica grazie alle competenze acquisite in ambito informatico, economico e delle tecnologie telecomunicative, unite ad una particolare sensibilità per l'ambiente sanitario, trova collocazione all'interno di strutture operanti in ambito sanitario, ospedali, cliniche e aziende sanitarie locali assumendo ruolo di collaboratore in attività quali l'installazione, la manutenzione e l'adattamento del sistema informatico.

I destinatari sono stati 20 allievi di età compresa tra i 18 e i 25 anni; requisito d'accesso era il diploma di Scuola Media Superiore.

Realizzato mediante il concorso di più Enti (Politecnico di Milano - Polo di Lecco, Azienda Ospedaliera di Lecco, Azienda Ospedaliera della Valtellina e della Valchiavenna, Ce.Ri.S.Ma.S dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Milano, Istituto "Maria Ausiliatrice" di Lecco, Associazione "La Nostra Famiglia" di Bosisio Parini), il Corso è stato articolato in 1200 ore, di cui 360 teoriche, altrettante di tirocinio presso strutture sanitarie e le rimanenti 480 di esercitazioni pratiche.

Direttore del Corso: dr. Mario Cocchi.

Sedi di Tirocinio utilizzate n. 6

#### d. Formazione Continua

Le iniziative sono di volta in volta indirizzate, congiuntamente o specificamente, ad operatori de "La Nostra Famiglia" e ad operatori di altri Enti, generalmente impegnati in Servizi Sanitari, Sociali, Educativi con obiettivi generali mirati a:

- promuovere la crescita delle conoscenze e migliorare le competenze professionali delle risorse umane dell'organizzazione, mantenendole aggiornate rispetto alle più recenti acquisizioni nel campo degli interventi di cura, riabilitazione, educazione, intervento sociale, gestione dei Servizi
- sostenere un atteggiamento costante di attenzione e curiosità, fondamentali per una formazione permanente, coerenti con i valori a cui l'Associazione "La Nostra Famiglia" e l'IRCCS "Eugenio Medea" si ispirano
- comunicare, trasferire e diffondere i risultati della ricerca e le competenze maturate in esperienze reali e professionalmente affidabili

Nel 2003 sono state realizzate le seguenti iniziative:

##### *Corsi per operatori delle sedi de "La Nostra Famiglia"*

- Corso di aggiornamento per Logopedista, Educatore Professionale, Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva e Terapista occupazionale su: "Utilizzo del sistema PCS (Picture Communication Symbols) nell'ambito dei disturbi della comunicazione verbale" - 2003 - Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM** Ore di formazione: n° 2 edizioni di 8h.
- Corso di aggiornamento per Medico, Fisioterapista e Terapista occupazionale su: "La postura seduta nelle Paralisi Cerebrali Infantili (P.C.I.)"

2003 Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: n° 2 edizioni di 8h.

- Corso di formazione per Medico Neuropsichiatra Infantile, Neurologo, Psichiatra su: "La disabilità secondo l'ONU e l'OMS e la classificazione ICF" 2003 - Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 14h.
- Corso per Medico, Psicologo, Logopedista su: "Nuovi strumenti standardizzati per la valutazione della disprassia verbale dei deficit fonologici" - 2003 Pasion di Prato (Ud) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 7h.
- Corso di aggiornamento per Psicologo, Fisioterapista, Logopedista, Infermiere, Infermiere Pediatrico, Tecnico di neurofisiopatologia, Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva e Terapista occupazionale su: "La riabilitazione in età evolutiva UPDATE" - 2003 - Ostuni (Br) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 33h.
- Corso per Fisioterapista, Logopedista, Educatore Professionale, Insegnante, Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva, Psicologo, Pedagogista/Laurea Scienze Educazione, Assistente Sociale su: "Knowledge-based quality program; formare i formatori per incrementare il patrimonio delle conoscenze aziendali" finanziato dal Fondo Sociale Europeo-Regione Lombardia - 2003 - Bosisio Parini (Lc). Ore di formazione: 36h.
- Corso di aggiornamento per Educatore Professionale, Fisioterapista, Logopedista, Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva su: "I principi del Metodo Feuerstein" - 2003 - Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 16h.

• Corso di aggiornamento per Infermiere su: "Le tecniche BLS/D (Basic Life Support/Defibrillation)" - 2003 Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: n° 2 edizioni di 9 h.

• Corso di aggiornamento per Fisioterapista, Logopedista, Medico, Psicologo, Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva e Terapista occupazionale su: "Dalle prestazioni ai percorsi di cura" - 2003 - Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**.

Ore di formazione: n° 2 edizioni di 8h.

• Corso di formazione per obiettori di coscienza su: "Essere obiettore a «La Nostra Famiglia»" - 2003 - Bosisio Parini (Lc). Ore di formazione: 19h.

##### *Corsi per utenti esterni e su incarico di altri Enti*

I pacchetti formativi realizzati per utenti esterni sono stati normalmente promossi su richiesta di Enti pubblici e privati operanti nell'ambito sociale educativo e sanitario, quali Amministrazioni Provinciali, Ospedali e Centri di Riabilitazione, Direzioni Scolastiche, Associazioni e Fondazioni Onlus. Solo in alcuni casi il progetto del Corso è stato il risultato di una proposta autonoma del Settore, corrispondente, oltre che a bisogni ed interessi rilevati, a competenze specifiche di operatori dell'Associazione "La Nostra Famiglia" disponibili ad attività di docenza.

Tra quelli realizzati si segnalano:

- Corso per Insegnante di Scuola Materna, Elementare e Media su: "Conoscere per integrare" commissionato dal Collegio "S. Antonio" di Busnago (Mi), ottobre 2002-febbraio 2003 - Busnago (Mi). Ore di formazione: 25h

- Incontri formativi per Insegnante di Scuola Media e Superiore su: "La relazione scuola-famiglia: dinamiche di ascolto e confronto" commissionato dall'Ufficio Scolastico di Lecco - Centro Servizi Territoriali - 2003 - Lecco (Lc). Ore di formazione: 6h.
  - Corso M.O.V.E. (Mobility Opportunities Via Education) per Tecnico ortopedico 2003 S. Vito al Tagliamento (Pn) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 8h.
  - Seminario commissionato da ASL 9 di Ivrea per Medico, Psicologo, Logopedista e Fisioterapista su: "Utilizzo di ausili informatici ed elettronici per l'intervento di abilitazione e riabilitazione cognitiva nell'esperienza del Centro Ausili-IRCCS «E. Medea»" - 2003 - Ivrea (To). Ore di formazione: 7h.
  - Incontro per Neuropsichiatra Infantile, Psicologo, Pedagogista, Direzioni Operative, Assistente Sociale su: "Relazioni familiari tra ricerca e intervento La ricerca scientifica e il quotidiano della professionalità" - 2003 - Bosisio Parini (Lc). Ore di formazione: 4h
  - Incontri Formativi per Genitori ed Assistenti Sociali su: Progetto AMBARABACCICCOCCO - commissionato dal Comune di Cantù (Co) - 2003. Ore di formazione: 10h.
  - Corso di formazione per Educatore Professionale, Fisioterapista e Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva su: "Diagnosi, prognosi ed intervento in ambito psicomotorio" - 2003 - Lecco **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 30h.
  - Corso per Medico, Fisioterapista e Terapista occupazionale su: "L'utilizzo dei tutori "Lycra" (Dynamic Lycra Garments) nel trattamento di patologie neurologiche" - 2003 - S. Vito al Tagliamento (Pn) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 16h
  - Giornata di aggiornamento per Logopedista, Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva e Psicologo su: "Il Metodo Bakker" - 2003 - Bosisio Parini (Lc). Ore di formazione: 7h.
  - Incontri formativi per Insegnanti di Scuola Materna ed Elementare su: "L'autismo infantile" e "Educazione strutturata" commissionati dalla Biblioteca Comunale di Merone - 2003 Merone (Co). Ore di formazione: 4h.
  - Corso di aggiornamento/formazione su: "Conoscere per promuovere" commissionato dall'Associazione "Piccola Opera Papa Giovanni" - 2003 - Reggio Calabria. Ore di formazione: 24h.
  - Corso di formazione per Educatore Professionale, Fisioterapista e Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva su: "Diagnosi, prognosi ed intervento in ambito psicomotorio" - 2003 - Conegliano (Tv) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 32.
  - Corso MOVE per Basic Provider commissionato dalla ASL di Monfalcone (Go) - 2003 - Monfalcone (Go). Ore di formazione: 14h.
  - Corso per Medico, Psicologo, Fisioterapista ed Educatore Professionale su: "Basic Provider del Programma M.O.V.E. (Mobility Opportunities Via Education)" - 2003 - S. Vito al Tagliamento (Pn) **in fase di accreditamento dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 14h.
  - Corso di aggiornamento per Educatore Professionale su: "La persona con grave Ritardo Mentale - approfondimento" commissionato da ANFASS di Macerata 2003 - Macerata **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM** (Educazione Continua in Medicina) a cura dell'Ente Committente. Ore di formazione: 12h.
  - Corso per Insegnante di Scuola Materna ed Elementare su: "L'aggressività del bambino a scuola" commissionato dall'Istituto Comprensivo di Ponte Lambro (Co) - 2003 - Ponte Lambro (Co). Ore di formazione: 8h.
- Nel 2004 sono state realizzate le seguenti iniziative:
- Corsi per operatori delle sedi de "La Nostra Famiglia"*
- Corso di aggiornamento per Psicologo ed Educatore Professionale su: "La valutazione del comportamento adattivo" - 2004 - Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: n° 2 edizioni di 12h.
  - Corso di aggiornamento per Medico, Psicologo, Fisioterapista, Infermiere, Logopedista, Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva, Terapista occupazionale su: "Il miglioramento della qualità del servizio attraverso il sistema di gestione per la qualità e le verifiche ispettive" - 2004 - Cava de' Tirreni (Sa) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 24h.
  - Corso di aggiornamento per Medico, Fisioterapista, Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva e Terapista occupazionale su: "Il trattamento riabilitativo integrato nelle PCI (Paralisi Cerebrali Infantili)" - 2004 Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: n° 2 edizioni di 8h.
  - Corso di aggiornamento per Medico, Psicologo, Infermiere, Fisioterapista, Logopedista, Terapista occupazionale, Biologo e Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva su: "Qualità e certificazione nei servizi sanitari" 2004 Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: n° 2 edizioni di 8h.

- Corso per Medico, Psicologo, Infermiere, Fisioterapista, Infermiere Pediatrico, Logopedista, Tecnico di neurofisiopatologia, Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva, Terapista occupazionale su: "La gestione della documentazione sanitaria quale strumento per una qualità totale" 2004 Ostuni (Br) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM.**  
Ore di formazione: n° 2 edizioni di 14h.
- Corso di aggiornamento per Logopedista su: "Trattamento con eloquio modificato per i disturbi specifici del linguaggio" 2004 Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM.**  
Ore di formazione: n° 2 edizioni di 8h.
- Corso di aggiornamento per Assistente Sociale su: "La documentazione professionale nel Servizio Sociale: aspetti metodologici e vincoli normativi" 2004 Bosisio Parini (Lc).  
Ore di formazione: 7h.
- Corso di aggiornamento per Infermiere su: "L'assistenza Infermieristica nel bambino con deficit neurologico: problematiche dell'apparato gastroenterico e problematiche epilettologiche" 2004 Bosisio Parini (Lc) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM.**  
Ore di formazione: n° 2 edizioni di 9h.
- Corso di aggiornamento per Psicologo ed Educatore Professionale su: "La valutazione del comportamento adattivo" - 2004 - Ostuni **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM.**  
Ore di formazione: 12h.
- Corso per obiettori di coscienza su: "Essere obiettore a «La Nostra Famiglia»" - 2004 - Bosisio Parini (Lc).  
Ore di formazione: 20h.
- Corso di aggiornamento per Educatore Professionale, Logopedista, Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva e Terapista occupazionale su: "Utilizzo del sistema PCS (Picture Communication Symbols) nell'ambito dei disturbi della comunicazione verbale" - 2004 - San Vito al Tagliamento (Pn) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM.**  
Ore di formazione: 8h.
- Corsi per utenti esterni e su incarico di altri Enti
- Corso di formazione per Insegnante di sostegno 5° modulo su: "Utilizzare metodologie, metodi e materiali specifici" commissionato dalla Scuola "Stoppa" di Lecco - 2003/2004 - Lecco.  
Ore di formazione: 120h.
- Incontri formativi per Educatori e Pedagogisti impegnati negli Istituti Sociali ATIS su: "Il lavoro con persone con disabilità in età evolutiva" 2003/2004 - Sorengo-Svizzera - commissionato dagli Istituti Sociali ATIS.  
Ore di formazione: 21h.
- Corso di formazione per Psicologo, Pedagogista, Educatore e Terapista su: "Strumenti di assessment psicoeducativo per bambini e adolescenti con autismo" - 2004 - Conegliano (Tv).  
Ore di formazione: 42h.
- Incontro formativo su: "La relazione scuola-famiglia" per Insegnanti di Scuola Materna ed Elementare commissionato dalla Direzione Didattica 1° Circolo Calolziocorte (Lc) - 2004 Calolziocorte (Lc).  
Ore di formazione: 2h.
- Corso per collaboratori scolastici già in servizio nella provincia di Varese su: "Assistenza di base ad alunni in situazione di handicap" commissionato dall'Istituto Comprensivo "Silvio Pellico" di Vedano Olona (VA) - 2004 Scuole della Provincia di Varese: Vedano Olona, Saronno, Busto Arsizio, Gallarate, Gavirate, Varese, Luino.  
Ore di formazione: n° 7 edizioni di 24h.
- Corso per Medico Pediatra su: "Analisi di un percorso di assistenza integrata ospedale-territorio per bambini affetti da sindrome autistica e relativa valorizzazione centrata sul soggetto" commissionato dall'Azienda Sanitaria Locale - Provincia di Milano 3 - 2004 Monza. Ore di formazione: 8h.
- Corso per Insegnanti di Scuola Materna ed Elementare su: "Il bambino autistico a scuola" commissionato dal Rotary Club-Gruppo Lario - 2004 Bosisio Parini (Lc). Ore di formazione: 24h.
- Seminario di aggiornamento per genitori ed Insegnanti su "La Dislessia" 2004 - Bosisio Parini (Lc). Ore di formazione: 4h
- Incontri per Insegnanti di Scuola Materna ed Elementare su: "Il bambino autistico a scuola" nell'ambito del progetto "Il bambino autistico: progetto per una presa in carico completa ed efficace" con il contributo della Fondazione della Comunità di Monza e Brianza - 2004 - Albiate (Mi). Ore di formazione: 15h.
- Corso per Medico, Tecnico ortopedico e Fisioterapista su: "L'utilizzo dei tutori "Lycra" (Dynamic Lycra Garments) nel trattamento di patologie neurologiche ed ortopediche" - 2004 - S. Vito al Tagliamento (Pn) in fase di accreditamento dalla Commissione Ministeriale ECM (Educazione Continua in Medicina). Ore di formazione: 16h.
- Incontro formativo per Insegnanti curricolari e di sostegno, Assistenti Educativi, Operatori su: "Integrazione scolastica dei disabili neuromotori" commissionato dal C.S.A. Ufficio Scolastico di Lecco - 2004 - Lecco. Ore di formazione: 3h.

- Corso pratico finalizzato allo sviluppo continuo professionale per Terapista occupazionale, Educatore Professionale, Logopedista, Psicologo e Fisioterapista su: "Costruire la riabilitazione del paziente con cerebrolesione acquisita" - 2004 - Conegliano-Pieve di Soligo (Tv) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 36h.
- Corso pratico finalizzato allo sviluppo continuo professionale per Medico e Psicologo su: "L'intervento clinico nella pratica riabilitativa neuropsicologica" - 2004 - Conegliano-Pieve di Soligo (Tv) **accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM**. Ore di formazione: 36h.
- Corso di formazione per Educatore e Psicologo su: "Conoscere per promuovere" (approfondimento) commissionato da ANFASS di Macerata - 2004 Macerata. Ore di formazione: 24h.
- Corso di aggiornamento per Insegnante su: "La formazione professionale e i casi difficili" - commissionato dalla Fondazione Clerici di Milano - 2004 Milano. Ore di formazione: 18h.
- Incontri per Genitori, Educatori ed Insegnanti su: "Il bambino autistico" commissionato da Autismo Lecco onlus - 2004 - Merate (Lc). Ore di formazione: 15h.
- Corso per collaboratori scolastici già in servizio nella Provincia di Lecco su: "Assistenza di base ad alunni in situazione handicap" commissionato da Centro Servizi Amministrativi Ufficio Scolastico di Lecco - 2004 - Lecco. Ore di formazione: 23h.
- Corso di aggiornamento per Insegnanti di Scuola Media - commissionato dall'Istituto Comprensivo di Bosisio Parini (Lc) - 2004 - Bosisio Parini (Lc). Ore di formazione: 10h.

Corso di addestramento per Medico, Fisioterapista e Terapista della neuro e psicomotricità dell'età evolutiva su:

"I SISTEMI DI MISURA. Le scale di misura: Gross Motor Function Measure (GMFM) e WeeFunctional Independence Measure (WeeFIM)" - 2004 - Bosisio Parini accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM (Educazione Continua in Medicina). Ore di formazione: 14h.

Giornata di formazione per operatori della UONPIA su: "Gli ausili informatici ed elettronici" - commissionato dall'Azienda Ospedaliera Fatebenefratelli e Oftalmico di Milano - 2004 - Milano. Ore di formazione: 7h 30.

Giornata informativa per Medico, Psicologo, Educatore Professionale, Fisioterapista, Infermiere, Logopedista ed Assistente Sociale dei Servizi Disabili, Anziani ed ADI su: "Accoglienza e trattamento di disabilità post-traumatiche" - commissionato dall'ASL Provincia di Milano 3 - 2004 - Monza. Ore di formazione: 8h.

Corso pratico per Educatore Professionale finalizzato allo sviluppo continuo professionale su: "EMPOWERMENT: dalla dipendenza alla partecipazione. L'educatore come promotore di processi di responsabilità" - 2004 - Bosisio Parini (Lc) accreditato dalla Commissione Ministeriale ECM (Educazione Continua in Medicina). Ore di formazione: 20h.

Incontro per Medico Neuropsichiatra Infantile, Psicologo, Pedagogista, Direzioni Operative e Assistente Sociale su: "Relazioni familiari tra ricerca e intervento La ricerca scientifica e il quotidiano della professionalità" - 2004 - Bosisio Parini (Lc). Ore di formazione: 4h.

## 5) ALTRI SERVIZI DI SUPPORTO E-Learning

Il settore nasce come area di ricerca in campo psicologico sull'applicabilità delle nuove tecnologie dell'informazione e della comunicazione (I.T.C.).

Trova la sua principale applicazione nell'area della formazione, dove forni-

sce metodi e strumenti per la trasformazione degli insegnamenti tradizionali attraverso le tecnologie multimediali e la didattica on line.

Prevede la sperimentazione progressiva di nuovi ambienti di apprendimento e di forme innovative di elaborazione del materiale formativo.

## Centro Ausili

Si occupa dei problemi di accessibilità e dell'individuazione di ausili tecnici per migliorare il livello di autonomia delle persone con disabilità in vari settori: riabilitazione, comunicazione, studio e lavoro, gioco e tempo libero, controllo ambientale. Tali aspetti vengono affrontati soprattutto sul piano delle tecnologie informatiche ed elettroniche.

Le prestazioni del Centro riguardano diverse aree: l'informazione e la documentazione; la consulenza; la formazione e la sperimentazione/ricerca.

I servizi sono rivolti principalmente ai professionisti che operano nel settore della disabilità.

## Consulenza Giuridica

La finalità del servizio consiste nel garantire l'effettuazione di un'istruttoria ragionata per l'analisi e l'interpretazione del quadro giuridico di riferimento, al fine di assicurare l'adeguato apporto conoscitivo in materia normativa, attraverso un costante aggiornamento, l'effettuazione di interpretazioni e la predisposizione delle opportune sintesi e procedure.

L'Ufficio rappresenta in particolare una risorsa professionale trasversale in quanto a disposizione di tutte le Direzioni Centrali e Generali per la legislazione nazionale e regionale nei seguenti ambiti: sanità, assistenza, servizi alla persona, formazione e istruzione, privacy, sicurezza, mediante attività di studio, invio di informative specifiche, pareri, segnalazione di adempimenti.





*Sede Centrale*

Via don Luigi Monza, 1  
22037 Ponte Lambro (Co)  
tel. 031 625111 fax 031 625275

*Presidente*

**Alda Pellegri**

e-mail: alda.pellegri@virgilio.it

*Direttrice Generale*

**Gabriella Zanella**

e-mail: dirgen@pl.lnf.it

ASSOCIAZIONE  
**la Nostra Famiglia**



**"EUGENIO MEDEA"**

ISTITUTO DI RICOVERO E CURA  
A CARATTERE SCIENTIFICO

*Sede Centrale*

Via don Luigi Monza, 20  
23842 Bosisio Parini (Lc)  
tel. 031 877111 fax 031 877499

*Presidente*

**Domenico Galbiati**

e-mail: dgalbiati@bp.lnf.it

*Direttore Scientifico*

**Nereo Bresolin**

e-mail: bresolin@bp.lnf.it

*Direttore Sanitario*

**Massimo Molteni**

e-mail: molteni@bp.lnf.it

*Segretario Generale*

**Gian Piero Sironi**

e-mail: gpsironi@pl.lnf.it

*Segreteria Scientifica*

**Silvana Molteni**

e-mail: medea@bp.lnf.it